

Recibido 22 de noviembre de 2017 // Aceptado 06 de julio de 2018 // Publicado online 13 de marzo de 2019

Fungicidas a partir de extractos vegetales: una alternativa en el manejo integrado de hongos fitopatógenos

MESA, V.A.M.¹; MARÍN, P. A.²; OCAMPO, O.¹; CALLE, J.²; MONSALVE, Z.¹

RESUMEN

Esta revisión ofrece una visión general sobre reportes de evaluación de la actividad biológica *in vitro* de extractos vegetales sobre hongos fitopatógenos. Se presentan los métodos experimentales para la obtención de extractos vegetales y la caracterización de metabolitos, así como los métodos de inhibición del hongo mediante macro y micrométodos. Por último, se presentan las recomendaciones para clasificar la potencialidad de un extracto vegetal sobre un hongo fitopatógeno con el fin de establecer un enfoque prometedor para el descubrimiento de nuevos agentes antifúngicos en el control etológico y manejo integrado de hongos.

Palabras clave: hongos fitopatógenos, extractos vegetales, metabolitos, antifúngicos.

ABSTRACT

This review offers an overview of reports evaluating the in vitro biological activity of plant extracts on pathogenic fungi. We present the experimental methods for obtaining plant extracts and the characterization of metabolites, as well as the methods of inhibition of the fungus by means of macro and micro methods. Finally, we present the recommendations to classify the potentiality of a plant extract on a pathogenic fungus, in order to establish a promising approach for the discovery of new antifungal agents for the ethological control and integrated management of phytopathogenic fungi.

Keywords: *phytopathogenic fungi, plant extracts, metabolites, antifungal.*

¹Universidad de Antioquia. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Instituto de Biología. Grupo de investigación Agrobiotecnología, Calle 67 N.º 53 - 108. A.A 1226. Medellín, Colombia. Correo electrónico: amaria.mesa@udea.edu.co

²Universidad de Antioquia. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Instituto de Biología. Grupo de investigación BIOMA. Calle 67 N.º 53 - 108. A.A 1226. Medellín, Colombia.

INTRODUCCIÓN

Durante los últimos años, los sistemas agrícolas se han visto afectados por el uso de agroquímicos para controlar el ataque de malezas, plagas y enfermedades, lo que ha generado graves problemas sobre la salud humana y de carácter ambiental; entre estos problemas, se cita la reducción de la biodiversidad como uno de los más importantes, seguido de la pérdida en la salud del suelo (Gan y Wickings, 2017). Este tipo de agricultura cada vez es más insostenible debido a la presión ejercida por otro tipo de prácticas y manejos con enfoques sostenibles, mercados diferenciados y exigentes, los cuales a través de organismos reguladores hacen cumplir estándares de producción específicos, además de que existe un creciente problema de resistencia a los plaguicidas que están forzando a la industria a buscar alternativas diferentes de manejo (Gavrilescu y Chisti, 2015; Shahid *et al.*, 2017).

Algunos autores señalan que las pérdidas directas en rendimiento en productos agrícolas causadas por patógenos, animales y malezas oscilan entre el 20% y el 40%; mientras que otros estiman que al discriminar por continentes las pérdidas pueden variar entre el 29% y el 43% (Castaño-Zapata, 2015). Aunque las cifras anteriores corresponden a intervalos muy amplios, en general los autores citan que existen otras pérdidas tanto directas como indirectas las cuales hacen que estos porcentajes pueden ser más elevados cuando se contempla todo el sistema productivo y sus interacciones; algunas son, por ejemplo, la pérdida en calidad del producto final, infestación del suelo, pérdidas y producción de toxinas en poscosecha por parte de algunos patógenos presentes en productos almacenados, incrementos en costos de producción, de manejo e incluso la predisposición de las plantas a otras enfermedades (Savary *et al.*, 2012).

Entre los hongos y oomicetos fitopatógenos más significativos tanto en pre como en poscosecha en distintos cultivos se encuentran algunos géneros como *Botrytis*, *Puccinia*, *Rhizoctonia*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Colletotrichum*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Mycosphaerella*, *Hemileia*, *Tilletia*, *Ceratocystis*, *Cochliobolus*, *Sclerotium*, *Sclerotinia*, *Erysiphe*, *Sphaerotheca*, *Phytium*, *Plasmopara*, *Peronospora*, *Phytophthora*, entre otros (Hosni *et al.*, 2013; Castaño-Zapata, 2015); y durante los últimos años, los fungicidas de síntesis han sido una de las estrategias más utilizadas por los agricultores para controlar las enfermedades causadas por estos; los más comunes en su composición química son compuestos fosforados, clorados, carbamatos, nitroderivados y derivados aromáticos (Martínez-Romero *et al.*, 2008; Cantrell *et al.*, 2012). Sin embargo, en los últimos años el uso de fungicidas de síntesis química ha aumentado la preocupación del consumidor y se ha visto cómo su uso es cada vez más restrictivo debido a efectos carcinógenos, problemas de toxicidad residual, contaminación ambiental como disminución de la biodiversidad y contaminación del suelo y aparición de resistencia microbiana. No obstante, estos productos no garantizan la exitosa erradicación del agente etiológico, dado que pequeñas poblaciones del patógeno pueden sobrevi-

vir por diferentes razones como: aplicaciones deficientes o inadecuadas del fungicida, resistencia, individuos de la población que son menos sensibles y que no pueden ser controlados, o inóculos procedentes de cultivos vecinos, por lo que hoy en día se ha requerido nuevas alternativas de manejo que sean amigables con el ambiente para controlar los microorganismos fitopatógenos (Koul *et al.*, 2008; Kavitha y Satish, 2011; Céspedes *et al.*, 2014).

En la actualidad, nuevas iniciativas y tendencias tecnológicas se están presentando en el desarrollo de bioinsumos como bioinsecticidas, bioherbicidas, bioacaricidas, bionematicidas y biofungicidas; estas alternativas incluyen estimulantes de la defensa en las plantas, técnicas de control biológico y derivados de productos naturales obtenidos a partir de plantas y microorganismos (Sharma y Malik, 2012; Isman y Grieneisen, 2014; Ordanza-Beneitez, 2017). Para el control y la conservación biológica de los cultivos se están empleado este tipo de bioinsumos, los cuales son eficaces cuando existe una comprensión del agroecosistema y sus limitaciones. Gran variedad de investigaciones se centra en estudios sobre la formulación de productos naturales con algún tipo de actividad biológica sobre hongos fitopatógenos con una eficacia y una acción cada vez mayor y más rápida, lo que está generando que estas prácticas sean más eficaces en un amplio rango de condiciones ambientales, de especies de plagas y de sistemas de cultivos (Adekambi *et al.*, 2010; Gakuya *et al.*, 2013). Debido a lo anterior, la EPA (Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos) tiene en sus registros información donde claramente se ha demostrado que los productos naturales juegan un papel importante en el descubrimiento y desarrollo de nuevos productos y cada vez más, se reconoce la importancia de las especies vegetales y sus derivados (extractos, aceites esenciales, decocciones, metabolitos secundarios) en la protección de cultivos bajo el concepto del Manejo Integrado de Plagas y Enfermedades (MIPE) (U.S. EPA (a,b); Cantrell *et al.*, 2012; Leahy *et al.*, 2014; Sparks *et al.*, 2017).

El objetivo de la presente revisión es exhibir el avance en el desarrollo de fungicidas a partir de extractos y aceites esenciales obtenidos de especies vegetales y evaluados *in vitro* contra hongos fitopatógenos como un paso inicial al desarrollo de las alternativas tecnológicas prometedoras en el uso de bioproductos disponibles a partir de plantas. Estos potenciales productos pueden retardar la reproducción de microorganismos indeseables, y sería un método realista y ecológicamente sólido para la protección de los cultivos transitorios o temporales, lo que permitiría sustituir con éxito a los agroquímicos de síntesis, sin las restricciones de uso que distinguen a los productos sintéticos.

Extractos vegetales y metabolitos bioactivos de las plantas

La tendencia mundial muestra que el uso de las plantas y los derivados obtenidos a partir de estas está aumentando de manera considerable en el control de plagas y enfermedades importantes (Cavaliere *et al.*, 2008). El conocimiento

tradicional expresa la necesidad de trabajar en la búsqueda de nuevas opciones terapéuticas a partir de plantas reconocidas (Cordell, 2000). Las plantas tienen la capacidad de sintetizar una gran diversidad de metabolitos secundarios relacionados con diferentes mecanismos de defensa, entre los que se encuentran compuestos químicos como terpenos, fenoles, compuestos nitrogenados como alcaloides y compuestos azufrados, muchos de estos con propiedades antimicrobianas. Estos metabolitos tienen una función importante en la protección ante depredadores, microorganismos patógenos y herbívoros, así como diversos tipos de estrés abiótico (por ejemplo, exposición UV) (Cowan, 1999; Ávalos-García y Carril, 2009). Durante los últimos años, se ha evidenciado que las plantas tienen funciones biológicas y químicas de defensa, por lo que gran variedad de estos compuestos pueden tener actividad biológica sobre hongos (Mazid *et al.*, 2011; Saravanakumar *et al.*, 2015).

Por ejemplo, los terpenos (mono, sesqui, di, tri y politerpenos) participan en la defensa de las plantas como toxinas y elementos de disuasión de la alimentación de una gran cantidad de insectos y mamíferos, se postula que actúan disminuyendo la permeabilidad de membrana celular, causando una drástica reducción en el número de mitocondrias y las vesículas generadas en el complejo de Golgi, lo que perjudica la respiración y el tráfico vesicular. Compuestos de tipo fenólico como las cumarinas, ligninas, flavonoides y taninos están presentes en el sistema de defensa de las plantas mediante la modificación de tejidos o pared celular proporcionando dureza o rigidez a estos, toxinas capaces de unirse a proteínas que actúan como repelentes, la inhibición enzimática por oxidación, algunas implicadas en procesos de transcripción y reparación del ADN, generando muerte celular. Los compuestos azufrados como GSH, GSL, fitoalexinas, tioninas, tienen una directa o indirecta relación con los mecanismos de defensa de las plantas contra patógenos microbianos y los compuestos nitrogenados en los que se incluyen alcaloides, glucósidos cianogénicos, y aminoácidos no proteicos que se sintetizan a partir de aminoácidos comunes, se postula que se intercalan en el DNA debido a su papel en la defensa contra los herbívoros y toxicidad sobre microorganismos (Gershenzon y Croteau, 1992; Dixon y Paiva, 1995; Kuc, 1995; Cowan, 1999; Dixon, 2001; Wuys *et al.*, 2006; Ávalos-García y Carril, 2009; Chong *et al.*, 2009; Saravanakumar *et al.*, 2015).

Métodos de extracción y caracterización de extractos vegetales

El proceso para obtener extractos vegetales es variable, todos estos componentes se obtienen en conjunto cuando se extraen de los diferentes órganos tanto vegetativos como reproductivos, tales como raíces, hojas, brotes, tallos, flores y frutos previamente triturados con un tamaño de partícula determinado y en contacto con cantidad suficiente de solvente. Entre las técnicas de extracción se encuentra la percolación, el arrastre con vapor, en la extracción soxhlet se emplean distintos solventes

donde se pueden obtener extractos acuosos, etanólicos, aceites esenciales o utilizar otros solventes para obtener diversos compuestos, acorde a su polaridad. Posterior a la extracción, la mezcla es filtrada, el material insoluble es lavado con el mismo solvente y los filtrados se mezclan para concentrar el extracto, y secarlos hasta sequedad. Según el tipo de método empleado se pueden presentar altos rendimientos de extracción y presentar una versatilidad en la separación de componentes por sus características polares, además de poder obtener extractos para el fraccionamiento y aislamiento de las sustancias marcadoras que son separadas por técnicas de cromatografías que permiten aislar los componentes principales a través de métodos de fraccionamiento guiado por bioensayo y técnicas de alta resolución para su caracterización como la cromatografía de alta resolución acoplada a espectrofotometría de masas (HPLC-DAD-MS) y la resonancia magnética nuclear (RMN) (Maldoni, 1991; García *et al.*, 1995; Pardo *et al.*, 2011; Mesa-Vanegas *et al.*, 2015).

Evaluación de actividad biológica de extractos vegetales en hongos fitopatógenos

A los extractos vegetales y compuestos obtenidos se les evalúa su potencial biológico en los diferentes modelos biológicos a nivel *in vitro* e *in vivo*. En su mayoría los métodos de evaluación biológica sobre hongos fitopatógenos consisten en la exposición del hongo a diferentes concentraciones de extracto en medio agar papa dextrosa (PDA) (Nene, 2002; Castillo *et al.*, 2010). Los macrométodos generalmente son basados en el análisis de difusión en disco en agar determinando el halo de inhibición en presencia de una concentración determinada del extracto vegetal y empleando como control positivo un fungicida agrícola sistémico. Otro de los métodos comúnmente empleados es el envenenamiento del medio de cultivo en el cual se adiciona una concentración conocida de extracto disuelta en el medio de cultivo junto con un testigo absoluto y posteriormente se adiciona el inóculo del patógeno para evaluar. Los micrométodos permiten determinar la concentración mínima inhibitoria (MIC) de un extracto mediante microplatos estériles, el crecimiento del patógeno se sigue por la variación de la densidad óptica (DO) de una suspensión de esporas de cada uno de los hongos en una concentración aproximada de $2,5 \times 10^4$ esporas/mL y se realiza la lectura inicial a los 30 minutos y pasadas las 48 horas a 25 °C. Múltiples reportes en la literatura expresan la acción de un extracto vegetal sobre hongos fitopatógenos con una estimulación biológica hasta una inhibición total (García *et al.*, 1995; Rojas *et al.*, 2005; Pardo *et al.*, 2011).

Especies vegetales con reportes de actividad antifúngica

La actividad biológica de un extracto con respecto a un hongo varía en función de la metodología de preparación (solvente, seco, fresco, tiempo de almacenamiento, etc.), especie botánica, órgano de la planta (raíces, hojas, se-

Tabla 1. Especies vegetales con actividad biológica sobre hongos fitopatógenos.*Actividad biológica sobre la esporulación del hongo *in vitro*.

Especie vegetal	Extracto evaluado	Patógeno	Concentración	Inhibición (%)	Método de evaluación	Referencia
<i>Cowanai plicata</i> D. Don.	Metanólico	<i>Fusarium oxysporum</i>	55000 ppm	100%	Medios envenenados	Contreras-Arredondo <i>et al.</i> , 2011
<i>Pistacia lentiscus</i> L.	Metanólico	<i>Colletotrichum coccodes</i>	25000 ppm	100%		
<i>Flourensia microphylla</i>	Etanólico	<i>Alternaria</i> sp.	1500 µL/L	100%	Medios envenenados	Rodríguez <i>et al.</i> , 2007
	Etanólico	<i>Rhizoctonia solani</i>	1000 µL/L	98%		
	Etanólico	<i>Fusarium oxysporum</i>	1500 µL/L	100%		
<i>Flourensia cernua</i>	Etanólico	<i>Alternaria</i> sp.	1500 µL/L	98%		
	Etanólico	<i>Rhizoctonia solani</i>	1000 µL/L	100%		
	Etanólico	<i>Fusarium oxysporum</i>	1500 µL/L	100%		
<i>Flourensia retinophylla</i>	Etanólico	<i>Alternaria</i> sp.	1500 µL/L	98%		
	Etanólico	<i>Rhizoctonia solani</i>	1000 µL/L	100%		
	Etanólico	<i>Fusarium oxysporum</i>	1500 µL/L	100%		
<i>Acacia farnesiana</i>	Etanólico al 30%	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	100%	99%	Medios envenenados	Rodríguez-Pedroso <i>et al.</i> , 2012
	Acuoso	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	100%	98%		
<i>Capsicum annuum</i> L. var <i>aviculare</i>	Etanólico	<i>Aspergillus flavus</i>	1000 ppm	100%	Técnica de dilución	Moreno-Limón <i>et al.</i> , 2012
<i>Inula britannica</i>	Aceite esencial	<i>Gaeumannomyces graminis</i> var. <i>tritici</i>	1 mg/mL	100%	Medios envenenados	Zhao <i>et al.</i> , 2013
		<i>Phytophthora capsici</i>	1 mg/mL	83,76%		
		<i>Fusarium moniliforme</i>	1 mg/mL	64,69%		
		<i>Phytophthora capsici</i>	1 mg/mL	98,26%*		
		<i>Fusarium oxysporum</i>	1 mg/mL	96,54%*		
		<i>Colletotrichum orbiculare</i>	1 mg/mL	87,89%*		
<i>Melia azederach</i> L.	Etanólico	<i>Colletotrichum</i> sp.	50 ppm	100%	Método de siembra directa	Pérez <i>et al.</i> , 2011
		<i>Fusarium oxysporum</i>	10000 ppm	89,55%	Medios envenenados	Ochoa-Fuentes <i>et al.</i> , 2012
<i>Annona cherimola</i>	Metanólico	<i>Fusarium culmorum</i>	10000 ppm	89,62%		
<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	Metanólico	<i>Fusarium culmorum</i>	300 ppm	45,58%		
		<i>Rhizoctonia solani</i>	0,07%	0%		
<i>Leptogium cyanescens</i>	Acetona	<i>Phytophthora nicotianae</i> var <i>parasitica</i>	0,07%	43%	Medios envenenados	Vaillant-Flores <i>et al.</i> , 2015
<i>Physcia americana</i>	Acetona	<i>Rhizoctonia solani</i>	0,07%	65%		
		<i>Phytophthora nicotianae</i> var <i>parasitica</i>	0,07%	100%		
<i>Pyxine aff. cocoes</i>	Acetona	<i>Rhizoctonia solani</i>	0,07%	60%		
		<i>Phytophthora nicotianae</i> var <i>parasitica</i>	0,07%	50%		
<i>Agave scabra</i>	Etanólicos	<i>Botrytis cinerea</i>	250 mg/100 L	90%	Técnica del pozo en agar	González-Álvarez <i>et al.</i> , 2015
		<i>Penicillium</i> sp.	250 mg/100 L	86,66%		
<i>Nepeta leucophylla</i>	Aceites esenciales	<i>Helminthosporium maydis</i>	500 µg/mL	83,9%	Medios envenenados	Kumar <i>et al.</i> , 2014
<i>Nepeta ciliaris</i>		<i>Fusarium oxysporum</i>	500 µg/mL	74,5%		
		<i>Helminthosporium maydis</i>	500 µg/mL	88,2%		
<i>Nepeta clarkei</i>		<i>Helminthosporium maydis</i>	500 µg/mL	79,6%		
<i>Calamintha umbrosa</i>		<i>Helminthosporium maydis</i>	500 µg/mL	76,1%		
<i>Satureja hortensis</i> L.	Aceite esencial	<i>Botrytis cinerea</i>	1,0%	100%	Medios envenenados	Boyras y Özcan, 2006
	Hidrosol	<i>Botrytis cinerea</i>	15%	100%		

Especie vegetal	Extracto evaluado	Patógeno	Concentración	Inhibición (%)	Método de evaluación	Referencia
<i>Lippia origanoides</i>	Etanólicos	<i>Septoria apiicola</i> Speng.	0,25%	100%	Medios envenenados	Ortiz <i>et al.</i> , 2016
<i>Gliricidia sepium</i>		<i>Septoria apiicola</i> Speng.	0,8%	100%		
<i>Heliotropium indicum</i>	Etanólicos	<i>Colletotrichum gloesporioides</i>	2,5%	78%	Medios envenenados	Bolívar <i>et al.</i> , 2009
<i>Thymus vulgaris</i>	Aceite esencial	<i>Fusarium</i> sp.	300 µg/mL	100%	Medios envenenados	Balanta <i>et al.</i> , 2013
<i>Allium sativum</i> L.	Hidroalcohólicos	<i>Botrytis cinerea</i> Pers	20%	100%	Medios envenenados	Şesan <i>et al.</i> , 2015
<i>Hyssopus officinalis</i> L.			5%	100%		
<i>Mentha</i> sp.			20%	100%		
<i>Satureja hortensis</i> L.			10%	100%		
<i>Tagetes patula</i>			20%	88,5%		
<i>Trachyspermum ammi</i>	Aceite esencial	<i>Botrytis cinerea</i>	500 µg/mL	100%	Medios envenenados	Behdani <i>et al.</i> , 2012
<i>Mentha pulegium</i>						
<i>Cuminum cyminum</i>						
<i>Zataria multiflora</i>						
<i>Pimpinella anisum</i>						
<i>Cinnamomum verum</i>	Acetona	<i>Colletotrichum lindemuthianum</i>	5,0 mg/mL	100%	Medios envenenados	Masangwa <i>et al.</i> , 2013
<i>Carum carvi</i>						
<i>Agapanthus caulescens</i>						
<i>Allium sativum</i>						
<i>Carica papaya</i>						
<i>Agapanthus caulescens</i>						
<i>Allium sativum</i>						
<i>Allium sativum</i>						
<i>Syzygium cordatum</i>						
<i>Allium sativum</i>						
<i>Carica papaya</i>	Acuoso	<i>Colletotrichum lindemuthianum</i>	5,0 mg/mL	95%		
<i>Chlorophytum comosum</i>						
<i>Agapanthus caulescens</i>						

Tabla 2. Clasificación de actividad biológica sobre hongos fitopatógenos.

Clasificación	Rango de Concentraciones (ppm)
Activo	> 5000
Moderadamente activo	5000-10000
Ligeramente activo	10000-20000
Inocuo	< 20000

millas, etc.), fecha de cosecha, entre otras. Singh (2014) y De Almeida *et al.* (2016) reportaron que hasta la fecha se habían explorado más de 6.000 especies de plantas y más de 2.500 especies de estas (pertenecientes a 235 familias)

poseían actividad biológica contra algún tipo de plaga y enfermedad; así mismo, este número es bajo conforme se analiza la diversidad total de plantas en el planeta, por lo que algunos autores sugieren que entre el 1 y 10% de las plantas descubiertas y evaluadas tienen un potencial de producir metabolitos secundarios biológicamente activos contra plagas y enfermedades (Benner, 1993; Prakash y Rao, 1997; Singh, 2000; Koul y Walia, 2009; Bettiol *et al.*, 2014; Jeyalakshmi *et al.*, 2015).

En la tabla 1 se presentan los reportes encontrados en las distintas bases de datos (Science Direct, PUBMED, Scielo; consultadas en noviembre 2017), libros especializados y demás reportes bibliográficos relacionados con distintas especies de plantas con actividad inhibitoria sobre los diferentes fitopatógenos específicamente de los géneros *Botrytis*, *Rhizoctonia*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Co-*

Iletotrichum, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Gaeumannomyces*, *Helminthosporium*, *Septoria*, *Alternaria*, *Phytophthora*, *Pyricularia*, y las concentraciones inhibitorias con sus efectos obtenidos.

Entre las especies de vegetales más reconocidas por sus propiedades plaguicidas se encuentra el Neem (*Azadirachta indica* A. Jussieu, Meliaceae), el cual se ha utilizado ampliamente contra una serie de especies de plagas (Gahukar, 2014; Jeyalakshmi *et al.*, 2015), al igual que cinnamón (*Cinnamomum zeylanicum* Blume), orégano (*Origanum vulgare* L.) (García-Camarillo *et al.*, 2006), tabaco (*Nicotiana tabacum* L.), crisantemo (*Chrysanthemum cinense* Sabine), flor de muerto (*Tagetes erecta* L.) (Granada, 2002). La actividad fungistática de muchas especies vegetales difiere entre los tipos de extractos acuosos, etanólicos, metanólicos y aceites esenciales, lo que se ha comprobado por varios investigadores es el marcado efecto de los aceites esenciales sobre patógenos, dado que en gran parte los resultados son favorables en varios agentes patógenos con un efecto selectivo que depende de la especie de planta y del patógeno (Singh, 2014).

CONCLUSIONES Y PROPUESTAS

La evaluación de extractos vegetales sobre la inhibición de patógenos a nivel *in vitro* es la primera fase que indica el potencial prometedor de una planta para ser usada en tratamientos pre y poscosecha. La mayor parte de los estudios son básicos y solo se reporta la concentración en la cual se presenta un efecto inhibitorio, sin embargo es necesario indagar sobre el efecto de los extractos vegetales en aspectos moleculares, bioquímicos, morfológicos del hospedero y del patógeno para conocer el modo y mecanismo de acción, el efecto toxicológico y así determinar cuáles son los compuestos responsables de la actividad antifúngica y de esta manera aislar e identificar los compuestos activos y los cambios moleculares, morfológicos y bioquímicos que estos compuestos causan sobre el patógeno. A pesar de los múltiples reportes aún no existe un consenso en las concentraciones de evaluación que permitan clasificar la respuesta biológica en activos e inactivos, lo que conlleva a que no haya un rango de concentraciones definido entre autores para clasificar un extracto vegetal como antifúngico promisorio. De acuerdo a una exhaustiva revisión en la literatura se recomienda establecer un consenso de clasificación según el efecto del extracto como: activo, moderadamente activo, ligeramente activo e inocuo, según la tabla 2.

La rigurosidad en las técnicas de evaluación *in vitro* permitirá clasificar el potencial de extractos vegetales como un punto de partida en el desarrollo de productos cuyo principio activo es un extracto vegetal y que podría tener la propiedad de contribuir a aminorar los costos de producción de los agricultores debido a que se biodegradan rápidamente, no contaminan el ambiente y presentan un bajo costo. De esta manera el desarrollo de biofungicidas requiere equipos multidisciplinarios para optimizar la producción, la eficacia, el almacenamiento y la estabilidad de

un producto para que esta tecnología pueda evolucionar y satisfacer las demandas agrícolas de hoy en día.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo financiero de Colciencias del proyecto código: 111577657130 y a la Universidad de Antioquia.

BIBLIOGRAFÍA

- ADEKAMBI, S.; ADEGBOLA, P.; AROUNA, A. 2010. Farmers' perception and agricultural technology adoption. The case of botanical extracts and bio-pesticides in vegetable production in Benin. Contributed paper presented at the joint 3rd African Association of Agricultural Economists (AAAE) and 48th Agricultural Economists Association of South Africa (AEASA) conference, Ciudad del Cabo, Sudáfrica.
- ÁVALOS-GARCÍA, A.; CARRIL, E.P.U. 2009. Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (Biología)*. 2(3): 119-145.
- BALANTA, J.F.; RAMÍREZ, L.; CAICEDO-BEJARANO, L.D. 2013. Características fisicoquímicas y actividad antimicótica del extracto de tomillo sobre cepas *Fusarium oxysporum*. *Ingenium*, 7(17): 29-35.
- BEHDANI, M.; POOYAN, M.; ABBASI, S. 2012. Evaluation of antifungal activity of some medicinal plants essential oils against *Botrytis cinerea*, causal agent of postharvest apple rot, *in vitro*. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, 4(14): 1012-1016.
- BENNER, J.P. 1993. Pesticidal compounds from higher plants. *Pesticide Science*, 39: 95-102.
- BETTIOL, W.; RIVERA, M.C.; MONDINO, P.; MONTEALEGRE, J.R.; COLMENAREZ, Y. 2014. Control biológico de enfermedades de plantas en América Latina y el Caribe. Facultad de Agronomía Universidad de la República, Montevideo. 404 p.
- BOLÍVAR, K.; SANABRIA, M.; RODRÍGUEZ, D.; CAMACARO, M.; ULACIO, D.; CUMANA, L.; CRESCENTE, O. 2009. Potencial efecto fungicida de extractos vegetales en el desarrollo *in vitro* del hongo *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. y de la antracnosis en frutos de mango. *Revista UDO Agrícola* 9 (1): 175-181. 2009.
- BOYRAZ, N.; ÖZCAN, M. 2006. Inhibition of phytopathogenic fungi by essential oil, hydrosol, ground material and extract of summer savory (*Satureja hortensis* L.) growing wild in Turkey. *International Journal of Food Microbiology*, 107(2): 238-242.
- CANTRELL, C.L.; DAYAN, F.E.; DUKE, S.O. 2012. Natural Products As Sources for New Pesticides. *Journal of Natural Products*, 75(6), 1231-1242.
- CASTAÑO-ZAPATA, J. 2015. Principios básicos de hongos fitopatógenos. Editorial Universidad de Caldas. 360 p.
- CÉSPEDES, C.; SALAZAR, J.; ARIZA, A.; YAMAGUCHI, L.; ÁVILA, J.; AQUEVEQUE, P. 2014. Biopesticide from plants: *Calceolaria integrifolia* s.l. *Environmental Research*. 132: 391-406.
- CHONG, J.; POURARAUD, A.; HUGUENEY, P. 2009. Metabolism and roles of stilbenes in plants. *Plant Science*, 177(3): 143-155.
- CONTRERAS-ARREDONDO, M.E.; HERNÁNDEZ-CASTILLO, F.D.; SÁNCHEZ-ARIZPE, A.; GALLEGOS-MORALES, G.; JASSO DE RODRÍGUEZ, D. 2011. Actividad Fungicida de Extractos de *Cowania plicata* D. Don. contra *Fusarium oxysporum* Schlechtend. Fr. y de *Pistacia lentiscus* L. contra *Colletotrichum coccodes* Wallr. *Hunges*. *Revista Agraria Nueva Epoca* Año VIII, 8(1): 6-13.

- CORDELL, G. 2000. Biodiversity and drug discovery a symbiotic relationship. *Phytochemistry*, 55: 463-480.
- COWAN, M.M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, 12(4): 564-582.
- DE ALAMEIDA, H.V.B.; MARINHO-PRADO, J.S.; NECHET, K.L.; BOECHAT, M.A.M.; BETTIOL, W. 2016. *Defensivos Agrícolas Naturais Uso e Perspectivas*. EMBRAPA. 853 p.
- DIXON, R.A. 2001. Natural products and plant disease resistance. *Nature*, 411(6839): 843-847.
- DIXON, R.A.; PAIVA, N.L. 1995. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *The plant cell*, 7(7): 1085.
- CAVALIERE, C.; Rea, P.; Lynch, M.; Blumenthal, M. 2009. Herbal supplement sales experience slight increase in 2008. *HerbalGram* 82: 58-61.
- GAHUKAR, R. 2014. Factors affecting content and bioefficacy of neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) phytochemicals used in agricultural pest control: A review. *Crop Protection*. 62: 93-99.
- GAKUYA, D.W.; ITOGA, S.M.; MBARIA, J.M.; MUTHEE, J.K.; MUSAU, J.K. 2013. Ethnobotanical survey of biopesticides and other medicinal plants traditionally used in Meru central district of Kenya. *Journal of Ethnopharmacology*. 145(2): 547-553.
- GAN, H.; WICKINGS, K. 2017. Soil ecological responses to pest management in golf turf vary with management intensity, pesticide identity, and application program. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 246: 66-77.
- GARCÍA, C.L.G.; CORREA, E.; ROJAS, N. 1995. Estudio fitoquímico preliminar y evaluación de la actividad antimicrobiana de algunas plantas superiores colombianas. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*, 23(1): 42-48.
- GARCÍA-CAMARILLO, E.A.; QUEZADA-VIAY, Y.; MORENO-LARA, J.; SÁNCHEZ-HERNÁNDEZ, G.; MORENO-MARTÍNEZ, E.; PÉREZ-REYES, M.C.J. 2006. Antifungal activity of essential oils of cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum* Blume) and oregano (*Origanum vulgare* L.), and their effects on aflatoxin concentration in pecan nut [*Carya illinoensis* (FA Wangenh) K. Koch]. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 24(1), 8-12.
- GAVRILESCU, M.; CHISTI, Y. 2005. Biotechnology-a sustainable alternative for chemical industry. *Biotechnology Advances*. 23(7): 471-499.
- GERSHENZON, J.; CROTEAU, R. 1992. Terpenoids. In G. A. Rosenthal (Ed.), *Herbivores: Their interactions with secondary plant metabolites*, second edition, Vol. 1: The chemical participants (pp. 165-219). San Diego, London: Academic.
- GONZÁLEZ-ÁLVAREZ, M.; MORENO-LIMÓN, S.; SALCEDO-MARTÍNEZ, S.M.; PÉREZ-RODRÍGUEZ, E.C. 2015. Evaluación *in vitro* de la actividad antifúngica de extractos de agave (*Agave scabra* Salm Dyck) sobre hongos postcosecha. *Phyton*, 84(2): 427-434.
- GRANADA, N. 2002. Efecto de once extractos vegetales sobre el tizón tardío causado por *Phytophthora infestans* (mont) de Bary en papa (*Solanum phureja* Juz et. Buk). *Rev. agron.* 10(1-2), 21-30.
- HOSNI, K.; HASSEN, I.; SEBEL, H.; CASABIANCA, H. 2013. Secondary metabolites from *Chrysanthemum coronarium* (Garland) flowerheads: Chemical composition and biological activities. *Industria Crops and Products*. 44: 263-271.
- ISMAN, M.; GRIENEISEN, M. 2014. Botanical insecticide research: many publications, limited useful data. *Trends in Plant Science*. 19(3): 140-145.
- JEYALAKSHMI, C.; DINAKARAN, D.; RETTINASSABABADY, C. 2015. Characterization of bioactive compounds from botanicals for the management of plant diseases. En: GANESAN, S.; VADIVEL, K.; JAYARAMAN, J. (ed.). *Sustainable Crop Disease Management Using Natural Products*. Cabi.
- KAVITHA, H.; SATISH, S. 2011. Eco-friendly management of plant pathogens by some medicinal plant extracts. *Journal of Agricultural Technology*. 7(2): 449-461.
- KOUL, O.; WALIA, S. 2009. Comparing impacts of plant extracts and pure allelochemicals and implications for pest control. *CAB Reviews: Perspectives in agriculture, veterinary science, nutrition and natural resources*, 4(49), 1-30.
- KOUL, O.; WALIA, S.; DHALIWAL, G. 2008. Essential oils as green pesticides: Potential and constraints. *Biopesticides International*. 4(1): 63-84.
- KUC, J. 1995. Phytoalexins, stress metabolism, and disease resistance in plants. *Annual review of phytopathology*, 33(1): 275-297.
- KUMAR, V.; MATHELA, C.S.; TEWARI, A.K.; BISHT, K.S. 2014. *In vitro* inhibition activity of essential oils from some Lamiaceae species against phytopathogenic fungi. *Pesticide biochemistry and physiology*, 114, 67-71.
- LEAHY, J.; MENDELSON, M.; KOUGH, J.; JONES, R.; BERKES, N. 2014. Biopesticide oversight and registration at the US Environmental Protection Agency. *Biopesticides: state of the art and future opportunities*. American Chemical Society. 3-18 pp.
- MALDONI, B. 1991. Alkaloids: isolation and purification. *Journal of Chemical Education*, 68(8): 700-703.
- MARTÍNEZ-ROMERO, D.; SERRANO, M.; BAILÉN, G.; GUILLEN, F.; ZAPATA, P.J.; VALVERDE, J.M.; CASTILLO, S.; FUENTES, M.; VALERO, D. 2008. The use of a natural fungicide as an alternative to preharvest synthetic fungicide treatments to control lettuce deterioration during postharvest storage. *Postharvest Biology and Technology*. 47 (1), 54-60.
- MASANGWA, J.I.G.; AVELING, T.A.S.; KRITZINGER, Q. 2013. Screening of plant extracts for antifungal activities against *Colletotrichum* species of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp). *The Journal of Agricultural Science*, 151(4): 482-491.
- MAZID, S.; KALITA, J.; RAJKHOWA, R. 2011. A review on the use of biopesticides in insect pest management. *International Journal of Science and Advanced Technology*. 1(7): 169-178.
- MESA-VANEGAS, A.M.; ZAPATA-URIBE, S.; ARANA, L.M.; ZAPATA, C.I.; MONZALVE, Z.; ROJANO, B. 2015. Antioxidant activity of different polarity extracts from *Ageratum conyzoides* L. *Boletín latinoamericano del caribe de plantas medicinales y aromáticas*, 14(1): 1-10.
- MORENO-LIMÓN, S.; SALCEDO-MARTÍNEZ, S.M., CÁRDENAS-ÁVILA, M.L.; HERNÁNDEZ-PIÑERO, J.L.; NÚÑEZ-GONZÁLEZ, M.A. 2012. Efecto antifúngico de capsaicina y extractos de chile piquín (*Capsicum annum* L. var *aviculare*) sobre el crecimiento *in vitro* de *Aspergillus flavus*. *Polibotánica*, (34), 191-204.
- NENE, Y.L.; THAPILYAL, P.N. 2000. *Fungicides in Plant Disease Control* (5 ed.), Oxford and IBH Publishing Company, Nueva Delhi. 691 p.
- OCHOA-FUENTES, Y.M.; CERNA-CHÁVEZ, E.; LANDEROS-FLORES, J.; HERNÁNDEZ-CAMACHO, S.; DELGADO-ORTIZ, J.C. 2012. Evaluación *in vitro* de la actividad antifúngica de cuatro extractos vegetales metanólicos para el control de tres especies de *Fusarium* spp. *Phyton*, 81: 69-73.
- ORDANZA-BENEITEZ, MA. 2017. Biopesticidas: Tipos y aplicaciones en el control de plagas agrícolas. *Agroproductividad*, 10(3): 31-367.
- ORTIZ, F.; RODRÍGUEZ, D.; SANABRIA, M.; PINEDA, J. 2016. Manejo del tizón tardío del celery (*Apium graveolens* L. var. dulce) usando extractos vegetales bajo condiciones controladas. *Bioagro*, 28(2): 87-94.

- PARDO, A.K.; ARENAS, J.J.; GÓMEZ, M.; LORA, F.M.; GÓMEZ, J.E. 2011. Determinación de la actividad antifúngica de extractos de *Lantana camara* frente a *Candida* spp. *Infectio*, 15(4): 235-242.
- PÉREZ, C.; ROJAS, A.; CHAMORRO, J.; PÉREZ, L.; KATY, P. 2011. Evaluación de la actividad antifúngica de *Melia azederach* L. sobre aislados de *colletotrichum* spp. *Revista Colombiana de Ciencia Animal* 3(2): 309-320.
- PRAKASH, A.; RAO, J. 1997. Botanical pesticides in agriculture. CRC Lewis Publishers. Boca Raton. 461 p.
- RODRÍGUEZ, D.; HERNÁNDEZ-CASTILLO, D.; ANGULO-SÁNCHEZ, J.L.; RODRÍGUEZ-GARCÍA, R.; VILLARREAL-QUINTANILLA, J.A.; LIRA-SALDIVAR, R.H. 2007. Antifungal activity *in vitro* of *Flourensia* spp. extracts on *Alternaria* sp., *Rhizoctonia solani*, and *Fusarium oxysporum*. *Industrial Crops and Products*, 25(2): 111-116.
- RODRÍGUEZ-PEDROSO, A.T.; RAMÍREZ-ARREBATO, M.; BAUTISTA, S.; TRIANA, A.C.; RIVERO, D. 2012. Actividad antifúngica de extractos de *Acacia farnesiana* sobre el crecimiento *in vitro* de *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici*. *Revista Científica UDO Agrícola* 12(1): 91-96.
- ROJAS, J.J.; GARCÍA, A.M.; LÓPEZ, A. 2005. Evaluación de dos metodologías para determinar la actividad antimicrobiana de plantas medicinales. *Boletín latinoamericano del caribe de las plantas medicinales y aromáticas*, 4(2): 28-35.
- SARAVANAKUMAR, D.; KARTHIBA, L.; RAMJEGATHESH, R.; PRABAKAR, K.; RAGUCHANDER, T. 2015. Characterization of bioactive compounds from botanicals for the management of plant diseases. En: GANESAN, S.; VADIVEL, K.; JAYARAMAN, J. (ed.). *Sustainable Crop Disease Management Using Natural Products*. Cabi.
- SAVARY, S.; FICKE, A.; AUBERTOT, J.N.; HOLLIER, C. 2012. Crop losses due to diseases and their implications for global food production losses and food security. *Food Security* 4, 519-537.
- ŞESAN, T.E.; ENACHE, E.; LACOMI, B.M.; OPREA, M.; OANCEA, F.; LACOMI, C. 2015. Antifungal activity of some plant extracts against *Botrytis cinerea* Pers. in the blackcurrant crop (*Ribes nigrum* L.). *Acta Sci. Pol., Hortorum Cultus*, 14(1): 29-43.
- SHAHID, M.; ZAIDI, A.; KHAN, M.S.; RIZVI, A.; SAIF, S.; AHMED, B. 2017. Recent advances in Management Strategies of Vegetable Diseases. *Microbial Strategies for Vegetable Production*, 197-226 pp.
- SHARMA, S.; MALIK, P. 2012. Biopesticides: Types and Applications. *International Journal of Advances in Pharmacy, Biology and Chemistry (IJAPBC)*, 1(4): 2277-4688.
- SINGH, D. 2014. *Advance in Plant Biopesticides*. Springer. 401 p.
- SINGH, R.P. 2000. Botanicals in pest management: an ecological perspective. En: DHALIWAL, G.S.; SINGH, B.; (ed.). *Pesticides and Environment*. Commonwealth Publishers, Nueva Delhi. p. 279-343 pp.
- SPARKS, T.C.; HAHN, D.R.; GARIZI, N.V. 2017. Natural products, their derivatives, mimics and synthetic equivalents: role in agrochemical discovery. *Pest management science*, 73(4): 700-715.
- U.S. Environmental Protection Agency (EPA), Office of Pesticide Programs (a). Web Page Safe Pest Control, Integrated Pest Management (IPM principles). (Disponible: <https://www.epa.gov/safepestcontrol/integrated-pest-management-ipm-principles> verificado: 23 de octubre de 2017).
- U.S. Environmental Protection Agency (EPA), Office of Pesticide Programs (b). Web Page Biopesticides. (Disponible: <https://www.epa.gov/pesticides/biopesticides> verificado: 23 de octubre de 2017).
- VAILLANT-FLORES, D.I.; GÓMEZ-PERALTA, M.; ROMEUCARBALLO, C.; RAMÍREZ-OCHOA, R.; PORRAS-GONZÁLEZ, A. 2015. Actividad antifúngica de extractos de tres especies de líquenes en cuba. *Agron. Mesoam.* 26(2): 345-350.
- WUYTS, N.; LOGNAY, G.; SWENNEN, R.; WAELE, D. 2006. Nematode infection and reproduction in transgenic and mutant. *Arabidopsis* and tobacco with an altered phenylpropanoid metabolism. *Journal of Experimental Botany*. 57(11): 2825-2835.
- ZHAO, T.; GAO, F.; ZHOU, L.; SONG, T. 2013. Essential Oil from *Inula britannica* Extraction with SF-CO₂ and Its Antifungal Activity. *Journal of Integrative Agriculture*, 12(10): 1791-1798.