# UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

# Tesis Para optar al Grado Académico de Doctor en Ciencias Agrarias

# USO DE PRODUCTOS NATURALES PROVENIENTES DE PLANTAS PARA EL CONTROL DE PATÓGENOS FÚNGICOS QUE AFECTAN EL CULTIVO Y LA POSCOSECHA DE FRUTILLAS Y DURAZNOS

# Ing. Agr. María Inés Stegmayer

Director: Dr. Marcos G. Derita

Co-Directora: Dra. Andrea G. Reutemann

# Comisión Asesora de Tesis:

Dr. Marcos G. Derita

Dra. Andrea G. Reutemann

Dr. Abelardo Vegetti

Esperanza, Santa Fe 2022

# Miembros del Jurado



#### Publicaciones en revistas científicas

Stegmayer, M. I., Álvarez, N. H., Sager, N. G., Buyatti, M. A., & Derita, M. G. (2022). Evaluation of *Pelargonium graveolens* essential oil to prevent gray mold in rose flowers. *Journal of Plant Protection Research*, 62(2), 2. https://doi.org/10.24425/jppr.2022.141353.

Stegmayer, M. I., Fernández, L. N., Álvarez, N. H., Seimandi, G. M., Reutemann, A. G., & Derita, M. G. (2022). *In Vitro* Antifungal Screening of Argentine Native or Naturalized Plants against the Phytopathogen *Monilinia fructicola*. *Combinatorial Chemistry* & *High Throughput Screening*, 25(7), 1158-1166. https://doi.org/10.2174/1386207324666210121113648.

<u>Stegmayer, M. I.,</u> Fernández, N. L., Alvarez, N., Olivella, L., Gutiérrez, H. F., Favaro, M. A., & Derita, M. G. (2021). Aceites esenciales provenientes de plantas nativas para el control de hongos fitopatógenos que afectan a frutales. *FAVE: Sección Ciencias Agrarias*, 20(1), 317-329. https://doi.org/10.14409/fa.v20i1.10273.

# Capítulo de Libros

Stegmayer, M. I., Álvarez, N. H., Favaro, M. A., Fernandez, L. N., Carrizo, M. E., Reutemann, A. G., & Derita, M. G. (2020). Argentinian wild plants as controllers of fruits phytopathogenic fungi: trends and perspectives. En: Mahendra Rai, Shandesh Bhattarai, Chistiane M. Feitosa (eds) Wild Plants The Treasure of Natural Healers. CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Ratón, Estados Unidos, 121-137. eBook ISBN 978-1-0030-2013-4

<u>Stegmayer, M. I.,</u> Alvarez, N. H., DI Liberto, M.; Daurelio, L. C. & Derita, M. G. (2018). Knowledge of the Ethnomedicinal Plants Used by Tobas and Mocovies Tribes in the Central-North of Argentina. En: José L. Martinez, Amner MunPoz-Acevedo & Mahendra Rai (Eds) *Ethnobotany: Local Knowledge & Traditions*. CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Ratón, Estados Unidos, p. 187-213. ISBN 978-1-1383-8898-7.

## **AGRADECIMIENTOS**

A mis directores, Marcos y Andrea, por su invaluable esfuerzo y dedicación para enseñarme.

A Maxi por su amor incondicional, acompañarme siempre y su escucha.

A mi familia y amigos, en especial mi mamá Teresa y mis hermanas M. Ángeles y M. Grazia por enseñarme a nunca bajar los brazos como a dar pelea día a día en las dificultades de la vida.

A mis compañeros de trabajo de ICiAgro: Norma A., Federico T., Laura O., Gisela S., Melina B., Gabriel C., Verónica R., Pamela B., Ma. Alejandra L., Marianela P., Elisa P.; de la Facultad de Ciencias Veterinarias: Ma. Cristina S., Hilda H., Juan G., Sergio R., Diego S., Ma. Victoria V., Marcos B., Ayelén B., quienes me han apoyado, brindado su cariño y aliento, en especial en los momentos más grises de esta etapa.

A la Universidad Nacional del Litoral y al ICiAgro, por alentar y apoyar con recursos mi formación y permitirme realizar el Doctorado en Ciencias Agrarias.

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) que me otorgaron la beca de posgrado que me permitió dedicarme a mi formación doctoral y a la investigación durante estos 6 años.

A todos ellos y a todos los que aportaron su granito de arena en esta tesis, gracias.

# **INDICE**

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS	I
RESUMEN	П
ABSTRACT	III
Introducción general, Hipótesis, Objetivos y Esquema de la Tesis	4
La agricultura y la producción de alimentos	4
Condiciones predisponentes a las enfermedades de poscosecha	4
Enfermedades de poscosecha	6
Hipótesis y objetivos de trabajo:	7
Objetivos específicos	7
Capítulo I: Caracterización productiva de frutilla y durazno	9
Introducción	9
Materiales y Métodos	11
Resultados	11
Discusión	25
Conclusión	30
Capítulo II: Aislamiento, Caracterización morfológica e Identificación molecular de ho fitopatógenos	
Introducción	32
Botrytis cinerea (Pers.)	33
Colletotrichum sp. Coda	33
Rhizopus stolonifer (Ehrenb.) Vuill	34
Fusarium sp. Link	34
Monilinia fructicola (Winter) Honey	35
Materiales y Métodos	36
Aislamiento, caracterización y depósito de cepas fúngicas	36
Identificación molecular	37
Extracción de ADN	37
Análisis bibliográfico de fungicidas aplicados a casos relacionados con esta tesis	38
Resultados	38
Caracterización morfológica, depósito y conservación de las cepas fúngicas	38
Identificación molecular	39
Aplicación actual de fungicidas en los cultivos de interés	41
Discusión	45
Conclusión	50
Capitulo III: Extracción de metabolitos secundarios de las especies vegetales selecciona ser evaluados como fungicidas	•
Introducción	51
Materiales y Métodos	52

Preparación de extractos fijos	55
Preparación de extractos en casos particulares	57
Obtención de Aceites esenciales	58
Resultados	59
Selección de las especies vegetales	59
Rendimientos	59
Rendimientos de extractos preparados por Soxhlet	61
Rendimientos de aceites esenciales	62
Discusión	63
Conclusión	65
Capítulo IV: Ensayos <i>in vitro</i> de los extractos y aceites esenciales obtenidos a partir d por su capacidad antifúngica contra los fitopatógenos seleccionados	
Introducción	66
Materiales y Métodos	66
Obtención de soluciones fúngicas	66
Bioensayo con extractos fijos	67
Bioensayo de volátiles para determinación de la actividad de aceites esenciales	68
Resultados	69
Actividad antifúngica de extractos fijos	69
Determinación del porcentaje de inhibición fúngica mediante bioensayo de volát	iles 74
Discusión	77
Conclusión	82
Capítulo V: Ensayos <i>in vivo</i> (a campo o en poscosecha) para frutilla var. Cabrillo y va Andreas y en durazno var. Flordaking	
Introducción	84
Materiales y Métodos	84
Ensayo a campo en frutilla var. Cabrillo	84
Ensayo de inhibición de patógenos de poscosecha en frutilla var. San Andreas	88
Ensayo de inhibición de patógenos de poscosecha en durazno var. Flordaking	89
Resultados	90
Ensayo a campo en frutilla var. Cabrillo y evaluación de parámetros productivos calidad de frutas según los tratamientos fungicidas aplicados	•
Discusión	104
Conclusión	111
Capítulo VI: Caracterización fitoquímica de extractos fijos y aceites esenciales con la capacidad antifúngica	•
Introducción	112
Materiales y Métodos	113
Caracterización de los extractos fijos a través de Cromatografía en capa delgada	(CCD) 114
Caracterización de los perfiles químicos de los AE por CG-EM	114
Resultados	115

CCD: Extractos fijos	115
CG-EM: Aceites esenciales	116
Discusión	118
Conclusión	121
DISCUSIÓN GENERAL	122
ANEXO I Especies vegetales	124
ANEXO II Condiciones meteorológicos durante el cultivo de frutillas	
ANEXO III Cromatoláminas y Cromatogramas	159
BIBLIOGRAFÍA CITADA	167

# ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

Ac, acetona/acetónico

ADNr, ácido desoxirribonucleico ribosómico

AE, aceite esencial

APD, Agar-Papa-Dextrosa

β, beta

CCD, cromatografía en capa delgada

CCPR, Comité del Codex sobre Residuos de

Plaguicidas

CG-EM, cromatografía gaseosa espectrometría

de masas

CLSI, Clinical and Laboratory Standards

Institute

DCM, diclorometano/ diclorometánico

**DMSO**, dimetilsulfóxido

dNTPs, desoxirribonuclétidos trifosfato

EDTA, Ethylenediaminetetraacetic acid solution;

ácido etilendiaminotetraacético

**EEUU**, Estados Unidos

FeCl<sub>3</sub>, Cloruro férrico

fl, flores

FRAC, Comité de Acción de Resistencia de

Fungicidas **g**, gramos

°C, grados Celsius

H, hexánico

ha, hectárea

HCl, ácido clorhídrico

hj, hojas

ITS, Internal Transcribed Spacer; espaciador

transcrito interno

**kg**, kilogramos **L**, luminosidad

LMR, Límite Máximo de Residuos

M, molar

MCBA, Mercado Central de Buenos Aires

MeOH, metanol/metanólico

MgCl<sub>2</sub>, cloruro de magnesio

mg, miligramo

mL, mililitro

mM, milimolar

nm, nanómetro

ng, nanogramo

NP/PEG, Natural products/polietilenglicol

ONU, Organización de las Naciones

Unidas

pa, parte aérea

PC, parámetros de calidad

PCR, Polymerase chain reaction; Reacción

en Cadena de la Polimerasa

pH, potencial de hidrógeno

PP, parámetros productivos

ppm, parte por millón

% P/V, porcentaje peso en volumen

Rep, República

rpm, revoluciones por minuto

rz, rizoma

SDS, sodium dodecyl sulphate;

dodecilsulfato sódico

sp., especie

SST, Sólidos Solubles Totales

**TA**, Acidez Titulable

TEF1, factor de elongación de la

traducción 1a

tn, tonelada

Tris, Tris(hidroximetil) aminometano

μL, microlitro

UFC, Unidades Formadoras de Colonias

UV, ultravioleta

## **RESUMEN**

Las frutas poseen características que las hacen susceptibles de enfermedades en poscosecha y los hongos constituyen la principal causa de las pérdidas. En consecuencia, los géneros de hongos fitopatógenos más destacados en los cultivos regionales de frutilla y durazno son Botrytis, Colletotrichum, Monilinia, Rhizopus, y Fusarium. Para su control, se utilizan ingredientes activos de síntesis química pero el riesgo toxicológico asociado, las tendencias de consumo y las nuevas leyes, limitan y/o prohiben su utilización. Los productos naturales se plantean como fuente antifúngica alternativa por poseer novedad química, mecanismo de acción diverso y baja probabilidad de resistencia. En esta tesis, se caracterizó la producción mundial, sudamericana y nacional de las frutas de interés. Para las pruebas de susceptibilidad se aislaron los patógenos de mayor importancia económica, se los identificó molecularmente, se realizó la búsqueda de casos de resistencia y de antifúngicos comerciales utilizados. Se elaboraron fichas técnicas de 30 especies vegetales con potencial antifúngico, que luego de ser colectadas, se obtuvieron 52 extractos fijos. Mediante el método de difusión en agar, se determinó el efecto sobre los géneros Botrytis, Colletotrichum y Monilinia. Mediante el ensayo de volátiles, se evaluaron 15 AE contra los principales patógenos, así como contra Rhizopus y Fusarium. Los resultados arrojaron que 15 extractos fijos y 11 AE lograron la inhibición de al menos uno de los hongos de interés. Los patógenos estudiados fueron inhibidos por al menos un extracto vegetal. Los extractos más promisorios resultaron ser: H de R. rugosum fl, Ac de S. californicus rz, H de P. acuminata, H de P. madagascariensis, DCM de P. madagascariensis y DCM de P. neochilus. Los AE provenientes de D. ambrosioides, P. graveolens, L. nobilis, M. citrina, L. alba y L. turbinata lograron la mejor performance de inhibición contra el panel bajo estudio. En el ensayo a campo en frutilla var. Cabrillo se encontraron diferencias significativas en el número de frutos, acidez y color para los tratamientos planteados. Los ensayos en poscosecha para B. cinerea en la var. San Andreas de frutillas, señalaron que el extracto de P. acuminata y DCM de P. madagascariensis se comportaron igual al control químico, pero no frente a C. nymphae. En durazno var. Flordaking, ninguno de los tratamientos se comportó como el control químico, alcanzando el AE de P. graveolans valores intermedios entre ambos controles. Mediante la técnica de CCD se halló la presencia de alcaloides, flavonoides, terpenos, saponinas terpénicas y taninos en el 25% de los extractos que inhibieron totalmente al menos a un patógeno. Para los AE, la técnica de CG-EM arrojó los porcentajes de los distintos compuestos que posiblemente sean los responsables de su actividad. Se concluye que los productos naturales evaluados en esta tesis presentan un alto potencial para ser desarrollados como fungicidas de poscosecha, destacandose como una alternativa en cuanto a accesibilidad y eficacia respecto a los fungicidas tradicionales.

Palabras clave: Productos Naturales, Producción Regional, Antifúngicos, Poscosecha, Frutas.

#### **ABSTRACT**

Fruits present features that make them susceptible to postharvest diseases and fungi are the main cause of losses. Consequently, the most prominent plant pathogen genera that affect the regional strawberry and peach crops are Botrytis, Colletotrichum, Monilinia, Rhizopus and Fusarium. Many active products derived from the chemical synthesis are used for its control, but the associated toxicological risk, consumption trends and the new laws, have limited or prohibited their use. Natural products are proposed as an alternative antifungal source because they possess chemical novelty, different mechanism of action and low probability to cause fungal resistance. In this work, world, South American and national production of strawberies and peaches was characterized. The phytopathogens of interest were isolated, molecularly identified and the cases of resistance as well as the commercial antifungal agents currently used were searched. A number of 30 plant species were selected and collected to obtain 52 extracts. Using a diffusion method, the effect on the main phytopathogenic fungi Botrytis, Colletotrichum, Monilinia was determined. For the volatile methodology, 15 EOs were obtained and evaluated over the same fungi panel as well as against two additional genera: Rhizopus and Fusarium. The results showed that 15 extracts and 11 EOs were able to inhibit at least one of the fungi tested. The phytopathogens studied were inhibited by at least one plant extract. The most promising extracts turned out to be: H de R. rugosum fl, Ac de S. californicus rz, H de P. acuminata, H de P. madagascariensis, DCM de P. madagascariensis and DCM de P. neochilus. Moreover, EOs obtained from D. ambrosioides, P. graveolens, L. nobilis, M. citrina, L. alba and L. turbinata demonstrated the best inhibition performance against the fungi panel. In the field trial using Cabrillo strawberry variety, there were significant differences in fruit numbers, acidity and colour. Postharvest trials on B. cinerea using San Andreas variety, indicated that the extract of P. acuminata and DCM of P. madagascariensis behaved similarly respect to the chemical control, but not against C. nymphae. In peach Flordaking variety, none of the treatments behaved like the chemical control, reaching the EO of P. graveolans intermediate values between both controls. TLC technique detected alkaloids, flavonoids, terpenes, terpenic saponins and tannins, and they were found in 25% of the extracts that totally inhibited at least one pathogen. For EOs, the GC-MS technique showed the percentages of the main compounds that produced inhibitions. In conclusion, the natural products evaluated in this thesis showed a high potential to be developed as post-harvest fungicides, highlighting as an alternative in terms of accessibility and mode of action over traditional fungicides.

**Keywords:** Natural Products, Regional Production, Antifungal, Post-harvest, Fruits.

# Introducción general, Hipótesis, Objetivos y Esquema de la Tesis

## La agricultura y la producción de alimentos

El sector frutihortícola integra una parte importante en la producción y comercialización de productos agrícolas (Sharma y Pongener, 2010). Entre los productos comercializados se encuentran frutas y verduras, que aportan nutrientes esenciales como vitaminas y minerales (Parajuli *et al.*, 2019). Estos desempeñan un indispensable rol en la salud y bienestar humano, proporcionando carbohidratos, antioxidantes y sustancias anticancerígenas, entre otras (Arul, 1994; Nehir El *et al.*, 2012; Tuomisto *et al.*, 2017).

El consumo de nutrientes en la dieta ayuda a la prevención de enfermedades crónicas no contagiosas y disminuye riesgos cardiovasculares y el desencadenamiento de patologías como el cáncer (OMS, 2002). En los últimos años, el mundo ha sufrido grandes cambios que han repercutido enormemente en la agricultura y en consecuencia en el régimen alimentario, mutando desde una dieta que contenía en gran parte alimentos de origen vegetal por una dieta con un alto contenido de grasas, hipercalórica y constituida principalmente por alimentos de origen animal (Mason-D'Croz et al., 2019; OMS, 2003). En América latina el consumo de frutas y verduras está por debajo de lo recomendado (400 g/persona/día), observándose que las enfermedades crónicas no transmisibles y prevenibles, cerebrovasculares, cardiopatía isquémica, cáncer y diabetes son la principal causa de mortalidad y morbilidad (OMS 2003; OPS 2002). La fibra presente en frutas como en verduras y la presencia de fitoquímicos nutracéuticos contribuirían a disminuir, hasta en 31%, el riesgo de cardiopatías isquémicas, aumentando la sensación de saciedad y disminuyendo la ingesta de calorías totales (CDCP, 2005; OMS, 2002). El Fondo Mundial para la Investigación del Cáncer y el Instituto Nacional del Cáncer de Estados Unidos, afirman que un aumento del consumo de frutas y hortalizas reduciría un 20% los cánceres de la boca, esófago, pulmones y vejiga; y un 50% los cánceres de páncreas, vesícula, mama y útero (Islami et al., 2018; NCI, 2001; Siegel et al., 2022; WCRF, 2007).

# Condiciones predisponentes a las enfermedades de poscosecha

Las frutas se consideran alimentos perecederos y exhiben un alto contenido de humedad (entre el 70-95%), un gran tamaño (hasta 5 kg), tasas de respiración altas, pH bajos y en general texturas suaves (Singh y Sharma, 2018). Alcanzada la madurez, se cosechan encontrándose listas para ser comercializadas. Para lograr un abastecimiento constante y prolongado, aquellas que se recolectan en grandes cantidades y en períodos relativamente cortos, se deben almacenar durante semanas o meses para disponer de las mismas durante todo el año, siendo este período más notable en aquellos destinados al mercado de exportación (Barkai-Golan, 2001; Contarino *et al.*, 2019; Nunes, 2012).

Las frutas, son organismos vivos que se mantienen a humedades relativas altas para protegerlas de la deshidratación y de la pérdida de peso (Belay *et al.*, 2019). Varios autores señalan que se estimula el desarrollo de patógenos debido a que, durante el almacenamiento, ocurre una mayor tasa de descomposición que se atribuye a la humedad contenida dentro de las heridas, lenticelas o estomas. Por lo que alternar humedades altas y bajas también favorece mecanismos activos de liberación de esporas en algunos hongos. Como resultado del alto contenido de humedad se produce un crecimiento fúngico más vigoroso, siendo en algunos casos peligroso por la existencia de hongos termo-tolerantes (Kanchana *et al.*, 2015; Singh y Sharma, 2018).

Por otra parte, bajar la temperatura disminuye la tasa de metabolismo y por consiguiente retarda el deterioro de las frutas. La temperatura más baja deseada está por encima de la temperatura de congelación, dado que el almacenamiento por debajo de 10 °C es suficiente para causar lesiones por frío en las frutas y hortalizas. Además, la congelación no es garantía de inocuidad, ya que en el caso de que se haya producido previamente la infección, la disminución de la temperatura sólo ralentiza el crecimiento del patógeno, a menos que el enfriamiento sea inferior a -10 °C (Ospina Meneses y Cartagena Valenzuela, 2008).

El valor de pH, normalmente por debajo de 5, es un factor importante para su resistencia general a los agentes de descomposición (especialmente bacterias), pero promueve el desarrollo de varios hongos en la poscosecha (Kanchana *et al.*, 2015).

Debido a que los factores previamente mencionados constituyen un sustrato ideal, que en el transcurso de la vida comercializable se ve afectada por la temperatura, humedad relativa, composición de la atmósfera durante y después de la cosecha, las frutas y hortalizas son susceptibles a infección por diversos microorganismos e insectos (Shuping y Eloff, 2017). La descomposición después de la cosecha limita la duración del almacenamiento y la vida útil del producto (Pandey *et al.*, 2019).

A nivel mundial, los hongos son la principal causa de pérdidas en cultivos (Almeida *et al.*, 2019). Las frutas de importancia mundial en su producción como las rosáceas, son afectadas por varias enfermedades, siendo altamente perecederos durante la poscosecha (Parveen *et al.*, 2016). Las pérdidas económicas por las enfermedades de almacenamiento podrían exceder a aquellas causadas a campo, si se tiene en cuenta las grandes inversiones en los tratamientos y procesos que sufre el producto desde la cosecha hasta que llega al consumidor, incluyendo la recolección, clasificación, empaque, envío y almacenamiento (Harvey, 1978). En países desarrollados esta pérdida puede representar hasta el 25% en tanto que en los países en desarrollo es a menudo más alto, excediendo el 50% (Eckert y Ogawa, 1985; Priyadarshi *et al.*, 2020). Esta gran pérdida que se produce entre la cosecha y el consumo se ganó el nombre de "segunda

cosecha", lo cual refiere a las pérdidas ocasionadas en la cadena de comercialización (Bourne, 1977).

# Enfermedades de poscosecha

El método predominante de cosecha de frutas y hortalizas es manual; de esta manera los recolectores pueden seleccionar la etapa de madurez óptima de un producto determinado y pueden mantener el daño al mínimo. El daño ocasionado por lesiones ocurre cuando se deja caer los frutos sobre una superficie dura, por compresión o vibración, pero la lesión generalmente no es evidente de inmediato. Estas situaciones crean los sitios de invasión por patógenos aumentando su susceptibilidad a medida que las frutas maduran (Opara y Pathare, 2014; Prusky, 2011).

Después de la cosecha, la resistencia del huésped disminuye y las condiciones se vuelven favorables para el crecimiento del patógeno, mientras otros persisten en el suelo o sobreviven en los restos de plantas en el campo (Agrios, 2005). Debido a ello, los hongos son capaces de iniciar el proceso de infección en la superficie de las partes florales permaneciendo inactivos hasta que las condiciones para su viabilidad sean óptimas (McGrath, 2004). Entre los hongos fitopatógenos más significativos, tanto en pre como en poscosecha de distintos cultivos, se encuentran los géneros *Alternaria*, *Aspergillus*, *Botrytis*, *Colletotrichum*, *Diplodia*, *Monilinia*, *Penicillium*, *Phomopsis*, *Rhizopus*, *Mucor*, *Fusarium*, entre otros (Dean *et al.*, 2012; Droby y Lichter, 2007).

Las enfermedades de poscosecha contribuyen significativamente al deterioro de la calidad y la composición de nutrientes, la contaminación por micotoxinas y la reducción de valor de mercado de la fruta. Se propagan principalmente durante la venta, el transporte y almacenamiento causando dificultades económicas para los productores (Parveen *et al.*, 2016). Incluso el consumidor promedio, a menudo debe descartar los productos en mal estado reconociendo el persistente problema de la descomposición en poscosecha (Janisiewicz y Korsten, 2002).

Las reducciones de las enfermedades en frutas y verduras se realizan principalmente con fungicidas (Tripathi y Dubey, 2004). Se acepta que la producción y comercialización de estos productos frutihortícolas, no sería posible sin su uso (Sharma y Pongener, 2010). Los ingredientes activos como imazalil, pirimetanil, fludioxonil, tiabendazol entre otros, se utilizan ampliamente como medios de control en la horticultura convencional (Palou, 2018). Además, cabe destacar que los medicamentos antimicóticos aprobados en humanos, se han utilizado con fines agrícolas durante décadas (Azevedo *et al.*, 2015). Para disminuir las afecciones, en menor medida, se realizan prácticas de gestión lo cual consiste en reducir el inóculo durante el sistema de cadena de frío (Janisiewicz y Korsten, 2002).

El uso, y por consiguiente el riesgo toxicológico asociado a los funguicidas de síntesis química junto a sus residuos en los alimentos, las mayores tendencias del consumo y las nuevas legislaciones, han limitado y en algunos casos prohibido su utilización (Lastochkina *et al.*, 2019; Mac Loughlin *et al.*, 2017; Wisniewski *et al.*, 2016). En los últimos años, el aumento de

enfermedades fúngicas ha sido asociado al fenómeno del calentamiento global, debido a que algunos hongos aprovechan una estrategia de selección-adaptación natural y se adaptan a temperaturas más extremas, agudizando la amenaza del aumento a la resistencia (Almeida *et al.*, 2019; Zavrel y White, 2015).

#### Hipótesis y objetivos de trabajo:

# Hipótesis

Las plantas, a través de su metabolismo secundario, generan principios activos que ejercen acción inhibitoria contra hongos fitopatógenos.

# Objetivo general

Investigar potenciales fungicidas naturales como alternativas al uso de productos de síntesis en la etapa de poscosecha de frutillas y duraznos, a través del uso de extractos, aceites esenciales vegetales o compuestos aislados de ellos, que resulten ambientalmente amigables.

# **Objetivos específicos**

- 1. Obtener extractos y aceites esenciales de especies vegetales seleccionadas, utilizando solventes de distintas polaridades que aseguren la extracción diferencial de todos sus metabolitos secundarios bioactivos.
- 2. Aislar y caracterizar las cepas fúngicas que provocan mayores pérdidas económicas durante la poscosecha de frutillas y duraznos que se producen en la región del Litoral.
- 3. Evaluar la capacidad antifúngica *in vitro* de todos los extractos y aceites esenciales vegetales obtenidos, frente a las especies de hongos fitopatógenos aislados previamente.
- 4. Demostrar la capacidad antifúngica en modelos *in vivo* de aquellos extractos y/o aceites esenciales que resultaron activos en los ensayos *in vitro*.
- 5. Caracterizar químicamente los extractos vegetales y aceites esenciales activos, con el fin de detectar los compuestos responsables de la actividad antifúngica.

## Esquema de la tesis

Con el fin de responder a los objetivos mencionados, el presente trabajo se organizó de la siguiente manera:

En el capítulo I se analizó la situación actual de la producción mundial, sudamericana, nacional y provincial de frutilla y durazno. Para ello, se realizaron regresiones de los datos obtenidos de fuentes internacionales y nacionales. Además, se evaluaron las variedades comerciales de mayor relevancia para cada fruta en la provincia de Santa Fe.

En el capítulo II se describió el aislamiento y caracterización de los patógenos fúngicos que provocan las mayores pérdidas económicas durante el cultivo y la poscosecha de frutilla y durazno. Además, se realizó la identificación molecular y morfológica de los patógenos y el depósito de las cepas en el CEREMIC (Centro de Referencia en Micología de la UNR), EE INTA

San Pedro y en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ingeniería Química de la Universidad Nacional del Litoral. Se analizaron los principios activos de síntesis químicas, con los casos correspondientes de resistencias reportadas en cultivos varios y en los de interés (frutilla y durazno).

En el capítulo III se describió la selección, recolección e identificación de las especies vegetales a evaluar. Además, se explicaron las técnicas extractivas para la obtención de los productos naturales de distinta naturaleza química que fueron evaluados por su capacidad fungicida.

En el capítulo IV se describió la evaluación *in vitro* de los productos naturales obtenidos de las especies vegetales seleccionadas. Para ello, se utilizaron distintos bioensayos según la naturaleza química de cada producto, utilizando controles positivos (de crecimiento) y negativos (de inhibición con fungicidas comerciales).

En el capítulo V se informó la capacidad fungicida *in vivo*, en poscosecha como en cultivo, de aquellos productos naturales que resultaron más activos en la evaluación *in vitro*. Se evaluaron parámetros productivos, de calidad y fitosanitarios de plantas y frutas tratadas con los fungicidas alternativos.

Finalmente, en el capítulo VI, se describió la caracterización química de los extractos/aceites esenciales que presentaron mayor actividad fungicida en las etapas anteriores. Para ello, se utilizaron técnicas de Cromatografía Gaseosa, Cromatografía en Capa Delgada y se analizaron los perfiles fitoquímicos.

# Capítulo I: Caracterización productiva de frutilla y durazno

#### Introducción

La frutilla (*Fragaria* x *ananassa* Duch.) es uno de los frutos más apetecibles y preciado por el ser humano destacándose por su exquisito sabor (Howard *et al.*, 1992). Pertenece a la familia Rosaceae cuyo género proviene del latín *fragum* (fragante), refiriéndose al aroma de la fruta. El fruto consumido es producto del cruzamiento espontáneo entre *F. chiloensis* (L.) Duch y la variedad estaminada *F. virginiana* Duch. Las posteriores tareas de mejoramiento genético sobre el cruzamiento obtenido, devinieron en la denominada *Fragaria* x *anannassa*, que es la que actualmente se comercializa (Hancock *et al.*, 1999). Por su parte, el durazno integra los frutales de carozo y, al igual que frutilla, pertenece a la familia Rosaceae. La especie *Prunus persica* (L.) Batstch proviene de China, aunque su epíteto específico se refiere a Persia, lugar de donde se creía que era originario. Es el tercer cultivo arbóreo más importante del mundo dentro de la familia, y se ubica económicamente después de las manzanas (*Malus* spp.) y las peras (*Pyrus* spp.) (Obi *et al.*, 2018b).

Los frutos poseen propiedades nutracéuticas entre los que se destaca la frutilla por ser uno de los frutos con más vitamina C, reduciendo el riesgo de cáncer en el aparato gastrointestinal. Héctor *et al.*, (2006) expresaron que la frutilla presenta principios activos con efectos antioxidantes que ayudan a prevenir enfermedades del tipo degenerativo, antinflamatorio y anticancerígeno. En ese mismo sentido, investigaciones sobre el consumo de frutos de carozo sugieren que disminuyen las enfermedades crónicas como las cardiovasculares, cáncer y diabetes (Vinholes *et al.*, 2016). Esto se asocia a la presencia de vitaminas, fibras, minerales, flavonoides, antocianinas y especialmente a los ácidos fenólicos que se caracterizan por su actividad antioxidante (Bento *et al.*, 2020; Zhao *et al.*, 2015).

El hábito de consumo por parte de las personas depende en gran medida del precio relativo de las distintas frutas disponibles en cada estación. A nivel nacional, la frutilla es la fruta fina más difundida, la de mayor aceptación por parte del consumidor, y con una demanda muy elástica. El valor estimado de consumo por habitante por año, es aproximadamente de 1 kg (Ministerio de Agroindustria, 2017; MAGyP, 2019). Es un producto de creciente mercado principalmente en los países desarrollados del hemisferio norte, ocupando nichos de muy buen poder adquisitivo (Pagani, 2011). El mayor país consumidor es Estados Unidos con 3,6 kg/habitante/año, seguido por los países europeos con 1,6 kg/habitante/año. Por el contrario, en países asiáticos como Japón, Corea y China el consumo es muy bajo: 2,6 g/habitante/año (Boriss *et al.*, 2006; Wu *et al.*, 2012; Ministerio de Agroindustria, 2017; MAGy P, 2019). En la provincia de Santa Fe, constituye uno de los principales cultivos frutihortícola que permite desarrollar la economía regional. Su producción es destacada a nivel nacional debido a la calidad alcanzada, y su principal destino es la exportación (Pagani, 2011). De la misma manera, el durazno es uno de los principales frutales

que se comercializa dada su característica de sabor, aroma y apetecibilidad (Africano *et al.*, 2016). Su relevancia yace en la capacidad que tiene el fruto para ser industrializado en mermeladas, jugos y enlatados, y su consumo en fresco a través de las distintas cadenas comercializadoras (Franco, 2013). Los cultivares de duraznos de mesocarpio blanco, se consideran de mejor sabor y más resistentes en un clima frío (Byrne *et al.*, 2012; Rivera Núñez *et al.*, 1997). Para conservas, secados y mermeladas, son utilizadas las variedades de mesocarpio amarillo que se destacan por su buen sabor (Lambaré y Pochettino, 2012). Se cultiva principalmente en zonas templadas, requiriendo de 400 a 800 horas de frío para florecer; sin embargo, las temperaturas mínimas invernales y las heladas primaverales son factores limitantes en la producción de duraznos de calidad (Obi *et al.*, 2018a).

La cosecha de los frutos equivale a un trauma para la planta, sometiéndola a un estrés que determina cambios esenciales en su metabolismo (Acuña y Llerena, 2001). En la frutilla, los frutos tienen una corta vida posterior a la cosecha, estimado en menos de 5 días (Pan et al., 2014), debido a una rápida deshidratación, trastornos fisiológicos, moretones, lesiones mecánicas e infección causada por una amplia gama de hongos fitopatógenos, bacterias y virus (Feliziani y Romanazzi, 2016; Mo y Sung, 2007; Sallato et al., 2007; Spadaro et al., 2004). El moho gris causado por Botrytis cinerea (Pers.), la antracnosis producida por el género Colletotrichum, y la pudrición de la frutilla causada por Rhizopus stolonifer (Ehrenb.), son las principales causas de pérdidas de poscosecha en frutilla (Maas, 1998). Asimismo, la vida útil del durazno es generalmente de 5 a 7 días a temperatura ambiente; por ello, debido a su alta perecibilidad y siendo un fruto climatérico, la época de recolección del mismo coincide con su período de comercialización (Yang et al., 2019). Se estima que la pérdida de poscosecha se encuentra entre el 30 a 40% de los productos cosechados (Hodges et al., 2011). Dentro de los patógenos más importantes, debido al ciclo de la enfermedad y sus efectos en poscosecha, se destacan Monilinia fructicola (G. Winter) Honey y Rhizopus stolonifer (Ehrenb.) Vuill. (Fontana et al., 2021; Xu et al., 2021). Más del 50% de la pérdida global en poscosecha se ha atribuido a la pudrición parda, causada por Monilinia sp., especialmente en las variedades de maduración tardía (Obi et al., 2018a). A pesar de los grandes adelantos tecnológicos, se hace muy difícil la cuantificación de las pérdidas (Matara, 2020; Porat, 2018). Uno de los principales problemas que aquejan a los consumidores, son las frutas duras y la falta de sabor, dado que se cosechan en etapas inmaduras para soportar largas distancias y evitar el desperdicio en el supermercado (Cirilli et al., 2016; Iglesias y Echeverría, 2009).

Como consecuencia de lo mencionado previamente, en este capítulo se realizaron correlaciones de producción de los cultivos de interés a nivel mundial, sudamericano y nacional, con el objetivo de cuantificar la actividad productiva de fruticultura dado su potencial en el desarrollo socio-económico de la región.

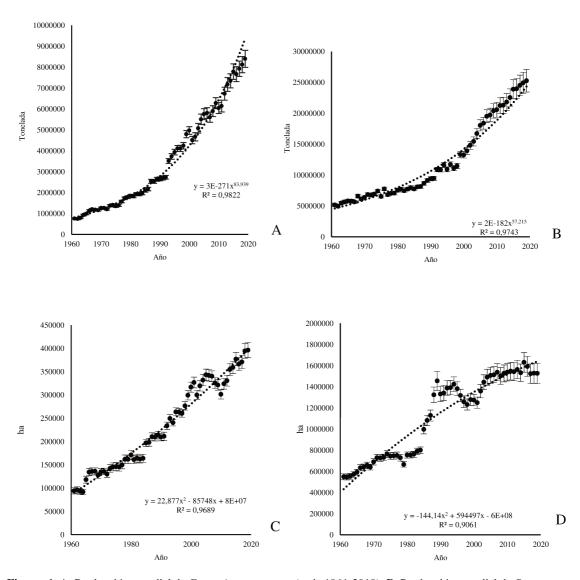
# Materiales y Métodos

Se realizó la búsqueda de información referida a producción mundial, sudamericana, nacional y provincial de frutilla y durazno desde el comienzo del registro hasta el año 2019, teniendo en cuenta la base de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAOSTAT). Se realizaron las diferentes regresiones desde el año 1961 hasta el año registrado (2019) de producción y superficie cosechada a nivel mundial, sudamericano y nacional. Adicionalmente, según lo propuesto por Simpson (2018), se calculó la tendencia de las diez mejores producciones en 2019 utilizando el programa estadístico R (2020) y en planilla de cálculo Excel (2003). Además, se presentaron los datos recolectados de las importaciones y exportaciones desde el año 2000 hasta el último registro (2020) de la base de datos Comtrade de la ONU. La caracterización de volúmenes y variedades comercializadas en Argentina se basó en los datos proporcionados por una consulta al Mercado Central de Buenos Aires (MCBA), principal acopiador de los mercados concentradores de todo el país, desde el año 2002 a 2018.

## Resultados

#### Producción mundial

La producción mundial de frutilla se realiza en 73 países y en 2019 superó los 8,3 millones de toneladas (tn), tras un aumento del 33,74% calculado sobre los 10 años anteriores. Por su parte, la producción mundial de durazno se realiza en 78 países y, en el mismo período estimado, creció un 22,79% logrando una producción de 25,2 millones de tn. Como se observa en la figura 1, tanto en frutilla como en durazno, el análisis del comportamiento de la variable producción mundial en relación a la variable año fue potencial positiva, siguiendo una función  $y = 3E-271x^{83,939}$  para frutilla e  $y = 2E-18x^{57,215}$  para durazno, donde 'y' refiere a la producción en toneladas, y 'x' al año, con coeficientes de ajuste  $R^2$  de 0,9883 y 0,9621, respectivamente. La superficie de cosecha mundial de frutilla sigue un comportamiento polinómico de segundo grado, siendo modelizada en la función  $y = 22,877x^2 - 85748x + 80000000$ . Lo mismo fue hallado en la superficie de cosecha de durazno en la función  $y = -144,14x^2 + 594497x - 600000000$ , siendo en ambos casos 'y' la superficie y 'x' los años con un coeficiente de ajuste de  $R^2$  en frutilla de 0,9689 y 0,9061 en durazno.



**Figura 1. A**. Producción mundial de *Fragaria* x *annanasa* (serie 1961-2019). **B**. Producción mundial de *Prunus persica* (serie 1961-2019). **C**. Superficie mundial cosechada de Fragaria x annanasa (serie 1961-2019). **D**. Superficie mundial cosechada *Prunus persica* (serie 1961-2019).

China es el mayor productor de frutilla con más de 3,2 millones de tn en el año 2019 y su posición en los últimos 19 años registrados se mantuvo (Tabla 1). Además, las diez principales naciones productoras son Estados Unidos (1,02 millón de tn), México (0,86 millón tn), Turquía (0,48 millón tn), España (0,35 millón tn), Federación Rusa (0,20 millón tn), Rep. de Corea (0,19 millón tn), Polonia (0,18 millón tn), Marruecos (0,16 millón tn) y Brasil (0,16 millón tn). Sus producciones alcanzan más del 80% del total mundial. Las tendencias en las producciones de los últimos 10 años indican una gran variabilidad (en %): aumentos en China (77,6), México (269,6), Turquía (66,6), España (31,9), Federación Rusa (12,8) y Brasil (30,9), así como disminuciones

en Estados Unidos (19,6), Rep. de Corea (5,3), Polonia (6,8) y Marruecos (52,7) medidos sobre la producción del mismo país comparado con el año 2009.

De igual manera, el principal productor de durazno a nivel mundial es China y mantuvo su posición en los últimos 17 años analizados y ha llegado a los 15 millón tn en el año 2019 (Tabla 1). Consecutivamente se encuentran España e Italia con producciones mayores al millón de tn: 1,54 y 1,22 respectivamente. Países como Grecia (0,92 millón de tn), Turquía (0,83 millón de tn), Estados Unidos (0,73 millón de tn), Irán (0,59 millón de tn), Egipto (0,35 millón de tn), Chile (0,33 millón de tn) y Argentina (0,21 millón de tn) alcanzaron valores menores al millón de tn. Las tendencias positivas en los últimos 10 años (en %) se observaron en China (55,7), España (25,1), Grecia (16,6), Turquía (51,7), Irán (17,9). Por el contrario, se encuentran tendencias negativas en Italia (27,5), Estados Unidos (38,9), Egipto (1,4), Chile (14,8) y Argentina (30,0) comparadas sobre la producción del mismo país en el año 2009.

Tabla 1. Producción mundial de Fragaria x annanasa y Prunus persica (año 2019) y tendencias (%)

Producción en tn del año 2019									
Fre	agaria x anannas	a	Prunus pérsica						
País	Producción (tn)	Tendencia (%)	País	Producción (tn)	Tendencia (%)				
China	3221557	77,66%	China	15841928	55,77%				
Estados Unidos	1021490	-19,61%	España	1545610	25,16%				
México	861337	269,61%	Italia	1224940	-27,59%				
Turquía	486705	66,68%	Grecia	926620	16,69%				
España	351960	31,93%	Turquía	830577	51,78%				
Federación Rusa	208800	12,86%	Estados Unidos	739900	-38,38%				
Rep. de Corea	192971	-5,30%	Irán	591412	17,92%				
Polonia	185400	-6,85%	Egipto	358012	-1,43%				
Marruecos	167827	-52,73%	Chile	330232	-14,89%				
Brasil	165440	30,39%	Argentina	210000	-30,00%				

El máximo alcanzado en el último año de la superficie cosechada de frutilla fue de 396229 ha, siendo un 23% mayor que lo alcanzado en diez años (Tabla 2). Se observa que los diez mayores productores en relación a la superficie concentran el 75% de la misma (año 2019) y coinciden con los diez países con mayor superficie cosechada, la excepción la constituyen Alemania, Egipto, Bielorrusia y Ucrania. Todos los países tuvieron una tendencia positiva (en %) en su superficie cosechada a excepción de Polonia, Estados Unidos y Ucrania.

La superficie mundial cosechada de durazno en el último año fue de 1527052 ha, siendo 0,07% superior al calculado en los últimos diez años. Los diez países con mayor superficie concentran el 79,2% de la superficie mundial. Asimismo, los diez países con mayores producciones coinciden con los diez países de mayor superficie cosechada, a excepción de Rep.

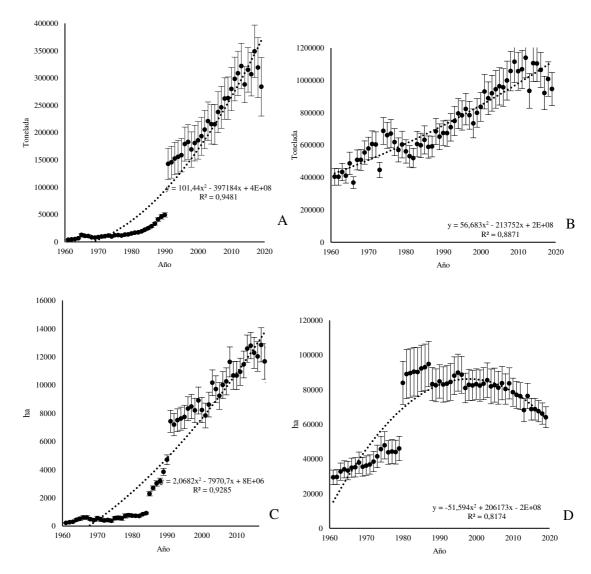
Popular Democrática de Corea, México y Rep. de Corea. Se observan tendencias positivas (%) para China (19,1), España (1,2), Turquía (11,4), Rep. Popular Democrática de Corea (46,3) y Rep. de Corea (48,5). En cambio, se observan tendencias negativas para Italia (35,0), Grecia (5,7), Estados Unidos (39,7), Irán (20,4) y México (41,9).

**Tabla 2.** Hectáreas cosechadas de *Fragaria* x *annanasa* y *Prunus persica* (año 2019) y tendencias (%).

	Superfici	e cosechada en h	a correspondiente al a	ño 2019				
Fre	agaria x anannas	а	Prunus pérsica					
País	Superficie (ha)	Tendencia (%)	País	Superficie (ha)	Tendencia (%)			
China	126126	70,30	China	840919	19,15			
Polonia	49900	-7,09	España	77700	1,26			
Federación Rusa	31122	19,70	Italia	60430	-35,06			
Estados Unidos	18130	-22,85	Turquía	46294	11,46			
México	16429	146,02	Grecia	41410	-5,73			
Turquía	16090	32,43	Estados Unidos	36380	-39,72			
Alemania	13200	1,71	Irán	32155	-20,44			
Egipto	11772	104,27	Rep. Dem. de Corea	29744	46,35			
Bielorrusia	8851	26,44	México	25202	-41,96			
Ucrania	7900	-3,66	Rep. de Corea	19263	48,55			

#### Producción sudamericana

En la Figura 2A-B se muestra el comportamiento de la variable producción sudamericana de frutilla y durazno en relación a la variable año, resultando en una relación parabólica en ambos casos con la función  $y=101,44x^2-397184.x+400000000$  para frutilla y de  $y=56,683x^2-213752.x+200000000$  para durazno, siendo 'y' la producción en toneladas y 'x' el año, con un coeficiente de ajuste de  $R^2$  0,9481 y 0,8871, respectivamente. La superficie de cosecha sudamericana de frutilla (Figura 2 C-D) sigue un comportamiento polinómico de segundo grado, siendo modelizada en la función  $y=2,068x^2-7970,7.x+8000000$ . Lo mismo fue hallado en la superficie de cosecha de durazno en la función  $y=-51,594x^2+206173.x-200000000$ , siendo en ambos casos 'y' la superficie y 'x' los años con un coeficiente de ajuste de  $R^2$  en frutilla de 0,9285 y 0,8174 en durazno.



**Figura 2. A.** Producción sudamericana de *Fragaria* x *annanasa* (serie 1961-2019). **B.** Producción sudamericana de *Prunus persica* (serie 1961-2019). **C.** Superficie sudamericana cosechada de *Fragaria* x *annanasa* (serie 1961-2019). **D.** Superficie sudamericana cosechada *Prunus persica* (serie 1961-2019).

La producción total de frutilla de países sudamericanos se incrementó al igual que los principales países productores mundiales y representa el 3,73% en relación a las superficies mundiales calculadas en el año 2019 (Tabla 3). Las tendencias (en %) para Chile, Venezuela y Ecuador resultaron negativas con 27,19, 6,13 y 58,58 respectivamente. Las tendencias positivas fueron alcanzadas por Brasil (30,39), Colombia (10,31), Perú (40,58), Argentina (31,96), Paraguay (113,77) y Bolivia (254,20). En estos dos últimos países se incrementó más del doble a las producciones medidas en 2009. Se visualizan dos grandes grupos de producción, aquellos cuya producción es inferior a las 5000 tn y aquellas que superan las 10000 tn. Argentina, cuya posición mundial es la 30ª, posee similares características agroecológicas que Chile. A su vez, Argentina se presenta como el sexto país productor sudamericano y la producción es la mitad del país que se encuentra en el quinto lugar (Perú).

A diferencia de la frutilla, la producción total de durazno en países sudamericanos disminuyó un 16,68% en los últimos diez años y representa el 3,56% a nivel mundial en el año 2019 (Tabla 3). Las tendencias (en %) para Chile, Argentina, Brasil, Venezuela, Uruguay y Paraguay resultaron negativas con 14,80, 30,0, 15,3, 49,1, 32,7 y 92,6 respectivamente. Las tendencias positivas medidas en relación al año 2009 fueron alcanzadas por Bolivia (88,1), Perú (2,2), Colombia (49,9) y Ecuador (252,5). Se visualizan tres grandes grupos de producción de duraznos, aquellos cuya producción es superior a los 100 millones de tn (Chile, Argentina y Brasil), un segundo grupo con producciones medias de 50 mil tn (Bolivia, Perú y Colombia) y un tercer grupo inferior a 20 mil tn (Venezuela, Uruguay, Ecuador y Paraguay). Argentina, cuya posición mundial es la 10ª, se presenta como el segundo país productor sudamericano de durazno. Estos poseen similares características agroecológicas a los de origen chileno, como ocurre con las frutillas. A pesar de esto, la producción alcanzada es de dos tercios respecto a Chile, siendo este el que se encuentra en el primer lugar.

Tabla 3. Producción sudamericana de Fragaria x annanasa y Prunus persica (año 2019) y tendencias (%).

	Producción en tn del año 2019										
	Fragaria x ananr	ıasa	Prunus persica								
País	Producción (tn)	Tendencia (%)	País	Producción (tn)	Tendencia (%)						
Brasil	165440	30,39%	Chile	330232	-14,89%						
Colombia	53730	10,31%	Argentina	210000	-30,00%						
Chile	28139	-27,19%	Brasil	183132	-15,31%						
Perú	28084	40,58%	Bolivia	61718	88,10%						
Argentina	14750	31,96%	Perú	46538	2,29%						
Venezuela	14080	-6,13%	Colombia	30038	49,98%						
Paraguay	4299	113,77%	Venezuela	19319	-49,16%						
Bolivia	3457	254,20%	Uruguay	12832	-32,71%						
Ecuador	787	-58,58%	Ecuador	4646	252,50%						
			Paraguay	1412	-92,60%						

La superficie sudamericana cosechada de frutilla aumentó un 7% y representó un 2,88% de la superficie cosechada mundial en 2019 (Tabla 4). Brasil, Colombia, Perú, Argentina, Bolivia y Paraguay obtuvieron tendencias positivas con un rango entre 1,75 a 134,60%. En cambio, Chile y Venezuela tuvieron tendencias negativas de 29,91 y 63,39% respectivamente. En el mismo período de tiempo, la superficie sudamericana cosechada de durazno disminuyó un 23,42% y representó un 4,18% de la superficie cosechada mundial en 2019. En relación a la cantidad de superficie se observa que los países Brasil, Chile y Argentina superan las 10000 ha cosechadas de durazno. Luego siguen Bolivia, Perú, Colombia, Ecuador y Uruguay que cosecharon 8673, 4713, 2320, 1443 y 1296 ha en el mismo año de análisis. No obstante, Venezuela y Paraguay

obtuvieron 946 y 201 ha. La distribución de las hectáreas cosechadas en los diferentes países refleja la necesidad del cultivo respecto a las horas de frío necesarias para su correcto crecimiento y desarrollo. Las tendencias (en %) son en su mayoría negativa salvo para Bolivia (48,1), Colombia (57,8) y Paraguay (0,5).

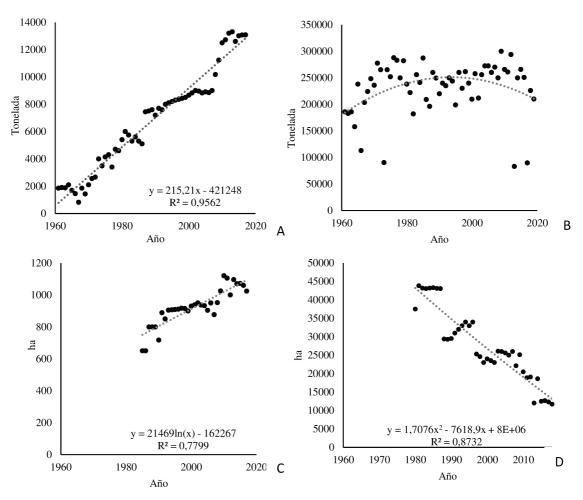
Tabla 4. Superficie cosechada sudamericana de Fragaria x annanasa y Prunus persica (año 2019) y tendencias (%).

	Superficie cosechada en ha año 2019										
	Fragaria x anan	nasa	Prunus persica								
País	Superficie (ha)	Tendencia (%)	País	Superficie (ha)	Tendencia (%)						
Brasil	4500	27,12%	Brasil	15995	-16,01						
Colombia	1888	61,64%	Chile	15651	-25,47						
Chile	1323	12,12%	Argentina	12835	-48,90						
Peru	1064	-29,91%	Bolivia	8673	48,16						
Argentina	1044	1,75%	Peru	4717	-2,80						
Venezuela	659	-63,39%	Colombia	2320	57,82						
Paraguay	556	134,60%	Ecuador	1443	-34,41						
Bolivia	394	87,62%	Uruguay	1296	-34,41						
Ecuador s/d		s/d	Venezuela 946		-50,21						
			Paraguay	201	0,50						

#### Producción nacional

Los valores de la producción en toneladas en Argentina de ambos cultivos desde el año 1960 hasta 2017 se muestran en la Figura 3. El comportamiento de la variable producción de frutilla y la variable año fue lineal, siguiendo una función y = 215,21x-421248, siendo 'y' la producción en toneladas, y 'x' el año con un coeficiente de ajuste de R² = 0,9562 (Figura 3.A). Los valores de producción máximos se ubican alrededor de 14000 toneladas. Sin embargo, la evolución de los años con respecto a la producción argentina de durazno no fue posible relacionarla con ninguna función. La producción alcanza un mínimo en el año 2013 con 83000 tn y un máximo en el año 2009 de 300000 tn.

El registro de la superficie cosechada se obtuvo a partir del año 1985 y 1980 en el caso de frutilla y durazno, respectivamente. Se observa un comportamiento logarítmico de la superficie cosechada en frutilla siguiendo la función y =  $21469\ln(x)$ -162267 con un coeficiente  $R^2$ =0,7799 y con un máximo alcanzado de 1000 ha. La superficie cosechada de durazno obtuvo máximos de 45000 ha y mínimos de 20000 con un comportamiento parabólico que se modelizó de acuerdo a la función y =  $1,7076x^2 - 7618,9x + 8000000$ , siendo ´y´ las hectáreas cosechadas y ´x´ el año con un coeficiente de ajuste de  $R^2$ =0,8732.



**Figura 3. A.** Producción argentina de *Fragaria* x *annanasa* (serie 1961-2019). **B.** Producción argentina de *Prunus persica* (serie 1961-2019). **C.** Superficie argentina cosechada de *Fragaria* x *annanasa* (serie 1985--2019). **D.** Superficie argentina cosechada *Prunus persica* (serie 1980-2019).

La producción nacional de frutilla abastece al consumidor en el mercado interno y externo con productos frescos y congelados. En el mismo sentido los principales destinos de la producción de durazno es el mercado en fresco y los productos derivados de la industrialización como conservas y pulpas (Figura 4).

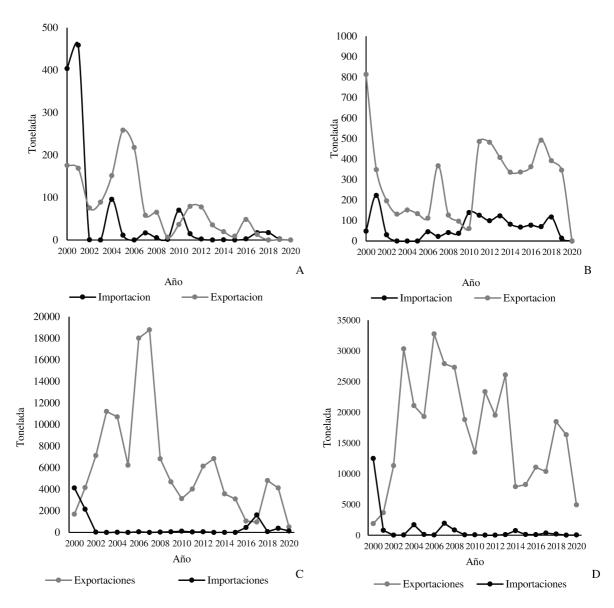


Figura 4. A. Importación y exportación de frutillas frescas serie 2000 a 2020. B. Importación y exportación de frutillas preparadas o conservadas incluso con adición de azúcar, otro edulcorante o alcohol serie 2000 a 2020. C. Importación y exportación de fruta comestible; duraznos, incluidas las nectarinas, frescas. D. Importación y exportación de duraznos preparados o conservados incluso con adición de azúcar, otro edulcorante o alcohol serie 2000 a 2020. Datos COMTRADE. Elaboración propia.

El MCBA es el principal mercado que determina precio en función de la oferta y la demanda de frutas y verduras. La producción de frutilla abastece a los mercados durante los meses julio a noviembre, siendo en primavera las ofertas regionales que ocurren en gran parte del país. En la tabla 5 se muestran los volúmenes promedio mensuales y el origen de las frutillas desde el año 2002 a 2018. Las provincias que ingresaron los mayores volúmenes en promedio expresados en porcentaje (%) del total anual del período de análisis fueron: Buenos Aires (31%), Tucumán (30,6%), Santa Fe (29,5%) y Corrientes (7,6%). El resto de las provincias (13) arrojaron valores

promedio menores al 1%. Se observan que las regiones del Noroeste, Noreste y Pampeana ofrecen frutillas durante todo el año al MCBA, aunque en algunos casos con bajas producciones.

**Tabla 5**. Volúmenes promedio mensuales de frutilla en kg (año 2002- 2018), durante el año y origen de las diferentes provincias de Argentina de las mismas. Valores nulos en gris. Gentiliza Mercado Central de Buenos Aires. Elaboración propia

Región	Provincia	Enero	Febrero	Marzo	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre
te	Jujuy	0,02			0,37		0,08	0,17	0,25	0,08	0,064	0,07	
Noroeste	Tucumán	6,7	7,97	11,95	20,39	23,72	95,04	351,74	568,05	610,69	92,92	3,49	0,64
Vor	Catamarca							0,01	0,2				
I	Salta						0,01	0,005	0,172	0,17	0,05		
te	Corrientes	16,47	7,12	3,21	1,53	4,37	18,47	55,94	87,81	133,2	76,44	27,17	18,01
Noreste	Misiones								0,07				
Z	Formosa					0,01							
ıa	Entre Rios						0,025	0,09	0,34	0,93	0,775		
ear	Santa Fe	0,09	0,05	0,035	0,37	7,25	59,57	182,86	351,08	628,78	416,13	79,72	4,6
Pampeana	Córdoba								0,05	0,14	0,01		
	Buenos Aires	169,07	147,33	145,88	118,6	68,92	26,22	10,52	7,77	31,71	261,36	437,86	423,53
Cuyo	Mendoza	0,57	2,07	7,72	8,76	5,82	0,78	0,44			0,4	1,55	0,47
Cn	San Juan						0,01			0,04			
ia	Chubut	0,28	1,16	0,52	0,17								0,18
gon	La Pampa	0,04		0,04	0,08	0,02						0,58	
Patagonia	Rio Negro			0,04							0,025		0,04
Ь	Neuquen										0,025		

La producción promedio mensual de durazno ingresado al MCBA de la serie 2003-2018 según su origen se muestra en la Tabla 6. Se observan producciones con comportamiento estacional comenzando en primavera y verano (desde los meses septiembre a abril), donde se cubren las horas de frío necesarias por las diferentes variedades de durazno. Las provincias que ingresaron los mayores volúmenes (kg) en promedio total anual del período de análisis fueron: Mendoza (40%), Buenos Aires (31%), Río Negro (21%), Jujuy (4%) y Neuquén (2%). La provincia Santa Fe obtuvo valores menores al 1% al igual que el resto de las provincias (6).

**Tabla 6**. Volúmenes promedio de durazno kg (año 2002- 2018), meses (expresados con su inicial) y origen de las diferentes provincias de Argentina de las mismas. Valores nulos en gris. Gentiliza Mercado Central de Buenos Aires. Elaboración propia

				Liu	Joracion	Propri							
Región	Provincia	Enero	Febrero	Marzo	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre
e	Jujuy	0,14								8,9	773,95	223,1	3,01
Sest	Salta	0,41	0,16								1,5	1,06	
Noroeste	La Rioja	0,01			0,11						9,14	24,2	1,15
	Santiago del Estero	0,64									0,56	2,33	0,41
Nores	Corrientes	3,86	0,79	0,63					0,01	0,01	14,08	7,85	1,2
ž	Formosa		0,06								0,01		0,07
na	Entre Rios	5,04	0,45	0,17						0,11	32,06	28,2	1,38
Pampeana	Santa Fe	20,42	1,25	0,48						0,01	15,59	35,51	33,45
amj	Córdoba		0,7							1	7,38	27,42	2,84
P	Buenos Aires	1659,96	450,325	145,25	0,26						173,31	2206,5	2790,66
0	Mendoza	3161,61	2819,5	1339,63	109,83	1,4	1,03		0,46		6,98	335,73	1977,96
Cuyo	San Juan	7,95	9,92	5,32	0,34						0,15	23,5	14,55
	San Luis										2,42	18,89	3,01

En relación a las variedades de frutilla con mayor volumen ingresadas al MCBA fueron: Camarosa, Aroma y Festival con valores de 40618,4, 2921,3 y 2732 toneladas totales en el período 2002-2018, respectivamente. Un volumen muy importante de las frutillas que ingresan no especifica la variedad (44732 kg). En cambio, las frutillas ingresadas con los menores valores en volumen pertenecen a las siguientes variedades: Sweet Charlie (1307,6), Selva (1284,6), Pájaro (60,7), Chandler (47,2), R6 (13,9), Tioga (9,6), Ventana (4,2), Rosa Linda (1,9), Tufts (1,6), todas expresadas en toneladas totales por el período mencionado.

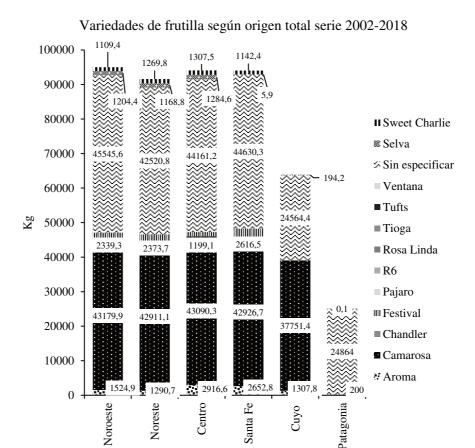


Figura 5. Total de kg ingresados por variedad y región durante el período 2002 a 2018.

Región

En la Figura 6 se muestran los datos recolectados de las variedades de durazno ingresadas a MCBA. A continuación, se describirá el origen de las variedades cuyo porcentaje sea superior al 5% del total provincial en el período de descripción. La región Noroeste, comprendida por las provincias de Jujuy, La Rioja, Salta, Sgo. Del Estero y Tucumán, presentaron un máximo de 14998,6 kg correspondiente a la variedad sin especificar cuyo origen principal es la provincia de Jujuy. La variedad Flordaking obtuvo ingresos totales de 822,6, 7,9, 2,3, 40,9 y 0 kg correspondientes a las provincias según el orden mencionado previamente. Consecutivamente, la variedad Earlygrand obtuvo valores totales de: 221,7, 225,8, 0, 1,8 y 0,9 kg, respectivamente. Por otro lado, la variedad June Gold obtuvo valores de 4,8, 6,5, 14,7 y 5 kg según el orden de provincias, y no se reportó valores para Tucumán. De la misma manera, la variedad Amarillo sólo fue ingresada por la provincia de Jujuy (0,5 kg) y La Rioja (48,7 kg). Las provincias del noroeste ingresaron diferentes tipos de variedades a saber: 12 (Jujuy), 4 (Salta), 3 (Tucumán), 8 (Sgo. del Estero) y 12 (La Rioja).

En la región Noreste, compuesta por Entre Ríos y Corrientes, se obtuvo un máximo total de 450 kg por variedad y las provincias ingresaron 20 y 19 tipos de variedades, respectivamente. Las variedades ingresadas cuyo origen es la provincia E. Ríos fueron: sin especificar (456,7),

Flordaking (243,4), Early Grand (174,3), 1633 (77,2), entre otras. Del mismo tenor, las ingresadas por Corrientes fueron: Flordaking (80,5), Dixiland (28,9), Summerset (12,4), Dixon (11,2), Red Globe (9), y otras de menor importancia regional.

A pesar de que la región Centro abarca las provincias de Buenos Aires, Córdoba y Santa Fe, en la Figura 6 se incluyó como región Centro a la provincia de Buenos Aires y Córdoba, y en forma separada se presentaron los datos de la provincia de Santa Fe, de este modo se describió con mayor detalle esta provincia. Buenos Aires ingresó alrededor de 100 variedades de durazno, de las cuales aquellas que superaron el 5% fueron: sin especificar (30409,4), Flordaking (16254,6), June Gold (14314,9), Forastero (7448,7), Dixiland (5712,5) y Flavor Crest (5501,1). A diferencia de esta provincia, Córdoba sólo ingresó 7 variedades, de las cuales las más representativas fueron: Flordaking (315,1), June Gold (249,1) y aquellas sin especificar (214). El máximo ingreso de la variedad de durazno por la provincia de Santa Fe fue sin especificar y alcanzó 507,2 kg. Además, Santa Fe presentó un ingreso de 32 variedades, entre las que se pueden mencionar: Flordaking (265), Elegant Lady (162,6), Barcelo (154,9) y Early Grand (99), las cuales superaron el 5%.

La región de Cuyo, conformada por Mendoza, San Juan y San Luis obtuvo un máximo en variedad sin especificar de 56526 kg totales. En Mendoza, de las 103 variedades reportadas, sólo las variedades O'Henry (26100,1), Elegant Lady (13660,2), Cristalino (7869,2) y las sin especificar superaron el 5%. San Juan presentó 31 variedades de durazno, aquellas sin especificar fueron de 467 kg, mientras que 162,9 kg fueron de Spring Crest, 90 kg de June Gold, y 58,7 kg de O'Henry, entre otras. Por su parte, la provincia de San Luis ingresó solo 9 variedades, y las variedades Flordaking (107,1), June Gold (54,6), sin especificar (33,4) y Hermosillo (14,2) fueron mayores al 5%.

En el sur, la región patagónica conformada por Neuquén y Rio Negro, ingresaron las variedades: O'Henry (2500,9), Pavia Marz (1321,9), sin especificar (894,9) y Elegant Lady (393,1), entre las 37 variedades reportadas. Rio Negro ingresó 88 variedades, pero los que superaron el 5% fueron las variedades: O'Henry (20267,9), sin especificar (18921,8), Elegant Lady (8424,9), Pavia Marz (6483,9) y Fair Time (6434,1).

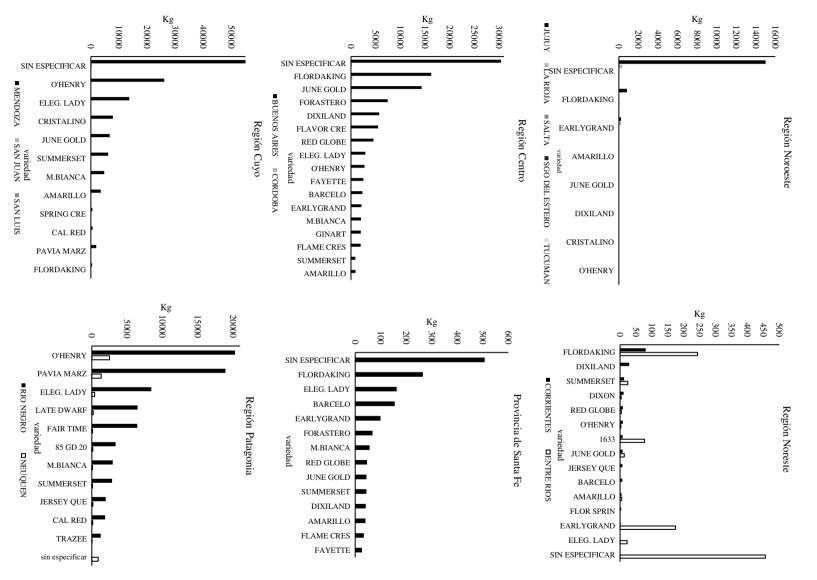


Figura 6. Total de ingreso en kg de las distintas variedades de duraznos desde 2003-2018 según la provincia de origen. Datos: Gentiliza Mercado Central de Buenos Aires. Elaboración propia.

#### Discusión

La frutilla conforma el grupo denominado berries, de los cuales es la fruta más producida en el mundo, seguida por el arándano (Molina *et al.*, 2007). El aumento de la producción mundial de frutillas se relaciona con el aumento de la superficie de cosecha, ambos comportamientos son exponencial positivo. Este hecho podría estar vinculado, además, con el aumento de la población mundial y al cambio en los patrones de alimentación que tienden a ser más saludables a través de la incorporación de frutas y verduras en la dieta. El aumento de la producción mundial desde una perspectiva económica, posibilita una alternativa de mercado para nuestro país. En coincidencia con Wu *et al.* (2012) y Simpson (2018), el principal productor mundial es China, que ha mantenido su posición en los últimos catorce años registrados y el segundo mayor productor es Estados Unidos que junto a otros países alcanzan posiciones que no son estáticas, pero se mantienen dentro del ranking. Este último autor señala que el crecimiento en la producción de frutillas fue ocasionado por los países asiáticos, centro-norte de América y los ubicados en el norte de África, debido al mejoramiento de variedades y temporadas largas con días cortos y temperaturas cálidas o suaves.

En los últimos 10 años, ha habido un aumento significativo en la producción de frutilla en Sudamérica, especialmente en países como Brasil, Argentina y Chile como consecuencia del aumento de la superficie cultivada y la mejora de la tecnología de producción, según Barth (2020) y Antunes y Peres (2013). Estadísticas publicadas con anterioridad por Kirschbaum et al., (2016) señalaban a Brasil y Chile como los principales productores, aunque en la actualidad, Colombia se encuentra en el segundo lugar con casi la mitad de producción que Brasil. En el mismo estudio señalaron que Chile se encontraba en la segunda posición; sin embargo, su producción se redujo de 56300 tn a 28139 tn en 2019. En coincidencia con lo hallado, Kirschbaum et al. (2016) mostraron que países como Argentina, Colombia y Perú se encuentran dentro del mismo rango de área cultivada que Chile, pero sus producciones son menores y esto se relaciona directamente con las diferencias tecnológicas. En cuanto a los destinos de la producción de frutilla en Argentina, parte de la fruta se comercializa en los mercados nacionales o regionales, y una porción variable se destina al procesamiento (local o exportador). Antunes y Peréz (2013) enunciaron que gran parte de las frutillas producidas en los países de América del Sur se consumen frescas localmente, y una parte de la producción se destina al procesamiento, principalmente fruta congelada con una pequeña cantidad para jugo.

Argentina se encuentra dentro de los mayores productores sudamericanos de frutillas, cuya oferta alcanza los doce meses del año y esto coincide con el amplio rango de latitud (24° a 42° latitud sur) (Kirchbaum y Hancock, 2000). Mientras el aumento de la producción fue constante, la superficie cosechada no lo fue. La relación entre estos se describe como un comportamiento logarítmico, por lo tanto, se puede aducir que el aumento productivo se debió a

la mejora tecnológica como lo muestra las evaluaciones realizadas por Pernuzzi *et al.* (2017). El mercado argentino de producción de frutilla se dedica tanto a abastecer el consumo en fresco como al congelado. El MCBA recibe en promedio 5500 tn de la producción total proveniente de Buenos Aires, Santa Fe y Tucumán (García, 2012; Rodriguez *et al.*, 2010; Rodriguez *et al.*, 2018). La exportación argentina de frutillas congeladas es una actividad mayor a la exportación en fresco. El tiempo de vida útil con esta técnica es de dos años. Mayores volúmenes de exportación permiten posicionarnos en el mercado mundial, situación que también es aprovechada por Chile (Viteri y Belé, 2013).

La actividad frutillera es altamente intensiva, debido a la ocupación de mano de obra, y esto resulta ser fundamental en momentos de crisis de desempleo (BCSF, 2005) y ofrece un retorno rápido del capital invertido por encima de cualquier actividad frutícola (Baudino, 2013). Existen tres zonas principales de producción de frutillas en el país: norte, centro y sur, las cuales se identifican por su ubicación geográfica y producción (Viteri y Belé, 2013), y son validados con los datos obtenidos a través del MCBA. Zona norte, comprende las provincias de Tucumán, Santa Fe (Coronda es la localidad más importante) y Corrientes, con producción de invierno y primavera. Zona centro, donde se encuentran los cinturones hortícolas de La Plata, Gran Buenos Aires y Mar del Plata, localizando su producción desde fines de verano a la primavera. Zona sur, abarca las provincias de Mendoza, La Pampa y las provincias patagónicas, siendo su período de producción estivo-otoñal (Adlercreutz, 2016; Sordo et al., 2017). En la provincia de Santa Fe, en el Departamento San Jerónimo la producción se extiende en las inmediaciones del Río Coronda en las localidades de Coronda, Desvío Arijón y Arocena (Bedetta et al., 2011; Sordo et al., 2017). En particular, las condiciones agroecológicas como la calidad de sus suelos y las temperaturas promedio óptimas favorecen el desarrollo de este tipo de cultivo en esta zona (Adlercreutz, 2016; Molina et al., 2007; Sordo et al., 2017). La región santafesina, con una producción promedio anual de 8000 tn de frutillas, valor que difiere de lo reportado por la FAO en relación a MCBA, y un promedio anual de ocupación de mano de obra de 700 jornales por hectárea, ocupa la mayor parte de su mano de obra en las épocas de trasplante y cosecha (Caminiti, 2015; Di toro, 2019). En cuanto al empaque, transporte y comercialización, se ocupan entre 3000 y 5000 personas en un período de cinco meses de intensa actividad. Adicionalmente, en las plantaciones se generan distintas empresas de servicios, y la provincia de Santa Fe cuenta con 13 industrias que procesan alrededor del 50% de la producción local (Di Toro, 2019; Sordo et al. 2017). Las variedades utilizadas en el último año registrado en la región santafesina presentan una menor representatividad de lo obtenido a través del MCBA. Dentro de las variedades más utilizada se destacan: San Andreas (30% de la superficie), Camino Real (20%) y Benicia; en menor proporción Fronteras, Petaluma, Splendor y Sabrina (MCBA, 2019). En relación a la genética utilizada en las variedades, existe una dependencia de gastos en la importación de plántulas y pago de regalías propias a contratos de derechos de propiedad (Zeist y Resende, 2019). En la actualidad, ciertos autores (Antunes y Peres, 2013; Zeist y Resende, 2019) señalan que las industrias de viveros especializados en Argentina y Chile suministran plantas a casi todos los países de América del Sur de cultivares norteamericanos bajo acuerdos de derechos de propiedad intelectual, donde los cultivares Oso Grande, Camarosa, Aromas, Diamante, Camino Real, Albion, Monterey, San Andreas, Palomar y Portola fueron desarrollados en la Universidad de California; y los cultivares Dover, Sweet Charlie y Florida Festival fueron desarrollados en la Universidad de Florida. Barth *et al.*, (2020) enfatiza que el origen de estos viveros son los programas de mejoramiento desarrollados por Estados Unidos, España e Italia; sin embargo, es de gran relevancia reducir la dependencia de genotipos importados y desarrollar cultivares más adaptados a las condiciones climáticas de las regiones productoras.

El otro cultivo de interés en esta tesis es el durazno, que es uno de los árboles frutales de zonas templadas más importantes económicamente en todo el mundo, con más de 39 millones producidos en 2,3 millones de ha. En coincidencia con Obi *et al.* (2018b) y Penso *et al.* (2020), el mayor productor y con la mayor superficie es China, seguida de los países europeos. Obi *et al.* (2018b) indicaron que la presencia en el ranking de países de la región mediterránea, incluidos España, Italia, Grecia y Francia, se debe al bajo riesgo de daños por heladas, coincidiendo con los obtenidos y mostrado en los diferentes rankings. En ese mismo sentido, Penso *et al.* (2020) afirmaron que, de 58 países productores, a diferencia de lo hallado en esta tesis, 19 de ellos poseen áreas subtropicales o tropicales con baja acumulación de frío invernal en cuyas zonas se está expandiendo la producción. Como resultado, esto permitirá una perspectiva de aumento en la producción en el futuro proporcionando una producción temprana en temporadas estratégicas cuando hay poca oferta de frutas.

En relación a la producción sudamericana, Brasil es uno de los principales productores y consumidores, cuya tendencia de disminución de cosecha en los últimos años se debe a una migración a otras áreas; sin embargo, la leve disminución de producción se explica por el aumento en la productividad (Baptistella *et al.*, 2019; Dini *et al.*, 2021). En coincidencia con lo hallado, Chile se encuentra entre los 10 mayores productores de durazno y sus producciones, teniendo en cuenta la superficie, utiliza alta densidad con tecnología moderna para obtener altos rendimientos y buena calidad de exportación (Nario *et al.*, 2003; Wechsler *et al.*, 2019).

Argentina se encuentra dentro de los principales productores de durazno ocupando el cuarto lugar en índices de producción después de la manzana, pera y uva de mesa (Hosch, 2010). Las variaciones obtenidas en las producciones coinciden con lo analizado en la cadena de valor donde las causas frecuentes de la baja de producción se asocian al factor climático como las heladas primaverales y el granizo, que, junto a la tecnología, afectan la intensidad y el ritmo de la actividad (Ministerio de Hacienda y Finanzas Públicas, 2016). Esto queda expuesto en el año

2018, donde Argentina no llegó a cubrir en su totalidad la cuota anual de exportación a México. Penso *et al.* (2020) afirman que la irregularidad en las producciones, por ser un cultivo perenne, se puede deber a la menor disponibilidad de frío invernal que se produce en algunas regiones templadas, ocasionando una floración irregular con una menor calidad de la fruta, así como también la inestabilidad de las condiciones ambientales entre años y ubicaciones.

En relación a los destinos de la producción y en coincidencia con Franco (2013), se observa una mayor exportación tanto en fresco como industrializado, y este último duplica los valores de la exportación en fresco. Las conservas se conforman de duraznos en mitades comunes, tajadas, cubeteados, ensaladas de frutas o coctel de frutas. Aquellas que no reúnen las características de calibre, uniformidad y ausencia de defecto entre otras características por las condiciones climáticas al momento de la cosecha, se destina a la elaboración de pulpas (Marcolini *et al.*, 2014). Dentro de las limitantes de las exportaciones en el sector industrial se encuentra: la perecibilidad del producto, la disponibilidad de bodega, el costo del flete aéreo y la presencia de plagas cuarentenarias que limita el envío a mercados como EEUU (Subsecretaria de Programación Microeconómica, 2019). Un análisis de la cadena de valor de los frutales de carozo afirma que se destina muy bajo porcentaje de su producción a la exportación en fresco (Ministerio de Hacienda y Finanzas Públicas, 2016). En caso de realizarse, Marcolini *et al.* (2014) afirman que se realiza a través de transporte terrestre refrigerado a los mercados de San Pablo y Rio de Janeiro en Brasil.

Algunos autores indican que la industrialización está condicionada por la estacionalidad de la materia prima, que coincide con lo hallado, por lo que es necesario contar con duraznos durante el mes de diciembre y marzo reconvirtiendo hacia variedades muy tempranas o muy tardías; esto queda evidenciado en lo obtenido en las producciones provinciales que ingresan al MCBA (Ojer, 2020; Marcolini *et al.*, 2014). Giacobone *et al.* (2018) afirman que la agroindustria del durazno impulsa otras producciones como las de tomate, damasco, pera, ciruela, porque gran parte de la infraestructura de procesamiento y comercialización son comunes.

La distribución de los varietales obtenidos por MCBA y su época de producción, coincide con lo expuesto por Gariglio y Bouzo (2015), donde la utilización de bajos requerimientos de frío (cultivares de maduración temprana y extra tempranas) ha permitido la incorporación de las provincias Misiones, Corrientes, Jujuy, Salta y Santa Fe en la producción de duraznos. Giacobone et al. (2018) muestran que las dos principales provincias productoras son Mendoza (57%) y Buenos Aires (21%) no coincidiendo en los porcentajes expuestos en esta tesis a través del MCBA como tampoco con Ojer (2020). En coincidencia con este mismo autor, la mayoría de los varietales ingresados al MCBA se encuentran sin especificar. Además, lo expresado por Giacobone et al. (2018) no coincide con lo hallado en esta tesis y puede deberse a que el tiempo de análisis fue superior al utilizado por los autores. Estos autores afirman que el 95% de la fruta

fresca se vuelca al mercado interno a través de los mercados mayoristas, Ojer (2020) afirma que es levemente menor: 90% es para el consumo interno, 9,4% para exportación y 0,4% para industria; esto difiere de las relaciones entre lo obtenido en la producción nacional y aquella obtenida en la exportación de fruta fresca y de exportación, siendo la exportación en 2019 inferior al 3%. Las diferencias encontradas se pueden atribuir a los períodos observados, así como también a las alternancias de los valores de las producciones cosechadas. La clasificación utilizada por MCBA en relación a los tiempos de ingreso de la fruta coincide con lo expresado por Ojer (2020) y a modo general son: "extra tempranas" o "muy tempranas" (antes del 30/11); "tempranas" (del 1/12 al 31/12), "medias" (del 01/01 al 15/02) y "tardías" (desde el 16/02). Marcolini et al. (2014), señalan que las variedades muy tempranas son por el ingreso de duraznos de Jujuy con variedades Early Grand y Flordaking. Durante el mes octubre hacen el ingreso las variedades tempranas desde el norte de Buenos Aires con Flordaking, June Gold y Early Grand. Finalizando noviembre, la variedad June Gold desde Mendoza empieza a competir, siendo el mes de diciembre el de mayor ingreso, primero por Buenos Aires y luego por Mendoza, que se invierten en el mes de enero. En este último mes ingresa la producción de Rio Negro y Neuquén que, junto a Mendoza, durante el mes de febrero son los principales abastecedores y finalizan la campaña. El resto de los meses se abastece el mercado en fresco con importaciones.

Argentina posee una histórica tradición en lo referido a las actividades agropecuarias. La región de producción del Litoral está constituida por los sectores norte y centro de Buenos Aires, delta bonaerense y Santa Fe. La provincia de Santa Fe dentro de los siete territorios con mayor superficie agropecuaria, tuvo históricamente un rol exportador y abastecedor hacia otras provincias (Zana, 2015). Una de las principales características de esta región es que se encuentran próximas a los núcleos de consumo más importantes. Por lo antes expuesto, la producción se destina casi en totalidad al consumo en fresco, participando en menor medida en las exportaciones, existiendo un porcentaje bajo que se destina a industria para la fabricación de jugos naturales y mermeladas en su mayoría (Subsecretaria de Programación Microeconómica, 2019).

El circuito productivo santafesino es una actividad en la cual prevalecen las explotaciones tradicionales, a cargo de la familia del productor y con una mínima incorporación de peones. A partir de 1960 los dueños eran principalmente migrantes italianos o descendientes de éstos y en la década del 70, la población de origen boliviana bajo el sistema de mediería le otorga a la producción hortícola ciertos cambios y nuevas particularidades (Demarchi, 2010). Aproximadamente se cultivan alrededor de 650 ha de duraznos ubicados en los departamentos Rosario, Constitución y San Jerónimo (Santafesina, 2008). En el centro de la provincia se encuentran aproximadamente 50 emprendimientos que utilizan variedades de bajo requerimiento de frío como también en el norte provincial, en las cercanías de Reconquista y Rohmang, existen 50 ha dedicadas a este cultivo (Gariglio y Bouzo, 2015).

Según datos suministrados por el Ministerio de la Producción de la Provincia de Santa Fe, la producción de frutas y hortalizas se destaca por generar recursos por un valor de 3000 millones de dólares y exportaciones por un total de 1000 millones anuales. El número de productores dedicados a la actividad es de aproximadamente 1600 (4% del total), contándose con 70000 personas como mano de obra ocupada en la cadena frutihortícola provincial (Santafesina, 2008). Desde el punto de vista geopolítico y estratégico este tipo de producción constituye el motor de las llamadas economías regionales (Demarchi, 2010; Bouzo *et al.*, 2005). Esto reviste notable importancia en el proyecto de la fruticultura en la región Litoral.

Los mercados concentradores más importantes son el Mercado de Fisherton (Rosario), el Mercado de Productores de Rosario y el Mercado Concentrador de Santa Fe. Estos mercados abastecen a más de tres millones de habitantes a través de camiones refrigerados hacia los grandes supermercados y desde allí al consumidor. Dentro del análisis de la cadena frutihortícola realizado por la Cadena de Fruticultura Santafesina (2008) se indica que el uso de tecnología radica fundamentalmente en riego, agroquímicos y tractores; señalan como debilidades la presencia fuertemente del trabajo manual, el estado de los transportes (no siempre equipados con frío), la venta dentro del circuito informal, escasos controles de calidad, falta de información estadística de precios y volúmenes, mercados regionales y nacionales sobre ofertados en ciertos momentos con poca transparencia y no modernizados, altas pérdidas poscosecha, y un canal de comercialización largo e ineficiente.

#### Conclusión

La frutilla y el durazno, procedentes de la familia Rosaceae, constituyen productos frutihortícolas con propiedades nutracéuticas, que son consumidos principalmente en el mercado en fresco. A nivel mundial, las producciones de ambos se encuentran en constante crecimiento. La producción de frutilla a nivel nacional no posee incidencia mundial y el total aportado es mínimo, pero la posibilidad de producir en contra estación es una capacidad comparativa de ser aprovechada. Contrariamente, la producción de durazno posiciona al país entre los principales productores a nivel mundial; con características estacionales donde el período en el cual no existe producción, la maquinaria industrial es utilizada con otros productos como peras y tomates.

A nivel provincial, la producción frutillera es la segunda nacional y posee una economía regional asociada a la misma. Dentro de las características más importantes se señala su mano de obra intensiva, la diversidad de productos a desarrollar con posibilidad de consumo en fresco o industrial, como así también sus exportaciones. El interés regional hace que las prácticas agronómicas asociadas a la misma sean de interés prioritario para un desarrollo armónico de las producciones con vistas a alcanzar calidad internacional. De la misma manera, la provincia presenta condiciones para la utilización de variedades de bajo requerimiento de frío de durazno y

antecedentes en relación a su manejo. Dentro de las limitantes de la producción, además de condiciones ambientales extremas, se sitúa la falta de estadísticas (que se intentó subsanar en este capítulo) y las grandes pérdidas de poscosecha.

# Capítulo II: Aislamiento, caracterización morfológica e identificación molecular de hongos fitopatógenos

#### Introducción

Los hongos se encuentran en diversas condiciones ambientales, evidenciándose que son uno de los organismos con mayor adaptación que existen (Alsohaili y Bani-Hasan, 2018). Maheswari y Komalavalli (2013) afirman que aún se desconoce el número real y que sólo se han caracterizado entre el 5 y el 13% de las especies fúngicas en todo el mundo. Al mismo tiempo, el proceso de identificación en ese nivel taxonómico, es fundamental en las ciencias básicas como aplicadas.

En relación con esto, los nombres científicos de los hongos son necesarios para comunicar la información y predecir, entre otras cosas, la evolución de los mismos (Raja *et al.*, 2017; Sudhakar *et al.*, 2013; Blackwell 2011; Schmitt y Barker, 2009). Generalmente se realiza mediante características morfológicas; sin embargo, esto podría dar lugar a una designación incorrecta debido a que los patógenos microbianos pueden presentar alta variabilidad intraespecífica o comprender especies crípticas que pueden diferir fuertemente en el nicho y la agresividad (Al-Fadhal *et al.*, 2018; Tedeseroo *et al.*, 2019). Además, se encuentran algunos linajes de hongos altamente específicos cuyos caracteres morfológicos pueden ser polémicos o problemáticos, incluso para micólogos entrenados, o presentar hibridación de especies, nomenclatura dual, entre otras dificultades (Raja *et al.*, 2017). Esta situación se agrava por el cambio climático, ya que entre sus consecuencias se encuentra un aumento en la probabilidad de que se presenten en nuevos establecimientos, como también la expansión de las poblaciones existentes (Seidl *et al.*, 2017).

El enfoque molecular basado en el uso de las regiones espaciadoras transcritas internamente (ITS) de ADNr variable (ADN ribosómico) junto al enfoque morfológico, pueden ser utilizados para detectar la diversidad genética de hongos (Saad *et al.*, 2004). Autores como Anderson y Parkin (2007) y Lord *et al.* (2002) señalan que el uso de la secuenciación de la región ITS sirve como marcador confiable para identificar grupos de hongos y, al mismo tiempo, posee la potencialidad de la detección rápida y altamente sensible (Saad *et al.*, 2004). En consecuencia, dichos métodos resultan esenciales para la identificación y caracterización de hongos, y consecuentemente identificar microorganismos patógenos y plagas relacionados directamente con el cambio climático (Comtet *et al.*, 2015).

Las mayores pérdidas en poscosecha de frutilla se producen por el moho gris causado por *Botrytis cinerea* (Pers.); la antracnosis, ocasionada por *Colletotrichum* sp. Coda y la pudrición blanda causada por *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.) Vuill (Mass, 1998). En ese mismo sentido, las disminuciones productivas en durazno se deben a *Monilinia fructicola* (Winter) Honey (agente

causal de podredumbre morena) y *R. stolonifer* (agente causal de podredumbre húmeda). A continuación, se realiza una breve descripción de los hongos fitopatógenos nombrados anteriormente, los cuales son objeto de estudio en esta tesis.

#### Botrytis cinerea (Pers.)

La enfermedad causada por B. cinerea, el moho gris, es una de las más graves que afecta a una amplia gama de cultivos, todos ellos con gran importancia en todo el mundo (Daferera et al., 2003). La habilidad de este hongo para atacar a un amplio rango de cultivos, incluso en diversos modos de infección y bajo diversas condiciones prevalentes de almacenamiento, envío y comercialización, hacen de su control un desafío (Drodby y Lichter, 2007). Esta enfermedad se encuentra en el segundo lugar dentro de la lista de los diez patógenos mundiales basado en su importancia científica y económica (Dean et al., 2012). La infección puede ocurrir antes de la cosecha y puede mantenerse latente hasta el almacenamiento, donde el patógeno toma ventaja de la baja resistencia del hospedante para desarrollarse en condiciones de alta humedad y bajas temperaturas (Romanazzi y Feliziani, 2014). El género Botrytis contiene 22 especies reconocidas y un hibrido, todos patógenos de plantas. B. cinerea es la única especie del género con una amplia gama de huéspedes, mientras que todas las demás especies de Botrytis se consideran específicas para una única especie vegetal (Staats et al., 2005). La especie B. cinerea presenta un micelio ramificado, septado hialino a marrón y la forma frecuente de germinación es la producción de conidiosporos (Jarvis, 1977). El rango de temperatura de crecimiento oscila entre los -2 °C a 35 °C, con un óptimo entre los 22 °C a 35 °C (Lacey, 1989). Entre las diversas formas de llegada al hospedante se encuentran: trasplantes contaminados, estructuras invernales (esclerocios), micelio invernal presente en residuos que permanecen del cultivo previo y *Botrytis* activo presente en los cultivos adyacentes (Saito et al., 2016).

#### Colletotrichum sp. Coda

Colletotrichum es un género complejo de patógenos muy importantes que comprende de 29 a 700 especies (Awang et al., 2011; Than et al., 2008). Al menos un cultivo es afectado por una o más especies del mencionado género, ocasionando pérdidas de más de 50% de frutas y vegetales, ubicándolo en la octava posición de patógenos con mayor importancia económica (Dean et al., 2012). La producción óptima de conidios del patógeno, cuando la humedad libre está disponible, ocurre entre 25 °C y 30 °C (Chau y Álvarez, 1983). Los mismos se dispersan localmente en las plantas infectadas por las salpicaduras de lluvia antes de ser diseminados por el viento (Da Silva et al., 2020). El patógeno infecta inicialmente frutas verdes intactas, no heridas e inmaduras en el campo. Esto continúa con una rápida germinación de esporas y la formación de un apresorio que, en condiciones ambientales propicias, resultan en una infección inactiva (Sudheeran et al., 2020). El apresorio penetra enzimáticamente la cutícula y luego permanece como hifas subcuticulares hasta que se alcanza la etapa posclimérica del crecimiento del fruto. A

temperatura ambiente, la fruta se mantiene fresca durante unos días, luego su aspecto físico se deteriora y los síntomas de la enfermedad aparecen y se descomponen en 6 a 7 días (Siddiqui y Ali, 2014).

#### Rhizopus stolonifer (Ehrenb.) Vuill

Pertenece a la clase Zygomycete, orden Mucorales y la especie se caracteriza por ser un hongo filamentoso con rizoides complejos y bien desarrollados, esporangióforos y esporangios (Bautista-Baños et al., 2014; Hernández-Lauzardo et al., 2005). Es considerado uno de los hongos más destructivos en poscosecha y se encuentra naturalmente en el aire, suelo y escombros (Bautista-Baños et al., 2014). Su rápido crecimiento es una de las características más importantes, evidenciándose el daño entre los 3 a 6 días, incluso en condiciones favorables de alta humedad y temperatura, tarda solamente un día en manifestarse (Snowdon, 1990). Para el desarrollo de la enfermedad son necesarias temperaturas alrededor de 5 °C a 34 °C, siendo las óptimas entre 26 °C a 29 °C (Lacey 1989). Es un organismo saprófito y posee enzimas que le permite penetrar la cutícula de frutos no heridos. Rhizopus, a diferencia de Botrytis, ablanda la fruta produciendo la secreción de líquidos y una vez infectados, las bajas temperaturas sólo retrasan el desarrollo de la enfermedad (Bautista-Baños et al., 2014). Los momentos en los cuales se produce una mayor incidencia ocurre a medida que se avanza en la cosecha y en la poscosecha, formando parte de los hongos de almacenamiento (Oliveira et al., 2019). Entre la amplia gama de huéspedes se encuentran los géneros Allium, Brassica, Cucumis, Cucurbita, Fragaria, Solanum, entre otros (Baggio et al., 2016; Bautista-Baños et al., 2014). En la frutilla es un patógeno ocasional, causal de la pudrición blanda; mientras que en durazno se encuentra en el segundo puesto, causando grandes pérdidas económicas (France, 2013; Salem et al., 2016).

### Fusarium sp. Link

Dicho género se puede encontrar en todo el mundo; a pesar de ello, no todas las especies son cosmopolitas, ya que algunas se encuentran en nichos específicos (Thrane, 2014). Dentro de los 10 patógenos más importantes se encuentran en cuarto y quinto lugar dos especies de *Fusarium*, pero con rangos de hospedadores contrastantes: *F. graminearum* en cereales y *F. oxysporum* que posee un rango de hospedadores amplio, con severas pérdidas en cultivos tan diversos como tomate, algodón y banana (Dean *et al.*, 2012).

En la actualidad se han identificado más de mil especies, de las cuales 70 son bien conocidas (Stępień *et al.*, 2020). Morfológicamente, las especies de *Fusarium* se distinguen principalmente en función de las características de las colonias, la forma de los macro conidios, la presencia o ausencia de micro conidios y clamidosporas, y la formación de células conidiógenas (Omar *et al.*, 2018). Las especies son generalmente saprótrofas; y las necrótrofas, al ser potencialmente patógenas, no son patógenas obligadas (Stępień *et al.*, 2020). Se aíslan comúnmente del suelo y de diversas partes de plantas aéreas (Barros *et al.*, 2012). Los

requerimientos ambientales óptimos son las condiciones húmedas (superior al 86%) y crecen en un rango de temperaturas desde 0 °C hasta 37 °C (Thrane, 2014). Se sabe que, una vez producida la cosecha, fragmentos de tejidos infectados ingresan al suelo, donde los hongos se desarrollan alimentándose de materia orgánica en descomposición y pueden sobrevivir en condiciones ambientales desfavorables durante mucho tiempo y germinar cuando aparecen las condiciones adecuadas para infectar nuevamente las raíces de las plantas (Stepień *et al.*, 2020).

Las especies fitopatógenas son responsables de causar varias enfermedades en las plantas, como pudrición de la corona, tizón de la cabeza, costras, marchitez vascular, pudrición de raíces y cancros (Leslie y Summerell 2006). Según Ingle y Rai (2011), algunas especies de *Fusarium* pueden infectar a los humanos, especialmente a los pacientes inmunosuprimidos.

## Monilinia fructicola (Winter) Honey

El género pertenece a la familia Sclerotiniaceae de la división Ascomycota (Garcia-Benitez et al., 2020). Es un patógeno de gran importancia mundial ya que afecta a frutales de pepita y carozo ocasionando pérdidas de rendimiento en forma directa durante la floración, el tizón de la ramita, pre y poscosecha (pudrición parda) (Mari et al., 2019; Obi et al., 2018a). Se encuentra en frutos momificados en el árbol y en los cancros de ramas o en los frutos momificados en el suelo (Mari et al., 2012). No son frecuentes las pudriciones en las frutas verdes, pero sí en las frutas envejecidas, observándose en frutas agrupadas por las micro fisuras de las superficies de contacto de fruta a fruta debido a las condiciones micro ambientales (Byrde y Willetts, 1977). En su ciclo de vida los conidios producidos por el micelio invernal producen apotecios, que forman ascosporas, y son arrastrados por el viento o llevados en partes florales provocando el primer síntoma, el tizón de la flor. El rango de temperatura óptimo para la germinación de los conidios es 15-30 °C. Son capaces de germinar en temperaturas subóptimas (0 y 35 °C) pero, a temperaturas de 38 °C y menores de 0 °C, no se observó germinación (Garcia-Benitez et al., 2020; Thomidis y Michailides, 2010). Al igual que todas las enfermedades de poscosecha de frutos, las pérdidas indirectas se deben al costo de los fungicidas aplicados, el almacenamiento, traslado y comercialización; siendo las pudriciones en la fase de precosecha (59%) más severas (Larena et al., 2005). Las infecciones ocurren en el campo y permanecen latentes hasta la cosecha, por lo tanto, para controlar la pudrición marrón, los tratamientos deberán proporcionar un efecto curativo tanto para infecciones establecidas como para aquellas presentes en el fruto (Casals et al., 2012; Mari et al., 2019).

Debido a todo lo antes expuesto, el objetivo en este capítulo es el aislamiento, la caracterización morfológica y molecular para la correcta identificación de los hongos fitopatógenos de durazno y frutilla, además de explorar las principales medidas de protección utilizadas para su control.

#### Materiales y Métodos

#### Aislamiento, caracterización y depósito de cepas fúngicas

El aislamiento de *B. cinerea*, *C. acutatum*, *R. stolonifer*, *F. semitectum* y *M. fructicola* se realizó a partir de frutas (frutillas y duraznos) que presentaban síntomas característicos de cada enfermedad causados por los distintos hongos. Se eligieron especialmente aquellas piezas que presentaban áreas de micelio reproductivo característico. Luego se realizó un raspado superficial del micelio aéreo con un ansa estéril y se repicó en placas conteniendo APD (Agar-Papa-Dextrosa) y cloranfenicol (0,05%), este último para evitar el crecimiento de bacterias que se hallaran cohabitando la fruta. Las placas se incubaron a temperatura ambiente durante el tiempo suficiente hasta la producción de conidios.

Para la obtención de los cultivos monospóricos, a cada colonia en crecimiento se le agregó agua estéril con 0,01% de Tween 20 y se raspó con un ansa estéril de modo de obtener una suspensión de conidios. Se filtró a través de gasa con ayuda de una jeringa estéril y se contaron los conidios en cámara de Neubauer según lineamientos del Clinical and Laboratory Standards Institute CLSI (2017). A partir de esta solución de conidios, se obtuvo una solución madre de 106 conidios/mL y se realizaron diluciones sucesivas en tubos eppendorfs conteniendo 900 μL de agua destilada estéril y 100 uL de la solución inmediata anterior, de manera de obtener soluciones de conidios de concentraciones que fueron desde 106 hasta 102 Unidades Formadoras de Colonias/mL (UFC/mL). Se tomaron 100 µL de la última dilución y se plaqueó en medio APD con ayuda de espátula de Drigalsky (este procedimiento se realizó por triplicado). Se incubaron las placas durante 24h entre 15 y 25 °C (según necesidad para cada hongo), se observó al microscopio la germinación de los conidios, se cortó con sacabocado la zona del medio de cultivo donde había una sola espora germinando y se depositó en el centro de otra placa conteniendo APD y papeles de filtro estéril alrededor del centro de la siembra. Se dejó desarrollar de esta manera cada cultivo monospórico y el micelio fue embebiendo los pedacitos de papel de filtro que luego se colocaron en sobres y bolsitas de plástico estériles. Los mismos fueron identificados morfológicamente y depositados en el Centro de Referencia en Micología de la UNR, en la micoteca de la EE INTA San Pedro y en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ingeniería Química de la Universidad Nacional del Litoral (Santa Fe).

La conservación de las cepas se realizó en ampollas conteniendo una solución al 20 % (v/v) de glicerol estéril en agua destilada a -20 °C, en APD inclinado a 4 °C y en columna de APD con capa de vaselina a temperatura ambiente.

### Identificación molecular

#### Extracción de ADN

Se colocó parte de micelio en crecimiento en APD de cada hongo en un tubo eppendorf (aproximadamente un volumen de 200  $\mu$ L). Se agregó 400  $\mu$ l de buffer de lisis constituido por: 200 mM Tris-HCl pH 7,5, 250 mM NaCl, 0,5% SDS y 25 mM EDTA + 10% NaOH; y se lo llevó al menos por dos horas al freezer (-20°C). La preparación se incubó a 65 °C por 30 minutos y luego se agregaron 300  $\mu$ L de NaCl 1 M. Se centrifugó a 10000 rpm durante 10 minutos a 4 °C. Se recuperó la fase acuosa superior y se añadió un volumen de isopropanol y se colocó nuevamente en freezer (-20°), al menos durante 30 minutos. Luego se centrifugó a 10000 rpm por 8 minutos a 4 °C, descartándose el sobrenadante. El pellet se dejó secar por al menos 2 horas a temperatura ambiente. El ADN obtenido se resuspendió en 100  $\mu$ l de buffer TE (10 mM de Tris HCl pH 7,4 y 1 mM EDTA pH 8).

#### 1) *PCR*

Posteriormente a la extracción de ADN, de acuerdo al patógeno a identificar, se amplificó ITS utilizando bibliografía de referencia (White *et al.*, 1990). Las reacciones de PCR se realizaron en un termociclador Techne TC-312 (Techne, Cambridge, Reino Unido) en mezclas de reacción de 20 μl que contenían 1× PCR buffer, 2,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,4 μM de cada primer, 0,2 mM dNTPs, 1 U de Taq DNA polimerasa (PB-L, Productos Bio-Lógicos®, Argentina) y 100 ng de ADN genómico.

Para cada reacción se preparó un master mix con GoTaq® Green Master Mix (Mx), 2X (Promega); que contiene en solución: ADN Taq polimerasa, dNTPs, MgCl<sub>2</sub> y tampones de reacción a condiciones óptimas para la amplificación de templados de ADN. Las condiciones de reacción para la amplificación en un volumen final de 20 μL se detallan en la Tabla 7:

Tabla 7. Condiciones de amplificación.

Reactivos	Cantidad por reacción (µL)
10x PCR Buffer	2 μL
Cl2Mg 50 mM	1 μL
dNTPs 10 mM	0,4 μL
ITS1	0,4 μL
ITS4	0,4 μL
H <sub>2</sub> O mili Q	14,6 μL
Taq	0,2 μL
DNA hongo	1 uL

Además de las muestras de los patógenos fúngicos en estudio se incluyó un control negativo, para detectar posibles contaminaciones. Este control contenía todos los componentes de la PCR excepto el ADN fúngico que se reemplazó con agua desionizada. La amplificación se realizó en un termociclador bajo las condiciones detalladas en la Tabla 8.

Tabla 8. Condiciones del termociclador.

Fase	Temperatura	Tiempo	Ciclos
Desnaturalización inicial	94 °C	5 minutos	1
Desnaturalización	94 °C	30 segundos	34
Hibridación	57 °C	30 segundos	34
Extensión	72 °C	1 minuto	34
Extensión final	72 °C	10 minutos	1
Espera final	4 °C	Hasta el análisis de los productos de PCR	

La visualización de los productos amplificados se hizo a través de su migración en geles de agarosa al 1% teñido con GelRed (Biotium, Hayward, EEUU). La migración se llevó a cabo por electroforesis horizontal en tampón de corrida TAE 1X (Tris-Acetato 40 Mm, EDTA 1 mM) a 90 voltios. Se sembraron directamente en el gel de agarosa 2 μL de los productos de PCR, incluido el control negativo, además de 3 μL del marcador ADN ladder 100pb. Terminada la corrida, el gel se visualizó mediante luz ultravioleta (UV) en un transiluminador Biostep UST-30M-8E (Biostep, Jahnsdorf, Alemania) para su documentación fotográfica. Luego, los productos de PCR positivos se enviaron a purificar y secuenciar a Macrogen (Corea). Las secuencias obtenidas se compararon con aquellas disponibles en la base de datos de Genbank, utilizando la herramienta BLAST (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi).

#### Análisis bibliográfico de fungicidas aplicados a casos relacionados con esta tesis

Se realizó una búsqueda de funguicidas utilizados en frutilla y durazno para los patógenos de poscosecha en estudio. Las fuentes bibliográficas utilizadas fueron la Guía Fitosanitaria de CASAFE y el Manual fitosanitario disponible en forma online, desarrollado por la Cámara de la Industria Argentina de Fertilizantes y Agroquímicos (CIAFA). Luego se contrastó con la Resolución 934-2010 de SENASA y la base de datos realizada por el mismo organismo (Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria). En relación al límite máximo de residuos (LMR), se utilizó la base de datos de SENASA y del Comité de Codex sobre Residuos de Plaguicidas (CCPR) con base en las recomendaciones formuladas por la Reunión Conjunta FAO/OMS. Para los principios activos se detalla su código utilizado por la FRAC (Comité de Acción de Resistencia de Fungicidas), dosis de aplicación, LMR, límites máximos de residuos internacionales y los casos de resistencia reportados en el cultivo de interés.

#### Resultados

#### Caracterización morfológica, depósito y conservación de las cepas fúngicas

*B. cinerea* fue caracterizado y depositado en el Centro de Referencia de Micología (CEREMIC) de la Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas (FCByF)-UNR, con el código: CCC-100.

M. fructicola fue caracterizado y depositado en el departamento de Fitopatología de la Estación Experimental San Pedro del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Argentina, con el código: INTA-SP345.

R. stolonifer fue caracterizado y depositado en el Laboratorio de Microbiología de la FIQ-UNL (Santa Fe), Argentina, con el código: LMFIQ-317.

C. acutatum y F. semitectum fueron caracterizados por la Cátedra de Fitopatología de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional del Litoral y depositados en el Centro de Referencia en Micología (CEREMIC) de la FCByF-UNR con el código CEREMIC 13-2019 y CEREMIC 01- 2019 respectivamente.

#### Identificación molecular

Se realizó la correcta extracción de ADN y se realizaron diferentes PCR. En aquellos casos que la corrida arrojó resultados negativos, se diluyeron las muestras y se realizaron nuevamente las PCR con las soluciones seriadas hasta lograr el resultado esperado.

Las secuencias de nucleótidos ITS para cada hongo monospórico fueron comparadas con la base de datos de dominio público NCBI (Centro Nacional de Información Biotecnológica; www.ncbi.nih.gov) para identificarlos en forma molecular. La búsqueda de la secuencia obtenida del aislado de los diferentes aislados coincidieron con la identificación morfológica realizada previamente.

Se halló que la cepa MON6 de *M. fructicola* compartía una identidad de nucleótidos del 99,22% mientras que *B. cinerea* lo obtuvo con 100% con las secuencias ITS de las cepas 18-053. Además, la secuencia de nuclótidos perteneciente a *F. semitectum* CEREMIC 01-2019 compartió una identidad de nucleótidos del 100% cuando se lo comparó con el material tipo *F. hainanense*. El nombre legítimo de *F. semitectum* identificado morfológicamente es *F. incarnatum*, el cual forma parte del complejo de especies *F. incarnatum-equiseti*.

En relación al producto de PCR de *R. stolonifer*, en la base de datos del NCBI mostró que compartía una identidad de nucleótidos del 100% con las secuencias ITS del aislado SICAUCC 19-0001. Además, cabe señalar que la cobertura y el valor E de probabilidad disminuyeron drásticamente.

El producto de PCR de *C. acutatum*, en la base de datos del NCBI mostró que compartía una identidad de nucleótidos del 98,64% con las secuencias CAL del aislado MANE188 de *C. nymphaeae*.

Tabla 9. Identificación de los hongos fitopatógenos, parámetros de identificación molecular.

(\*) la extracción de ADN y la respectiva PCR fue realizada en colaboración con Ing. Agr. Laura Fernández

Secuencia de consulta / gen	Identificación morfológica- Nº depósito	Descripción	Valor E	Hit de identidad (Hi)	Secuencia con mayor Hi en Gen Bank
	M. fructicola INTA-SP345	M. fructicola isolate MON6 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	0	99,22%	<u>MN049476.1</u>
ITS5	B. cinerea CEREMIC 100-2018	B. cinerea 18-053 genes SSU rRNA, ITS1, 5.8S rRNA, ITS2, and LSU rRNA, partial and complete sequence	0	100%	LC519322.1
	F. semitectum CEREMIC 01- 2019	F. hainanense CGMCC 3.19478 ITS region; from TYPE material	0	100%	NR 164597.1
	R. stolonifer LMFIQ-317	R. stolonifer isolate SICAUCC 19-0001 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence		100%	_gi 1720108531 MN267051.1
CL1	C. acutatum CEREMIC 13-2019	C. nymphaeae isolate MANE188 calmodulin (CAL) gene, partial cds (*)	0	98,64%	MW396459.1

# Aplicación actual de fungicidas en los cultivos de interés B. cinerea:

En tabla 10 se muestran los fungicidas reportados para *B. cinerea*. Existen 19 principios activos autorizados correspondientes a 13 grupos diferentes (código FRAC). Los Límites Máximos de Residuos (LMR) establecidos por SENASA son iguales o menores que los establecidos por el CCPR (Comité del Codex sobre Residuos de Plaguicidas) a excepción de Carbendazim (grupo 1). Adicionalmente, los LMR de los fungicidas pertenecientes al grupo 1, 9, M03, 46, BM02 y M03, no se encuentran reportados por CCPR. El tiempo de carencia para los diferentes principios activos ronda el lapso de 1-15 días, siendo menores en los grupos 3, 9, 12, M03 y Azoxistrobina (grupo 11). Los mayores tiempos de carencia se encontraron en el grupo M05 para Benomil y Metil tiofanato.

El 63% de las dosis de los principios activos se encuentra entre 0,001-0,002 kg/L de formulación por cada litro aplicado, mientras que un 21% se encuentra por debajo del rango mencionado. En el caso de los principios activos como BM02 y 46, no se pudo realizar la comparación con los principios activos de síntesis química (dado que son fungicidas biológicos) y sólo se obtuvo la dosis por hectárea. Pirimetanil no aparece en la guía de CASAFE, pero si su registro en SENASA.

Los casos de resistencia para los distintos grupos de fungicidas se muestran en las últimas columnas de la misma tabla. El primer caso reportado fue en 1971 y se observa como todos los grupos de fungicidas, a excepción de los grupos 46 y BM02, poseen al menos un caso de resistencia y de los mismos, el 54% posee al menos un caso de resistencia en el cultivo de interés (frutilla).

**Tabla 10.** Principios activos utilizados contra *B. cinerea* en frutilla. Las mezclas de principios activos se encuentran descriptos con el símbolo \* y el número (n° +) del código FRAC con el que realiza la mezcla.

Código FRAC	Principio activo	LMR (mg /kg)	LMR CCPR internacional (mg /kg)	Tiempo de carencia (días)	Dosis en litro de formulación aplicado (kg/L de formulación)	Casos resistencia (años)	Año casos resistencia en frutilla
	Benomil	3	s/d	15	0,0005	ciclamen (1971), frijoles (1984); uvas /	
1	Carbendazim	2	1	3	0,00032	vino (1973, 1982, 1988)	
	Metil tiofanato	2	s/d	10	0,001	lisianthus (2008)	
2	Iprodione Procimidione	0,5 2	10 s/d	7 7	0,001 0,00075	pepino (1987), vid (1979,	1979

						1982), lisianthus (2008)	
3	Difeconazole *(1+)	0,3	2	1	0,0012	varios vegetales (1992, 1996)	
7	Boscalid *(2+)	1,2	3	7	0,0018	vid (2007), kiwi (2010), manzana (2010, 2011)	2007
9	Cyprodinil *(3+)	0,7	10	1	0,0012	vid (1996, 1999, 2002, 2003) vegetales (tomate, guisantes, frijoles) (2015)	2014
	Pirimetanil	1	s/d	8			
1.1	Azoxistrobina *(1+)	2	10	1	0,00062	citrus (2008), kiwi (2010),	2006 2007
11	Pyraclostrobin *(2+)	0,5	1,5	7	0,0018	uvas, frutas blandas (2015)	2008
12	Fludioxinil *(3+)	0,4	3	1	0,0012	vid (1993)	2014
17	Fenhexamid	3	10	3	0,0015	vid (2003, 2003, 2011), lisianthus (2008), frambuesa (2014)	2015
46	Aceite de <i>Tea Tree</i>	Exento	s/d		1,5 L/ha		
BM02	Bacillus Subtilis	Exento	s/d		1,5 L/ha		
M03	Tiram	3	s/d	1	2-4 kg/ha	1984	
	Captan	15	15	5	0,002	(1984), vid	
M04	Folpet	10	5	7	0,0016	(2001), pepino (1989)	
M05	Clorotalonil	5	5	14	2,1-3 L/ha	pepino (1989)	

# C. nymphae

En tabla 11 se muestran los fungicidas comerciales reportados para *C. nymphae*. Se hallaron 5 principios activos registrados, de los cuales el grupo 1 se encuentra asociado en mezclas con el grupo 3 y 11. Existen la misma cantidad de grupos que de principios activos. Los LMR establecidos por SENASA, tres de ellos no presentan datos en el CCPR y los valores de los restantes son menores a lo establecido en la normativa internacional. El tiempo de carencia para

los diferentes principios es de un día salvo para el grupo 1, que se utiliza en poscosecha. Las dosis utilizadas son menores a 0,0012 (kg/L de formulación por cada L aplicado) en el 60% de los casos; el resto de los mismos, M03 y 46, sólo se presentan sus dosis por hectárea. En relación a los casos de resistencia, para las mezclas previas mencionadas existen casos, sin embargo, sólo para el grupo 11 se encontraron resistencias en frutilla. Dos de los grupos (M03 y 46) no presentan hasta el momento resistencias comprobadas.

**Tabla 11.** Principios activos utilizados contra *C. nymphae* en frutilla. Las mezclas de principios activos se encuentran descriptos con el símbolo \* y el número (n° +) del código FRAC con el que realiza la mezcla

Código FRAC	Principio activo	LMR (mg /kg)	LMR CCPR internacional (mg /kg)	Tiempo de carencia (días)	Dosis en litro de formulación aplicado (kg/L de formulación)	Casos resistencia (años)	Año de casos resistencia en frutilla
1	Benomil	3	s/d	15	0,0005	Banana (1973), café (1976); frijol (1976); Pomaceas (1982), Césped (2008)	
3	Difeconazole *(1+)	0,3	2	1	0,0012	Mango (2008)	
11	Azoxistrobina *(1+)	2	10	1	0,00062	Agrotis (2003)	2004; 2008
M03	Tiram	3	s/d	1	2-4 kg/ha		
46	Aceite de <i>Tea Tree</i>	Exento	s/d		1,0 a 1,5 L/ha		

Los productos utilizados en relación a *R. stolonifer* y *F. hainanense* son PCNB (pentacloronitrobenceno) y Metan amonio en dosis de 100kg/ha. Benomil, ya descripto anteriormente, es el único registrado en poscosecha. No se encontraron resistencias reportadas para el primer patógeno mencionado, sin embargo, para *F. hainanense* se hallaron resistencias relacionadas al género en tres grupos de fungicidas: Metil Benzimidazol Carbamatos (grupo 1), Fenilpirroles (grupo 12) e Inhibidores de la metilación (grupo 3). La primera resistencia reportada corresponde al primer grupo en el año 1973, mientras que el grupo 3 fue en 1991 y el grupo 12 en el año 2008. Ninguna de las resistencias halladas pertenece a los cultivos abordados en esta tesis.

## M. fructicola

Se hallaron 18 principios activos correspondientes a 10 grupos diferentes. En tabla 12 se muestra los fungicidas reportados. Los LMR establecidos por SENASA son iguales o menores a los establecidos por el CCPR, a excepción de Difeconazole (grupo 3). Los LMR pertenecientes al grupo 1, grupo 9, M03, 46 y BM02 no se encuentran reportados por el CCPR. El tiempo de carencia para los diferentes principios ronda el lapso de 1-15 días, siendo menores en grupo 1 y en las mezclas del grupo 11 con 7 o 3. Los mayores tiempos de carencia se encontraron para Miclobutanil (35 días) y Ziram (28 días). El 27% de las dosis de los principios activos fueron menores a 0,001 (kg/L de formulación por cada L aplicado), un 66% se encontró entre 0,001-0,003 kg/L, y el único que alcanzó la dosis de 0,25 kg/L fue Polisulfuro de Calcio. Los casos de resistencia para los distintos grupos de fungicidas se muestran en las últimas columnas de la misma tabla. En el 40% de los grupos de principios activos se presentan casos de resistencia. Sin embargo, la mitad de ellos lo presentó en durazno.

En ambos cultivos se utiliza benomil como principio activo de poscosecha. Adicionalmente, en durazno se utiliza iprodione y fludioxonil.

Tabla 12. Principios activos utilizados contra M. fructicola en durazno.

Código FRAC	Principio activo	LMR (mg /kg)	LMR CCPR internacional (mg /kg)	Tiempo de carencia (días)	Dosis en litro de formulación aplicado (kg/L de formulación)	Casos resistencia	Casos resistencia en durazno
1	Carbendazim	1	2	7	0,0006	pomáceos	
1	Tiofanato metil	1	s/d	10	0,0014	(1976)	
2	Iprodione	10	10		0,001		1985; 1994
	Miclobutanil	0,2	3	30	0,00025		
3	Triforine	0,5	s/d	14	0,0012		1989; 1992
	Difeconazole	0,5	0,2	3	0,006		
11	Azoxistrobina	0,5	2	3	0,0006	pomáceos	
11	Trifloxistrobim	0,5	3	15	0,00062	(2010)	
3+11	Tebuconazole + Trifloxistrobim	0,5	4	7	0,003		
11+7	Piraclostrobim +Boscalid	0,2	3	7	0,0005		
12	Fludioxinil	5	5		0,0015		
	Ferbam	3	s/d		0,002		
M03	Ziram	3	s/d	35	0,002		
	Zineb	3	s/d	10	0,0021		
M04	Captan	15	25	14	0,0014		
M04	Folpet	10	s/d	7	0,00125		
M05	Clorotalonil	5	3	12	0,002		
Nc	Polisulfuro de Calcio		s/d	28	0,25		

#### Discusión

Innumerables pérdidas económicas pueden prevenirse mediante el conocimiento de la población de patógenos fúngicos con el fin de limitar infecciones mediante un manejo adecuado de los ecosistemas y cultivos (Muggia *et al.*, 2020). A nivel molecular, ITS se considera como un primer diagnóstico en todos los hongos, por lo que es el marcador de código de barras fúngico universal para identificar inicialmente linajes filogenéticos (Inderbitzin *et al.* 2020; Lücking *et al.*, 2020).

BLAST es la técnica de mapeo de lectura más comúnmente empleada, con posibilidad de limitar las coincidencias a "Secuencias del material tipo" (Lücking *et al.*, 2020); y en los resultados expuestos previamente, se encontró que el 80% de los hongos en estudio obtuvieron coincidencias de más del 97% con materiales tipos. Vú *et al.* (2016), citado por Inderbitzin *et al.* (2020) y Lücking *et al.*, (2020), en diversos estudios afirma que al menos un 20% de las especies no pudo diferenciarse por ITS o 28S rDNA, y esto podría deberse a la insuficiente resolución entre especies dentro de las que se encontrarían los géneros *Colletotrichum y Fusarium*, entre otros. No obstante, y en coincidencia con lo enunciado por Damm *et al.* (2012) y O'Donnell *et al.* (2015), en esta tesis se obtuvo el mismo porcentaje de identificación de los patógenos en estudio, siendo *R. stolonifer* el patógeno que menos coincidencia arrojó con la base de datos.

Algunos autores señalan que se debe utilizar ITS como marcador predeterminado con uno o varios secundarios, entre los que se destacan la β-tubulina II (TUB2), la ARN polimerasa II dirigida por ADN más grande (RPB1) y factor de elongación de la traducción 1α (TEF1) (Lücking et al., 2020; Santos et al. 2017). Se han realizado publicaciones de varios géneros donde se establecen los diferentes marcadores secundarios para la identificación interespecífica (Marin-Felix et al., 2017; Marin-Felix et al., 2019). En Botrytis, genes informativos que codifican proteínas como la gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (G3PDH), la proteína de choque térmico 60 (HSP60), la subunidad II de la ARN polimerasa dependiente de ADN (RPB2) y las proteínas 1 y 2 inductoras de necrosis y etileno (NEP1 y NEP2), se han identificado y utilizado en ensayos moleculares para mejorar la filogenia del género; y así, varias especies nuevas han sido reconocidas y establecidas con nuevos criterios de descripción que se encuentran resumidas por Garfinkel (2021). El autor también analiza qué criterios deben examinarse dada la diversidad para la descripción de nuevas especies de Botrytis (Richards et al., 2021). En el artículo de Marin-Felix et al. (2017) se describe para el género Monilinia y sus especies la utilización del gen TEF1; sin embargo, en el mismo documento se advierte una falta de delimitación de especies basada en la filogenia molecular y no se sabe que exista material tipo para la mayoría de los taxones. En el caso de Colletotrichum, para la diferenciación de especies dentro del género, se utilizan conjuntos de loci para diferenciar especies entre los diferentes complejos combinados con un enfoque polifásico, incluido el análisis de la geografía, datos ecológicos y morfológicos (Marin-Felix et al., 2017). Esto coincide para lo hallado en esta especie donde la identificación molecular garantizó que la misma se encontró en el complejo correcto luego de la identificación morfológica y determinando además la especie. En la actualidad, Fusarium sp. se han identificado mediante la secuenciación de TEF1 para clados, y en algunos casos identificando especies: en Irán se identificó al 90% como pertenecientes a F. verticillioides y F. proliferatum (Fallahi et al., 2019; Kotera et al., 2022; Herkert et al., 2019). Los resultados obtenidos en esta tesis indican que las especies estudiadas se han podido identificar con porcentajes mayores al 95%, sin utilizar marcadores secundarios. La discrepancia existente entre la descripción morfológica y la identificación molecular, señalan diversos autores, se debe solucionar a través de la colaboración interdisciplinaria y, además, los datos de secuencias de ADN de los no tipos, sólo deben usarse para la identificación si están respaldados por un taxónomo experto (Inderbitzin et al. 2020; Lücking et al., 2020).

Respecto al estudio de casos de aplicación de fungicidas, el momento de aplicación en cultivos de frutillas para tratar el moho gris y la antracnosis, es alrededor de la floración; y la repetición de la práctica depende de las condiciones predisponentes hasta la cosecha (Feliziani y Romanazzi, 2013). La mayoría de las prácticas de control recomendadas para *Fusarium* y *Rhizopus* dependen de modificaciones a las prácticas agronómicas (Summeral y Leslie, 2011). Una de las prácticas ha sido el uso de poderosos fumigantes del suelo, que hasta el año 2005, el Bromuro de Metilo (MeBr) era el fumigante de suelo más utilizado (Pincot *et al.*, 2018). En la actualidad, este fumigante está prohibido por un tratado mundial promulgado para proteger la atmósfera. Otra de las prácticas es la búsqueda de resistencia: en 2019 se documentó que el patógeno *Fusarium* puede moverse a través de estolones desde plantas hijas de primera a segunda generación, y en cuyo caso, las plantas hijas de ambas generaciones siempre resultaron asintomáticas en cultivares de `Albion`, `Monterey` y `San Andreas` (Pastrana *et al.*, 2019). A pesar de lo hallado, los conocimientos sobre la genética de la resistencia al marchitamiento por *Fusarium* en frutilla continúan siendo limitados (Pincot *et al.*, 2018).

En durazno, el ciclo del agente causal de la podredumbre morena obliga a realizar prácticas culturales para reducir la cantidad de inóculo; pero no son 100% efectivas, por lo que las medidas son acompañadas con el uso de fungicidas. No existen variedades comerciales resistentes salvo la variedad `Bolinha`, aunque muestra mala calidad de la fruta, tamaño pequeño y alta susceptibilidad a la formación de moretones y caída de la fruta antes de la cosecha.

La interferencia de los LMR de plaguicidas en relación al comercio agrícola internacional está adquiriendo relevancia en nuevas políticas alimentarias y comerciales. Estudios realizados indican que LMR más estrictos en UE en relación a EEUU redujeron alrededor de un 10% las importaciones (Hejazi *et al.*, 2022). Los resultados de esta tesis indican que los LMR establecidos internacionalmente son iguales o mayores a los establecidos por SENASA, por lo que se

cumplirían los tiempos de carencia estipulados. Sin embargo, existen fitosanitarios como benomil, procimidione, pirimetanil y thiram para los cuales no se encontraron LMR. Una de las razones de las diferencias de los LMR se debería a diferencias en las prácticas regionales, en cuanto al establecimiento de riesgos o estrategias de priorización en los regímenes europeos y latinoamericanos (Vryzas et al., 2020). En 2021, el Grupo de Trabajo Ambiental (EWG) publicó una lista con doce frutas y verduras que presentaban las cantidades más altas de residuos de pesticidas (llamadas "docenas sucias"). La misma estuvo compuesta, en orden de importancia, por: frutilla, espinaca, col rizada, nectarina, manzana, uva, cereza, durazno, pera, pimiento/morrón y tomate. Según los datos obtenidos por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) para su Programa de datos de pesticidas en los últimos años, la frutilla puede contener hasta 45 tipos diferentes de residuos (Nguyen et al., 2020). En durazno, estudios realizados en China mostraron que se detectó la presencia de carbendazim, difenoconazol, flusilazol, tebuconazol y tiofanato-metilo, siendo carbendazim el de mayor frecuencia (tasa de detección del 60,6 %) y residuos de ocho pesticidas que en el 3,2% de las muestras excedieron sus LMR (Li et al., 2018). En Argentina, sólo tres grandes mercados mayoristas de frutas y verduras cuentan con la infraestructura para determinar presencia o ausencia de residuos de plaguicidas, entre los que se encuentra el MCBA donde la capacidad de control se ve muy disminuida y los productores, a sabiendas de que no cumplen con la legislación, dirigen su mercadería a otros mercados mostrando permeabilidad en el sector de control (Mac Loughlin et al., 2018). En este mismo estudio, se encontró que, de 135 muestras, 88 tenían al menos un residuo de agroquímico y 53 con dos o más; y además de las muestras positivas para agroquímico, 49 se encontraron por encima de los LMR en tomates, zanahorias, lechuga, pimientos y naranjas (Mac Loughlin et al., 2018).

La forma efectiva de reducir las infecciones iniciadas en el campo, incluidas las infecciones inactivas, es la aplicación de fungicidas protectores de amplio espectro con énfasis en frutas en desarrollo, donde se rocían para prevenir germinación de esporas y posterior formación de apresorios e hifas infecciosas (Singh y Sharma, 2018). Esto no es garantía de erradicación del agente etiológico dado que, 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 del patógeno, ellos pueden sobrevivir (Mesa *et al.*, 2019).

En coincidencia con Richard *et al.*, (2021), los fungicidas utilizados contra *Botrytis* en dosis bajas tienen actividad en un solo sitio y son dirigidos a funciones celulares esenciales. Los principales grupos de fungicidas efectivos contra este patógeno, *Monilinia* y *Colletotrichum* utilizados en Argentina que coinciden en revisiones actuales, incluyen: carbamatos de metilbencimidazol (MBC código 1), dicarboximidas (DCF código 2), anilinopirimidinas (AP

código 9), fenilpirroles (PP código 12), inhibidores de cetoreductasa (DMI código 3), inhibidores externos de quinona (QoI código 11), inhibidores de succinato deshidrogenasa (SDHI código 7) y sustancias multisitio (código M) (Fillinger y Walker, 2016).

El grupo MBC inhibe la polimerización de la β-tubulina (Vela-Corcía *et al.*, 2018). En la actualidad se sabe que los sitios de mutacion E198A/G/K, F200Y son los que otorgan resistencia al principio activo (Young, 2015). Benomil, cuya utilización es en poscosecha para ambos cultivos, demostró su acción como agente tóxico en concentraciones muy bajas (Kara *et al.*, 2020). Además, se reporta al principio activo carbendazim como causal de embriotoxicidad, apoptosis, teratogenicidad, efectos mutagénicos y aneugénicos, entre otros (Singh *et al.*, 2016). En consecuencia, se ha prohibido su utilización en muchos países por lo cual sus residuos se monitorean en diversos ambientes (Kosubová *et al.*, 2020). Sin importar el cultivo, se lo ha reemplazado por propesticidas como benzimidazoles y metil tiofanato. Este último es sólo utilizado en durazno para combatir el patógeno *M. fructicola* y se encuentran en evaluación las medidas por parte de los administradores de riesgos para reducir la exposición del consumidor (EFSA *et al.*, 2021).

El grupo descrito anteriormente junto a las dicarboximidas (DCF código 2), comenzaron a usarse como una alternativa para controlar enfermedades causadas por los géneros *Botrytis*, *Sclerotinia y Monilinia* (Brent y Hollomon, 2007). El mecanismo de acción aún no se conoce por completo, pero actuaría en la transducción de señales osmóticas, que dependen de dos componentes de las histidinas quinasas (Dutra *et al.*, 2019). La Agencia de Protección Ambiental de EEUU informó que el 3,5-DCA, unos de los principales metabolitos de la procimidona e iprodiona (utilizado en poscosecha en Argentina), es un producto cancerígeno con una evaluación de riesgo más tóxico y duradero que los compuestos originales, causando daño al medio ambiente y a los organismos (Lai *et al.*, 2021). Todos los fungicidas descriptos anteriormente actúan a nivel de la transducción de señales al igual que los fenilpirroles (código 12). En este subgrupo, el fludioxinil se utiliza para ambos cultivos contra *B. cinerea y M. fructicola*, a diferencia de las dicarboximidas, donde procimidiona se utiliza sólo en *Botrytis*. En ensayos recientes, el principio activo fludioxinil demostró resistencia cruzada con DCF (Zhou *et al.*, 2020), además de resistencias en campos de frutilla con mecanismos que aún se desconocen (Hu *et al.*, 2019).

Ciprodinil y pirimetanil, que actúan en la síntesis de proteínas y aminoacidos (anilinopirimidinas AP código 9), se utilizan para controlar el moho gris causado por *B. cinerea* en frutas, verduras y flores ornamentales (Brauer *et al.*, 2019; Castro *et al.*, 2020). En estudios recientes, Hou *et al.* (2018) comprobaron que ciprodinil no solo inhibía la biosíntesis de metionina, sino que también suprimía la biosíntesis de cistina y cisteína. Aislados obtenidos de durazno/tomate fueron analizados y se encontró que el 43,3% fue resistente a azoxistrobina, el 8,5% a ciprodinil, 4,3% a boscalid, 2,4% a carbendazim y 0,6% a iprodione, mostrando que no

podían controlarse de manera eficiente mediante el uso de los fungicidas correspondientes (Yin et al., 2018).

Entre los principios activos que actúan en la respiración, se encuentra boscalid (código 7), que es utilizado sólo en frutilla. Se encontraron casos de resistencia, para el cual se han postulado que actuarían en la mutación del gen Sdh B; sin embargo, en la actualidad los estudios demostrarían que aún es incierto el mecanismo por el cual ocurre (Liu et al., 2021; Pei-gian et al., 2019). En investigaciones realizadas durante 10 años en Alemania, Weber et al., (2020) hallaron un aumento muy alto (>65%) de los niveles de resistencias en trifloxistrobina, altos (>30%) a iprodiona, fenhexamid, fludioxonil y cyprodinil, y moderados (10-35%) a tiofanato-metilo. Además de porcentajes crecientes de resistencia del 20% a >50% y de casi cero al 10% para boscalid y fluopiram, respectivamente. Trifloxistrobina, azoxystrobina y piraclostrobin son activos que se encuentran entre los QoI (código 11), con mayor efectividad contra Colletotrichum spp. (Nielsen et al., 2021) aunque también se utilizan en frutilla y durazno para el control de B. cinerea y M. fructicola. Se descubrió que la mutación con mayor frecuencia G143A, da como resultado una resistencia cualitativa a los fungicidas QoI, mientras que otras mutaciones, como F129L, generalmente dan como resultado una resistencia moderada o parcial (Dowling et al., 2020). En coincidencia con Newbold (2021) y Dowling et al., (2020), los principios activos utilizados son curativos y erradicadores, con un tiempo de carencia mínimo, por lo que según estos autores originó una resistencia generalizada en el campo que provocó la falta de control y brotes de enfermedades en los cultivos de frutilla, manzana y durazno. Esto queda expuesto en los casos de resistencia reportados por FRAC para B. cinerea y Colletotrichum sp.

Los funguicidas que actúan en la biosíntesis del esterol (código 3 y 17) como triforine (durazno), difeconazole (frutilla y durazno), miclobutanil (durazno) y fenhexamid (frutilla), mostraron resistencias en los cultivos de interés. Se ha encontrado que este grupo de modo de acción es el que posee la mayor diversidad de mecanismos de resistencia (Hu y Chen, 2021).

Los principios activos multisitio que se utilizan en ambos cultivos (código M03, M04 y M05) atacan al hongo, como su nombre lo indica, en varios sitios y a través de varias vías bioquímicas, por lo que los hace menos propensos a seleccionar resistencia en la población fúngica (Schnabel y Brannen, 2022). Según estos autores, se utilizan en proporciones más altas y generalmente tienen más eficacia y un perfil de toxicidad menos favorable en comparación con los fungicidas de sitio único, como lo hallado en esta tesis. Sin embargo, se han hallado resistencia en diversos cultivos. Esto podría deberse a que el desarrollo de la resistencia se produce a través de rondas independientes de selección, que se sustentan en la acumulación de mutaciones en los genes diana, y adicionalmente existen pruebas de campo que muestran una predisposición a la selección por resistencia en aislamientos que ya eran resistentes a un fungicida no relacionado (Hu y Chen, 2021).

Los intereses del público por los residuos de los fungicidas han contribuido al desarrollo de diversas alternativas, cuya tendencia es la de reemplazarlos total o parcialmente. Autores como Feliziani *et al.* (2013), Palou (2018), El Khetabi *et al.*, (2022), señalan que los compuestos naturales, como los extractos de plantas y los aceites esenciales, controlan las enfermedades poscosecha, tanto *in vitro* como *in vivo*, prolongando la calidad general y la vida de almacenamiento de los productos frescos. Dentro de las opciones comerciales actuales existen pocos disponibles, entre los que se destacan sólo para uso contra *B. cinérea*, el Aceite de *Tea Tree* y el microorganismo *B. subtilis*, pero no se conocen sus LMR como tampoco su utilización en poscosecha.

#### Conclusión

Existe una mayor probabilidad de exposición humana directa de los químicos en las frutas que a los químicos que se aplican únicamente para proteger el follaje. En consecuencia, por los efectos secundarios de los fungicidas sintéticos se han impuesto fuertes acciones reguladoras sobre su uso. En forma adicional los consumidores prefieren comprar fruta con pocos residuos de pesticidas o ninguno en absoluto, lo que induce a los países importadores a reforzar las estrictas regulaciones de importación con respecto a los LMR en la porción comestible de la fruta. La utilización de fungicidas con único sitio de acción, produjo un aumento en las resistencias y esto ocasionó la disminución de los principios activos disponibles para el control de los hongos de poscosecha en frutilla y durazno. En algunos casos, sólo se realizan medidas preventivas como para el control de R. stolonifer y F. hainanense. Para Colletotrichum sp., existen pocos principios activos para su control, debido a que su ciclo se acelera en primavera y esto ocasiona que los frutos se cosechen sin tener los LMR por debajo de lo permitido. Existe mayor disponibilidad para la acción contra B. cinerea y M. fructicola; sin embargo, los casos de resistencia, la falta de medidas preventivas y culturales junto al cambio climático, hacen de su control un desafío. El uso de metabolitos secundarios de plantas se plantea como una alternativa válida para controlar los hongos de poscosecha.

# Capitulo III: Extracción de metabolitos secundarios de las especies vegetales seleccionadas para ser evaluados como fungicidas

#### Introducción

Las plantas se protegen a sí mismas de enfermedades fúngicas mediante mecanismos que incluyen barreras físicas y químicas; de esta manera se constituyen la variedad de compuestos que se han utilizado como fuente de innumerables fármacos desde el origen de la humanidad (Dekebo, 2019; Saajena *et al.*, 2019; Santra & Banerjee, 2020). Autores señalan que sólo se utilizan entre el 1 y el 10% de las plantas de las 500000 especies estimadas que existen; mientras que otros afirman que sólo 2000 especies han probado su actividad pesticida, por lo que aún no se han descubierto completamente todos los compuestos biológicos útiles (El Khetabi *et al.*, 2022; Saajena *et al.*, 2019).

El conocimiento de la etnobotánica junto a la etnofarmacología de extractos y compuestos naturales han demostrado ser herramientas efectivas en la exploración de sustancias con actividad antifúngica (Santra & Banerjee, 2020; Matrose et al., 2021). El medio más común de defensa en las plantas es a través de algunas sustancias preformadas, los metabolitos secundarios, que, a pesar de no intervenir en los procesos metabólicos primarios, aseguran la supervivencia de una especie en el ecosistema (Borges et al., 2018; Zaynab et al., 2018; Matrose et al., 2021; Saajena et al., 2019; El Khetabi et al., 2022). Estos metabolitos son diversos y funcionales, por ello su aplicación en agricultura, medicina y farmacia, así como también en las producciones de pigmentos y surfactantes (Matrose et al., 2021). La búsqueda de los mismos se realiza en los taxones nativos silvestres o en las especies invasoras que tienen un mayor potencial de producción de antimicrobianos (Santra & Banerjee, 2020; El Khetabi et al., 2022). Dentro de las familias botánicas de interés se encuentran: Anacardiaceae, Apiaceae, Asteraceae, Apocynaceae, Brassicaceae. Burseraceae, Cupressaceae, Dracenaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae. Flacourtiaceae, Lamiaceae, Lauraceae, Liliaceae, Myrtaceae, Palmaceae, Pinaceae, Piperaceae, Poaceae, Rutaceae, Sapotaceae Solanaceae y Zingiberaceae (Gwinn, 2018; Lengai et al., 2020; Mulat et al., 2020; Santra & Banerjee, 2020). Según Aderogba et al., (2014) las malezas poseen metabolitos biológicamente activos con el potencial de inhibición de patógenos en plantas, por ello las malas hierbas se deberían utilizar juiciosamente en lugar de emprender su costosa erradicación.

La parte de la planta utilizada para fabricar pesticidas botánicos depende de los compuestos bioactivos objetivo y de su concentración en: frutos, flores, hojas, semillas, tallos, yemas, raíces y cortezas. Los compuestos bioactivos se pueden extraer por diferentes técnicas; en las clásicas se utilizan la extracción Soxhlet, la maceración y la hidrodestilación (Loi *et al.*, 2020). En la maceración, las partes de la planta se secan y se muelen en polvo fino para luego extraer

con solventes orgánicos dichos compuestos (El Khetabi *et al.*, 2022; Matrose *et al.*, 2021; Lengai *et al.*, 2020). En la metodología con Soxhlet, la muestra se muele y se coloca en una bolsa porosa donde los solventes de extracción, colocados en el matraz inferior se calientan, luego se vaporizan y condensan de modo que caen gota a gota sobre el material vegetal y se produce la extracción (Dekebo, 2019). El objetivo de los métodos de maceración, en la que se realiza extracción por solventes, es separar los compuestos vegetales solubilizados por el solvente utilizado dejando atrás el orujo celular insoluble (Matrose *et al.*, 2021; Dekebo, 2019). Luego, los extractos se concentran, formulan y evalúan para determinar su eficacia en condiciones de laboratorio, controladas o de campo (Lengai *et al.*, 2020). Otro de los métodos, la hidrodestilación, se lleva a cabo hirviendo los materiales vegetales con agua, creando vapor donde la composición de los destilados resultando en una mezcla de aceites esenciales y agua (Dekebo, 2019).

Los extractos de plantas y aceites esenciales constituyen una de las fuentes más deseables para la técnica de protección vegetal sostenible, donde la mayoría de ellos son utilizados por los agricultores de los países en desarrollo (Saajena *et al.*, 2019; Lengai *et al.*, 2020; El Khetabi *et al.*, 2022). Por esta razón son una fuente de compuestos antifúngicos, lo que los convierte en fungicidas potenciales para el control de enfermedades de poscosecha (Santra & Banerjee, 2020 Bhutia, 2015; Klein *et al.*, 2013; Yazdani *et al.*, 2014).

Los productos naturales obtenidos muestran tres atributos clave para la protección de cultivos: novedad química y de mecanismo de acción; y, como la interacción entre los plaguicidas botánicos y las plagas es naturalmente bioquímica, es baja la probabilidad de que las plagas desarrollen resistencia (Lengai *et al.*, 2020; Sparks & Bryant, 2022). En los últimos años, la aplicación de extractos vegetales y aceites esenciales (AE) ha recibido un creciente interés como alternativa natural al uso de químicos sintéticos comerciales en el control de las principales enfermedades de poscosecha de frutas y hortalizas (El Khetabi *et al.*, 2022).

El objetivo de este capítulo es la descripción de la selección, recolección e identificación de las especies vegetales a estudiar. Como también describir las técnicas extractivas para la obtención de los productos naturales de distinta naturaleza química que serán evaluados por su capacidad fungicida.

#### Materiales y Métodos

La selección de plantas, consideradas potencialmente antifúngicas, se basó en la búsqueda etnofarmacológica disponible. El criterio por lo cual una especie se considera candidata, es que se haya utilizado y reportado como antimicótico, cicatrizante, vulnerario, antiséptico y efectivo en infecciones de piel, enfermedades venéreas, entre otras. Una característica adicional de la búsqueda, es utilizar la cercanía taxonómica de un género de plantas informado que se utilizó para usos anteriormente nombrados. Por ello, se elaboró una ficha descriptiva de cada especie (Anexo

I Especies). En cada ficha figura: nombres comunes, propiedades medicinales, metabolitos secundarios de interés y ensayos de la actividad inhibitoria contra bacterias y hongos.

Además, el nombre de una especie de planta es clave para comunicar y hallar información sobre sus usos, estado de conservación, relaciones y ubicación dentro de los ecosistemas. Para ello, se procedió a la consulta del nombre correcto a través de las bases de datos reunidas en la cooperación de Jardines Botánicos Reales, Kew y el Jardín Botánico de Missouri en el sitio web theplantlist.org en su versión 1.1. En el caso de la familia de las compuestas, la base de datos consultadas se ha integrado en la lista de verificación global de Compositae utilizando un software diseñado específicamente para la integración de listas de verificación (C-INT, Landcare Research, Nueva Zelanda). Para obtener certeza de la búsqueda, una vez consultado el nombre científico, se consultó además en el sitio web http://wcsp.science.kew.org. Este sitio consta de un programa de colaboración internacional que proporciona los últimos revisados por pares y opiniones publicadas sobre los nombres científicos aceptados y sinónimos de familias de plantas seleccionadas.

Las especies vegetales seleccionadas se muestran en la Tabla 13. Fueron colectadas entre los meses de abril de 2017 y marzo de 2018 bajo el asesoramiento de la Dra. Andrea G. Reutemann, investigadora asistente de CONICET y Co-directora de esta tesis. En la Tabla 13 figuran los datos de las especies vegetales objeto de estudio, con el ejemplar de referencia depositado en el Herbario de la FCA-UNL "Arturo Ragonese" (Herbario SF).

Tabla 13. Datos identificatorios de las especies seleccionadas.

Nombre científico	Nombre vulgar	Familia	N° Voucher specimen	Fecha de colecta	Lugar de colecta o de Adquisición
Dysphania ambrosioides (L.) Mosyakin & Clemants	Paico	Amaranthaceae	MD40 UNL	11/1/2018	Reserva Escuela Granja, Esperanza, Santa Fe
Ammi majus L.	Falsa viznaga, Apio cimarrón	Apiaceae	MD37 UNL	18/10/2017	Alberdi y Colón, Zona Urbana, Esperanza, Santa Fe
Austroeupatorium inulifolium (Kunth) R.M. King & H. Rob.	Chilca de olor	Asteraceae	MD47 UNL	9/2/2017	Campus FAVE, Ruta 70, Esperanza, Santa Fe
Baccharis frenguelli Cabrera	Chilca	Asteraceae	MD49 UNL	6/2/2017	Ruta 70 y América, Esperanza, Santa Fe
Baccharis salicifolia (Ruiz y Pav.) Pers.	Chilca	Asteraceae	MD48 UNL	6/2/2017	Ruta 70 y América, Esperanza, Santa Fe
Conyza bonariensis var. bonariensis (L.) Cronquist	Conyza	Asteraceae	MD51 UNL	5/3/2018	Campus FAVE, Esperanza, Santa Fe

Conyza bonariensis var. angustifolia (Cabrera) Cabrera	Conyza	Asteraceae	MD38 UNL	18/10/2017	Ruta 70 y Janssen, Zona Urbana, Esperanza, Santa Fe
Conyza sumatrensis (S.F.Blake) Pruski & G.Sancho	Conyza	Asteraceae	MD50 UNL	5/3/2018	Campus FAVE, Esperanza, Santa Fe
Echium plantagineum L.	Flor morada	Boraginaceae	MD26 UNL	11/10/2017	Paso Vinal a 200m de entrada de Escuela Granja, Esperanza, Santa Fe
Rapistrum rugosum (L.) All.	Nabo	Brassicaceae	MD25 UNL	11/10/2017	J.J. Urquiza y J. Ramb, 100m hacia el norte, Esperanza, Santa fe
Cyperus rotundus L.		Cyperaceae	MD52 UNL	20/5/2018	Campus FAVE, Ruta 70, Esperanza, Santa Fe
Fymbristilis dichotoma (L.) Vahl	Barba de indio	Cyperaceae	AGR192 UNL	11/10/2017	Reserva Escuela Granja, Esperanza, Santa Fe
Schoenoplectus americanus (Pers.) Volkart	Totora	Cyperaceae	MD29 UNL	11/10/2017	Reserva Escuela Granja, Esperanza, Santa Fe
Schoenoplectus californicus (C.A.Mey.) Soják	Totora	Cyperaceae	AGR 197 UNL	11/10/2017	Reserva Escuela Granja, Esperanza, Santa Fe
Vachelia caven (Molina) Molina	Aromito	Fabaceae	MD39 UNL	17/10/2017	Campus FAVE, Ruta 70, Esperanza, Santa Fe
Pelargonium graveolens L'Hér.	Geranio	Geraniaceae	MD58 UNL	10/12/2017	CECIF, Esperanza, Santa Fe
Leonurus japonicus Houtt	Cuatro cantos	Lamiaceae	MD45 UNL	10/12/2017	Campus FAVE, Ruta 70, Esperanza, Santa Fe
Plectranthus madagascariensis (Pers.) Benth.	Incienso	Lamiaceae	MD21 UNL	2/2/2016	CECIF, Esperanza, Santa Fe
Plectranthus neochilus Schltr.	Boldo paraguayo	Lamiaceae	MD32 UNL	11/10/2017	Belgrano 3236, Zona urbana, Esperanza, Santa Fe
Laurus nobilis L.	Laurel	Lauraceae	MD44 UNL	18/12/2017	Belgrano y Colón, Esperanza, Santa Fe
Melaleuca citrina (Curtis)  Dum.Cours.	Limpiatubo	Myrtaceae	MD36 UNL	11/10/2017	Almafuerte y Moreno, Esperanza, Santa Fe
Melaleuca linearis Schrad. & J.C. Wendl.	Limpiatubo	Myrtaceae	MD28 UNL	11/10/2017	CECIF, Esperanza, Santa Fe

Melaleuca linearis var. linearis.	Limpiatubo	Myrtaceae	MD31 UNL	11/10/2017	Camino de Escuela Granja, Esperanza, Santa Fe
Fumaria officinalis L.	Fumaria	Papaveraceae	MD35 UNL	11/10/2017	Alberdi y Colón, Zona Urbana, Esperanza, Santa Fe
Persicaria acuminata (Kunth) M. Gómez	Catay grande	Polygonaceae	SG1675 UNR	30/3/2015	Retiro San Juan, San Pedro, Buenos Aires
Citrus paradisi Macfad.	Pomelo	Rutaceae	MD27 UNL	11/10/2017	CECIF, Esperanza, Santa Fe
Tropaeolum majus L.	Taco de reina	Tropaolaceae	MD33 UNL	11/10/2017	Belgrano 3236, Zona urbana, Esperanza, Santa Fe
Lantana camara L.	Bandera española	Verbenaceae	MD34 UNL	11/10/2017	N. Schneider y Almafuerte, Zona urbana, Esperanza, Santa Fe
Lippia alba (Mill.) N.E.Br. ex Britton & P. Wilson	Salvia morada	Verbenaceae	Olivella, Getar y Gutiérrez 05(FHUC)	26/05/2017	Depto. La Capital (Sta. Fe)
Lippia turbinata Griseb.	Poleo	Verbenaceae	JFP11609 UNL	5/12/2016	6km al NO de los Chiriguanos, Dpto de Bermejo, Formosa

#### Preparación de extractos fijos

Según el tipo de compuestos químicos de interés y la humedad del material recolectado, se realizaron procesamientos diferentes. El material vegetal fresco (Figura 7.A), se colocó en un lugar seco y ventilado hasta su deshidratación (Figura 7.B). Una vez seco, fue molido mediante Mixer Philips modelo HR1363/06 y almacenado para su posterior procesamiento (Figura 7.C). Los solventes utilizados para las maceraciones sucesivas fueron hexano, acetona y metanol (según especie), marca Ciccarelli calidad p.a (Figura 7.D). El material vegetal fue separado por filtración con vacío mediante embudo Buchner de 112 mm de diámetro (Figura 7.E) y los extractos fueron concentrados a presión reducida hasta sequedad mediante un evaporador rotatorio Büchi modelo B-480 (Figura 7.F). El método de procesamiento para las plantas *P. madagascariensis* y *P. neochilus* fue diferente, como se explica en el apartado siguiente.

En la Tabla 14 se describe la especie vegetal, la parte utilizada con la cual se realizó el extracto, la cantidad de material seco procesado (expresada en gramos), la abreviatura que se utilizará de ahora en adelante para nombrar la muestra, el solvente de extracción y los tipos de

extractos obtenidos. El método extractivo basado en maceraciones sucesivas se lo nombra como método extractivo A.



**Figura 7.** Imágenes que muestran el tratamiento del material vegetal y los equipos utilizados para realizar los extractos fijos. **A.** Material vegetal. **B.** Secado. **C.** Molienda y pesaje. **D.** Material en proceso de maceración. **E.** Proceso de filtrado. **F.** Equipo Rotavapor. **G.** Aparato Soxhlet. **H.** Equipo de destilación al vapor.

**Tabla 14**. Especie, parte utilizada, cantidad de material seco procesado (g), abreviatura y tipo de extracto. Método extractivo: (A) Maceraciones sucesivas 2-3 x24 h.

Nombre científico	Parte Material científico Abreviatura		Método	Tipo de extracto	
Nombre cientifico	usada	seco (g)	Abreviatura	extractivo	según solvente usado
D. ambrosioides	hojas	104,4	H de D. ambrosioides	A	Hexano
D. umorosioides	nojas	104,4	Ac de D. ambrosioides	A	Acetona
A maina	planta	947	H de A. majus	A	Hexano
A. majus	entera	84,7	MeOH de A. majus	A	Metanol
			H de A. inulaefolium hj	A	Hexano
	hojas	19,3	Ac de A. inulaefolium hj	A	Acetona
A :l:fali			MeOH de A. inulaefolium hj	A	Metanol
A. inulifolium			H de A. inulaefolium fl	A	Hexano
	flores	213,0	Ac de A. inulaefolium fl	A	Acetona
			MeOH de A. inulaefolium fl	A	Metanol
D1:-::-1:-	1	110.5	H de B. salicifolia	A	Hexano
B. salicifolia	hojas	112,5	MeOH de B. salicifolia	A	Metanol
	parte	00.2	H de E. plantagineum pa	A	Hexano
E -1	aérea	99,2	MeOH de E. plantagineum pa	A	Metanol
E. plantagineum	flores	45.1	H de E. plantagineum fl	A	Hexano
	flores	45,1	Ac de E. plantagineum fl	A	Acetona

			MeOH de E. plantagineum fl	A	Metanol
	parte	203,5	H de R. rugosum pa	A	Hexano
R. rugosum	aérea	203,3	MeOH de R. rugosum pa	A	Metanol
R. rugosum	flores	63,4	H de R. rugosum fl	A	Hexano
	110168	05,4	MeOH de R. rugosum fl	A	Metanol
			H de C. rotundus	A	Hexano
C. rotundus	flores	30,4	Ac de C. rotundus	A	Acetona
			MeOH de C. rotundus	A	Metanol
E diahatawa	flores	<i>4</i> 1	H de F. dichotoma	A	Hexano
F. dichotoma	nores	6,1	MeOH de F. dichotoma	A	Metanol
			H de S. americanus rz	A	Hexano
	rizomas	33,4	Ac de S. americanus rz	A	Acetona
S. americanus			MeOH de S. americanus rz	A	Metanol
	a	8,9	H de S. americanus fl	A	Hexano
	flores		MeOH de S. americanus fl	A	Metanol
			H de S. californicus rz	A	Hexano
	rizomas	167,2	Ac de S. californicus rz	A	Acetona
S. californicus			MeOH de S. californicus rz	A	Metanol
	CI	0.0	H de S. californicus fl	A	Hexano
	flores	9,8	MeOH de S. californicus fl	A	Metanol
17	an .	125.2	H de V. caven	A	Hexano
V. caven	flores	135,3	MeOH de V. caven	A	Metanol
	1 .	02.1	H de L. japonicus	A	Hexano
L. japonicus	hojas	82,1	MeOH de L. japonicus	A	Metanol
P. madagascariensis	hojas	138,51	H de P. madagascariensis	A	Hexano
P. neochilus	hojas	182,08	H de P. neochilus	A	Hexano
			H de F. officinalis	A	Hexano
F. officinalis	parte	53,3	Ac de F. officinalis	A	Acetona
	aerea		MeOH de F. officinalis	A	Metanol
D	1 .	00.7	H de P. acuminata	A	Hexano
P. acuminata	hojas	80,7	Ac de P. acuminata	A	Acetona
<i>T</i>	parte	25.5	H de T. majus	A	Hexano
T. majus	aerea	25,6	MeOH de T. majus	A	Metanol
L. camara	hojas	90,3	H de L. camara	A	Hexano

# Preparación de extractos en casos particulares

Las hojas de *P. madagascariensis y P. neochilus* fueron sometidas a extracción con diclorometano durante 4 h utilizando un equipo Soxhlet (Figura 7.G.). Después de la filtración del residuo vegetal, se eliminó el solvente por evaporación a presión reducida y se obtuvo el extracto de diclorometano (Tabla 15). Se aclara, además, que se utilizó la letra B para indicar este método extractivo.

**Tabla 15.** Especie, parte utilizada, cantidad de material seco procesado (g), abreviatura y tipo de extracto. Método extractivo: (**B**) Soxhlet durante 4 h.

Parte usada	Material fresco (g)	Abreviatura	Método extractivo	Tipo de extracto según solvente usado
hoias	138 51	DCM de P.	B	Diclorometano
nojus	130,31	madagascariensis	Ь	Dictorometano
hojas	182,08	DCM de P. neochilus	В	Diclorometano
	<b>usada</b> hojas	usada fresco (g) hojas 138,51	usada fresco (g)  DCM de P.  hojas 138,51  madagascariensis	usada fresco (g)  DCM de $P$ .  hojas 138,51  DCM de $P$ .  madagascariensis  B

#### Obtención de Aceites esenciales

Para aquellos casos en que las plantas presentaban principios activos en sus aceites esenciales, se realizaron destilaciones por arrastre con vapor de agua utilizando el equipamiento fabricado según normas farmacopeicas, mostrado en la Figura 7.H. En todos los casos, se tuvo en cuenta la precaución de no someter a secado el material recolectado para evitar la liberación de los compuestos volátiles. En la Tabla 16 se describe el modo en el que se procesó cada especie vegetal destinada a la obtención de aceites esenciales.

Tabla 16. Especie, parte utilizada, abreviatura, cantidad de material fresco procesado (g), y método extractivo.

Especie vegetal	Parte usada	Abreviatura	Material fresco (g)	Método extractivo	
				Destilación por arrastre	
A. inulifolium	flores	AE Ai	517,96	con vapor de agua	
D. C				Destilación por arrastre	
B. frenguelli	hojas	AE Bf	425,86	con vapor de agua	
D ==1! =!f=1! =				Destilación por arrastre	
B. salicifolia	hojas	AE Bs	311,16	con vapor de agua	
				Destilación por arrastre	
C. bonariensis var. angustifolia	hojas	AE Cbvar.ang	1131,3	con vapor de agua	
C. bonariensis var. bonariensis				Destilación por arrastre	
C. bonariensis var. bonariensis	hojas	AE Cbvar.b	1047,42	con vapor de agua	
C				Destilación por arrastre	
C. sumatrensis	hojas	AE Cs	342,56	con vapor de agua	
				Destilación por arrastre	
P. graveolens	hojas	AE Pg	652,7	con vapor de agua	
				Destilación por arrastre	
L. nobilis	hojas	AE Ln	571,47	con vapor de agua	
M 22.1				Destilación por arrastre	
M. citrina	hojas	AE Mc	468,25	con vapor de agua	
M 7:				Destilación por arrastre	
M. linearis	hojas	AE MI	506,25	con vapor de agua	

M. linearis var. linearis				Destilación por arrastre
M. thearts val. thearts	hojas	AE Mlvar.l	654,65	con vapor de agua
C navadisi				Destilación por arrastre
C. paradisi	flores	AE Cp	275,75	con vapor de agua
L. alba				Destilación por arrastre
L. aiba	hojas	AE La	423,51	con vapor de agua
L. turbinata				Destilación por arrastre
L. turbinata	hojas	AE Lt	346,78	con vapor de agua
				Destilación por arrastre
D. ambrosioides	hojas	AE Da	250,55	con vapor de agua

#### Resultados

#### Selección de las especies vegetales

La selección de las especies vegetales se realizó en base a fuentes complementarias de información: búsqueda bibliográfica de plantas usadas como antifúngicas, datos etnobotánicos de la flora del centro-norte de nuestro país, estudios previos realizados por otros grupos y observación empírica de frutos o plantas que no sufren contaminación microbiana. En el Anexo I se explicita esta exploración bibliográfica para cada planta evaluada por su capacidad antifúngica y en la Tabla 13 de este capítulo se informan los datos identificatorios de todas ellas.

#### Rendimientos

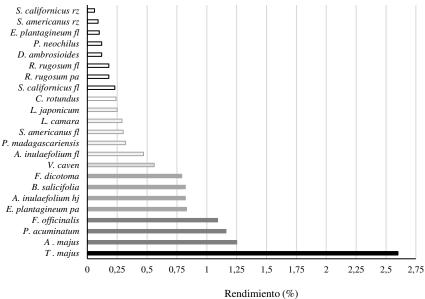
En las Figuras 8, 9 y 10 se muestran los rendimientos de todos los extractos fijos hexánicos, acetónicos y metanólicos, respectivamente. Los resultados se expresan en gramos de extracto obtenido mediante el método A/100 gramos de muestra procesada (en porcentaje).

Dentro de los extractos hexánicos (Figura 8), el que obtuvo mayor rendimiento fue el correspondiente a H de *T. majus* con un 2,6%. Rendimientos menores al 2,6% pero mayores al 1% fueron obtenidos de las muestras de: H de *A. majus* (1,25%), H de *P. acuminata* (1,16%), y H de *F. officinalis* (1,09%). El resto de los extractos hexánicos presentaron rendimientos menores al 1%: H de *E. plantagineum* pa (0,83), H de *A. inulaefolium* hj (0,82%), H de *B. salicifolia* (0,82%), H de *F. dichotoma* (0,79%), H de *V. caven* (0,56%). Además, H de *A. inulaefolium* fl, H de *P. madagascariensis*, H de *S. americanus* fl, H de *L. camara*, H de *L. japonicum* obtuvieron rendimientos de 0,47%, 0,32%, 0,3%, 0,29% y 0,25%, respectivamente. Los extractos hexánicos que presentaron menores rendimientos fueron: H de *C. rotundus* (0,24%), H de *S. californicus* fl (0,23%), H de *R. rugosum* pa (0,18%), H de *R. rugosum* fl (0,18%), H de *D. ambrosioides* (0,12%), H de *P. neochilus* (0,12%), H de *E. plantagineum* fl (0,1%), H de *S. americanus* rz (0,09%) y H de *S. californicus* rz (0,06%).

Dentro de los extractos acetónicos (Figura 9), el que presentó mayor rendimiento (11,64%) fue el correspondiente a Ac de *D. ambrosioides*. Valores de rendimiento superiores a 1% fueron alcanzados por: Ac de *P. acuminata* (6,81%), Ac de *A. inulaefolium* hj (5,38%), Ac

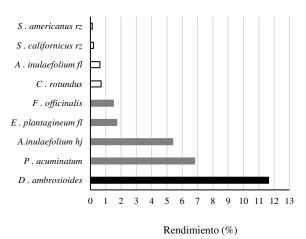
de *E. plantagineum* fl (1,72%), y Ac de *F. officinalis* (1,5%). Por otro lado, valores de rendimiento menores al 1% fueron observados en: Ac de *C. rotundus* (0,7%), Ac de *A. inulaefolium* fl (0,62%), Ac de *S. californicus* rz (0,2%), y Ac de *S. americanus* rz (0,12%).

# Rendimiento de extractos hexánicos



**Figura 8**. Rendimiento de extractos hexánicos de las distintas muestras vegetales procesadas mediante el método de extracción A.

#### Rendimiento de extractos acetónicos



**Figura 9**. Rendimiento de extractos acetónicos de las distintas muestras vegetales procesadas mediante el método de extracción A.

Dentro de los extractos metanólicos (Figura 10), el que presentó mayor rendimiento (8,41%) fue el correspondiente a MeOH de *F. dichotoma*. Rendimientos mayores al 5% resultaron de: MeOH de *F. officinalis* (6,87%), MeOH de *A. inulaefolium* hj (6,17%) y MeOH de *B. salicifolia* (5,04%). Finalmente, los extractos metanólicos con rendimientos menores al 5% fueron: MeOH de *T. majus* (4,64%), MeOH de *R. rugosum* fl (4,57%), MeOH de *S. californicus* 

fl (3,95%), MeOH de *R. rugosum* pa (3,87%), MeOH de *E. plantagineum* pa (3,86%), MeOH de *S. americanus* fl (3,28%), MeOH de *A. majus* (3,09%), MeOH de *A. inulaefolium* fl (2,98%), MeOH de *L. japonicum* (2,91%), MeOH de *S. americanus* rz (2,76%), MeOH de *S. californicus* rz (2,67%), MeOH de *C. rotundus* (2,36%), MeOH de *E. plantagineum* fl (1,79%) y MeOH de *V. caven* (1,11%).

Rendimiento de extractos metanólicos

#### V. caven E. plantagineum fl C. rotundus S. californicus rz S. americanus rz L. japonicum A. inulaefolium fl A. majus S. americanus fl E. plantagineum pa R. rugosum pa S. californicus fl R. rugosum fl T. maius B. salicifolia A. inulaefolium hj F. officinalis F. dicotoma 0 Rendimiento (%)

# **Figura 10**. Rendimiento de extractos metanólicos de las distintas muestras vegetales procesadas mediante el método de extracción A.

Como se puede observar, los mayores rendimientos fueron obtenidos en los extractos alcohólicos (metanólico) en comparación con los extractos preparados con otros solventes (hexano y acetona). Este hecho se debe a la mayor capacidad extractiva (polaridad) de los alcoholes en cuanto a metabolitos primarios y secundarios de plantas. Los solventes menos polares que los alcoholes, extraen menor cantidad de metabolitos, produciendo un menor rendimiento de sus respectivos extractos.

#### Rendimientos de extractos preparados por Soxhlet

La tabla 17 muestra el rendimiento del material perteneciente al género *Plectranthus* utilizando la metodología extractiva Soxhlet con el solvente diclorometano.

Tabla 17. Rendimiento de los materiales del género *Plectranthus* utilizando el método extractivo B.

Nombre científico	Parte usada	Material fresco procesado (g)	Abreviatura	Rendimiento (%)
P. madagascariensis	hojas	138,51	DCM de P. madagascariensis	0,24
P. neochilus	hojas	182,08	DCM de <i>P.</i> neochilus	0,35

El mayor rendimiento se obtuvo para *P. neochilus* (0,35%) respecto a *P. madagascariensis* (0,24%). Además, estos rendimientos fueron similares a los encontrados utilizando el método A con solvente hexano 0,12 y 0,32%, respectivamente.

#### Rendimientos de aceites esenciales

En la Tabla 18 se informan los rendimientos en porcentaje (mL de aceite esencial obtenido/100 g de material vegetal fresco procesado) de cada especie sometida a esta metodología extractiva.

Tabla 18. Rendimiento de los aceites esenciales extraídos de las muestras vegetales correspondientes.

Especie vegetal	Parte usada	Abreviatura	Rendimiento (%)
D. ambrosioides	hojas	AE Da	0,4
A. inulifolium	flores	AE Ai	0,04
B. frenguelli	hojas	AE Bf	0,23
B. salicifolia	hojas	AE Bs	0,42
C. bonariensis var. angustifolia	hojas	AE Cbvar.ang	0,07
C. bonariensis var. bonariensis	hojas	AE Cbvar.b	0,09
C. sumatrensis	hojas	AE Cs	0,12
P. graveolens	hojas	AE Pg	0,31
L. nobilis	hojas	AE Ln	0,49
M. citrina	hojas	AE Mc	0,58
M. linearis	hojas	AE MI	1,15
M. linearis var linearis	hojas	AE Mlvar.l	0,55
C. paradisi	flores	AE Cp	0,18
L. alba	Hojas	AE La	0,54
L. turbinata	hojas	AE Lt	0,56

El mayor rendimiento se obtuvo con AE Ml, con un porcentaje del 1,15%. Rendimientos mayores a 0,5% pero menores a 1,15%, fueron obtenidos con el aceite esencial de Mc (0,58%), Lt (0,56%), Mlvar.l (0,55%) y La (0,54%). Seguidamente, valores de rendimiento en porcentaje entre 0,4% a 0,5% fueron obtenidos con Ln (0,49%), Bs (0,42%) y Da (0,4%). De la misma manera, AE Pg arrojó un rendimiento de 0,31% y, finalmente, AE Bf alcanzó 0,23%. Valores de rendimiento menores a 0,2% fueron para los aceites esenciales de: Cp, Cs, Cbvar.b, Cbvar.ang y Ai con valores de 0,18, 0,12, 0,09, 0,07 y 0,04%, respectivamente.

#### Discusión

Los metabolitos secundarios son el resultado de millones de años de evolución entre las plantas y los patógenos. La producción de los mismos es energéticamente costosa tanto en el crecimiento como en la reproducción de las plantas (Zaynab *et al.*, 2018). Autores señalan que existen más de 100000 metabolitos cuya estructura, función y concentración, involucrados en la defensa, es mayor en situaciones de estrés (El Khetabi *et al.*, 2022).

Para la investigación en patología vegetal, los productos botánicos se utilizan en estado crudo, sin formulación (Borges *et al.*, 2018). Brusotti *et al.*, (2014) afirman que cuando no se dispone de información sobre la naturaleza de los metabolitos secundarios, todos los extractos son potencialmente de interés biológico y se debe realizar la selección del método de extracción más adecuado para imitar las drogas a base de hierbas.

En esta tesis, se realizaron extracciones de las diferentes especies vegetales seleccionadas, teniendo en cuenta los antecedentes plasmados en las fichas técnicas de cada especie y ensayos *in vitro*, obteniéndose 50 extractos. De ellos, se obtuvieron 23 extractos hexánicos (a partir de 18 especies), 9 extractos acetónicos (a partir de 8 especies), 18 extractos metanólicos (a partir de 13 especies) y 2 extractos diclorometánicos (a partir de 2 especies). En todos los casos se realizaron extracciones sucesivas, utilizándose, cuando no se disponía datos sobre la composición química según Brusotti *et al.*, (2014), una purificación preliminar en base a las propiedades lipofílicas/hidrófilas y/o ácidas/básicas.

Se realizó la extracción de compuestos bioactivos mediante métodos clásicos (Gligor *et al.*, 2019), también denominados convencionales, donde se utilizaron disolventes orgánicos y se realizaron a presión atmosférica, siendo la extracción con solventes el método más utilizado (Rasul, 2018; Madureira *et al.*, 2020). La maceración y la extracción Soxhlet son los tipos más antiguos de técnicas de extracción donde se utilizan solventes orgánicos (Ivanović *et al.*, 2020; Alara *et al.*, 2021). La primera técnica requiere un gran volumen de disolventes, un largo tiempo de extracción y procedimientos manuales que dependen del investigador e implican mucha mano de obra (Rasul, 2018; Alara *et al.*, 2021). En coincidencia con estos autores, se realizó la búsqueda etnofarmacológica y colección de ejemplares durante un año para lograr su obtención. Esto se debió no sólo para obtener la cantidad de material requerida, sino al estado fenológico que se debía obtener para su correcta identificación y herborización.

La extracción Soxhlet es el segundo método convencional utilizado para la extracción de componentes bioactivos, que presenta la mejora del calentamiento del solvente hasta el punto de ebullición y el retorno de los vapores condensados al matraz (Ligor *et al.*, 2018). Sin embargo, se ha informado la influencia del exceso de calor en los polifenoles termolábiles (Seidel, 2012). El agua y el etanol suelen ser los solventes más utilizados en esta técnica de extracción, debido a su

disponibilidad, eficiencia y no toxicidad; sin embargo, en esta tesis sólo se lo utilizó con el solvente diclorometano en las especies del género *Plectranthus* sp. (Ligor *et al.*, 2018).

La eficiencia de la extracción está afectada por el solvente de extracción utilizado, la relación soluto/solvente y la temperatura del proceso que según diversos autores se pueden optimizar y dar lugar a métodos modernos (Ivanović *et al.*, 2020; Madureira *et al.*, 2020). En esta tesis no se utilizaron métodos modernos o avanzados que incluyen la extracción a contracorriente, entre otros, usando presión y/o elevada temperatura (Patra *et al.*, 2018; Rasul, 2018), o la extracción por fluidos supercríticos. A pesar de que entre sus ventajas se citan un menor consumo de disolventes orgánicos, menor tiempo de extracción y mayor rendimiento de extracción, el gran costo de equipamiento que demanda, la hicieron poco viable. Cada técnica de extracción no convencional tiene ventajas innegables, pero ninguna puede definirse como universal (Rasul, 2018).

Los metabolitos secundarios suelen estar presentes en cantidades bajas en el material vegetal, como lo hallado en esta tesis; y su extracción, purificación y caracterización siguen siendo un gran desafío en el proceso de descubrimiento de fármacos o agroquímicos (Brusotti et al., 2014). Los extractos de plantas contienen una multitud de sustancias bioactivas (Borges et al., 2018) que se encuentran correlacionadas con el solvente; ya que este debe poseer un índice de polaridad similar al compuesto de interés (Wakeel et al., 2019; Mulat et al., 2020). La extracción de compuestos hidrófilos utiliza disolventes polares como metanol, etanol o acetato de etilo. Para la extracción de compuestos más lipófilos se utiliza diclorometano o hexano (Sasidharan et al., 2021). En líneas generales y en consonancia con la literatura, los solventes utilizados en esta tesis permitieron la extracción: de terpenoides y lípidos (con diclorometano o hexano); antocianinas, terpenoides, saponinas, lactonas, flavonas, flavonoles y otros flavonoides (con acetona o metanol); y polifenoles, taninos, alcaloides (con metanol) (Lefebvre et al., 2021; Rasul, 2018; Gligor et al., 2019; Zhang et al., 2018). Meira et al., (2020) afirmaron que ningún disolvente individual fue eficaz para extraer simultáneamente todos los compuestos como se observó en los diferentes extractos. Las polaridades de los compuestos varían y es difícil desarrollar un método único (Soquetta et al., 2018).

El uso de solventes de extracción no polares como el hexano proporcionó una menor eficiencia de extracción (Meira et al., 2020). Se ha observado en la literatura que los solventes altamente polares tienen un rendimiento porcentual máximo debido a la solubilización de metabolitos secundarios que tienen una naturaleza polar máxima (Patia et al., 2019; Kalia et al., 2008). En coincidencia con Wakeel et al., (2019) estos resultados mostraron que los extractos obtenidos con solventes polares metanol, poseyeron un mayor contenido de extracción. Los solventes/partes de plantas que violan la regla de polaridad creciente con una cantidad creciente de metabolitos, se podría deber a la cantidad mayor o menor de estos compuestos con polaridad

única (Wakeel *et al.*, 2019). En esta tesis no se hallaron extractos que no coincidan con la regla de polaridad creciente y los rendimientos.

Los aceites esenciales se obtienen por el proceso de enflorado, expresión, fermentación y destilación al vapor, siendo el último el método más común (Cai *et al.*, 2022; Matrose *et al.*, 2021; Rasul, 2018). Para la determinación de la calidad de los aceites esenciales, el método de extracción es un factor vital. Si se utilizan métodos inadecuados para la extracción, se produce una pérdida de actividad biológica. Se conoce que la cantidad de aceite esencial presente en la planta es afectada por las condiciones climáticas y de hábitat, plantación, etapas y métodos de cosecha, fertilización, y condiciones internas en la planta (Viuda-Martos *et al.*, 2007, Jamshidi *et al.*, 2009, Gurusaravanan *et al.*, 2010; Derwich *et al.*, 2011, Singh & Guleria, 2013; Kumar *et al.*, 2022). Los rendimientos obtenidos en estas extracciones no superaron el 1,15% evidenciando que suelen estar presentes en cantidades bajas en el material vegetal (Brusotti *et al.*, 2014). Estudios recientes indican que las características físicas y químicas del suelo actúan como uno de los factores más determinantes en la composición de aceites esenciales de diferentes especies de plantas aromáticas (Rioba *et al.*, 2015). En consecuencia, es posible alterar la calidad y el rendimiento del aceite esencial cambiando las propiedades químicas del suelo o induciendo estrés en las plantas (Tursun 2022; Mehalaine & Chenchouni, 2020).

#### Conclusión

La búsqueda etnofarmacológica identificó especies nativas exóticas o invasoras pertenecientes a familias con posible actividad antimicrobiana. Se realizó la ficha descriptiva de cada especie y se programaron las colectas para obtener el material fresco. Se obtuvieron 52 extractos y 15 aceites esenciales aceites esenciales utilizando diferentes metodologías extractivas (con solventes o por arrastre con vapor de agua). Los rendimientos obtenidos a través de metodologías tradicionales se encontraron en los parámetros esperables, logrando el material de partida para los ensayos *in vitro*.

# Capítulo IV: Ensayos *in vitro* de los extractos y aceites esenciales obtenidos a partir de plantas por su capacidad antifúngica contra los fitopatógenos seleccionados Introducción

La producción de frutilla y durazno poseen importancia mundial, nacional y regional. La frutilla, una de las frutas más populares del mundo, es altamente perecedera debido a su alta tasa de respiración y características físicas (Kahramanoğlu *et al.*, 2022; Melo *et al.*, 2020). En este mismo sentido, el durazno es una fruta de difícil manipulación y almacenaje, muy susceptible a lesiones mecánicas durante la cosecha y los procesos logísticos (Lin *et al.*, 2022).

Después de la cosecha se presentan graves pérdidas debido a la descomposición de la fruta (Lin *et al.*, 2022) no sólo en términos económicos sino en los que refieren a la reducción por el deterioro en la calidad y la composición de nutrientes (Feliziani & Romanazzi, 2016). Bajo este contexto, los hongos fitopatógenos son los responsables de las enfermedades que causan dichas pérdidas, y además representan un riesgo para la salud humana y animal por la contaminación de los alimentos y la acumulación de residuos tóxicos en el medio ambiente (Di Liberto *et al.*, 2021; Boukhatem *et al.*, 2020).

Una de las técnicas más utilizadas contra las enfermedades poscosecha son los fungicidas (Kahramanoğlu *et al.*, 2022). Por otro lado, las moléculas antimicrobianas que se encuentran en las plantas aromáticas y medicinales son de interés, y se consideran una alternativa prometedora debido a su efectividad en el control de enfermedades fúngicas pre y poscosecha por su bajo impacto ambiental (Boukhatem *et al.*, 2020; Melo *et al.*, 2020).

En este capítulo se describe la evaluación antifúngica *in vitro*, a través de distintos bioensayos según la naturaleza química de cada producto natural a evaluar: extractos y aceites esenciales obtenidos de las especies vegetales en estudio.

#### Materiales y Métodos

#### Obtención de soluciones fúngicas

Para la obtención de los inóculos, se realizaron repiques frescos en placa con medio APD marca MCD Lab®. Dichas placas se incubaron entre 15 y 20 °C durante un tiempo adecuado, dependiendo de las condiciones de crecimiento de cada hongo. Luego, a cada colonia en crecimiento se le agregó agua estéril con 0,01% de Tween 20 y se raspó con un ansa estéril de modo de obtener una suspensión de conidios. Esta solución se filtró a través de una gasa con ayuda de una jeringa estéril y se contaron los conidios en cámara de Neubauer según lineamientos del *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2008). Además, a partir de esta solución de conidios, se logró una solución entre 1.10<sup>4</sup> a 1.10<sup>5</sup> conidios mL<sup>-1</sup> que se utilizaron para los ensayos fúngicos. Para evitar el deterioro y las pleomorfizaciones de las colonias fúngicas se realizaron repiques cada 15 días.

#### Bioensayo con extractos fijos

El medio de cultivo (APD) para los bioensayos fue adquirido de Laboratorios Britania. El agua utilizada fue de calidad ultrapura (<5μg/L) obtenida en un destilador Arium 61316-RO plus Arium 611 UV (Sartorius, Alemania). Los bioensayos fueron realizados bajo cabina de bioseguridad Bioelec. Se utilizaron placas de Petri de 4 divisiones de modo que cada experimento se consideró por cuadruplicado. Se tomaron 50 mg de cada extracto fijo que se disolvieron con ayuda de un sonicador marca Arcano en 1000 μl de DMSO y con agitación por *vortex* DragonLab MX-S. Se tomaron 400 μl de esta disolución y se colocaron en 20 mL del medio APD previamente fundido. Esta preparación se corresponde a una dosis de 1000 ppm. Para el tratamiento control positivo (+) se utilizaron 200 μl de DMSO y para el control negativo (–) se utilizó Carbendazim (CZ) a la dosis comercial recomendada por CASAFE. Una vez solidificado el medio, en cada división de la placa de Petri se realizó un pocillo el cuál se inoculó con una suspensión de 1.10<sup>4</sup>-1.10<sup>5</sup> UFC mL<sup>-1</sup> de los patógenos *B. cinerea*, *C. nymphae* y *M. fructicola*. Estos patógenos corresponden a las enfermedades de poscosecha clave en frutilla y en durazno.

Los resultados del bioensayo se evaluaron de la siguiente manera: la medida de cada cuadrante de la placa control fue tomada en el momento en que el crecimiento del micelio alcanzó el extremo de los cuadrantes. Se realizaron cuatro medidas del área de crecimiento por placa, cada una correspondiente a una división de ésta. El porcentaje de inhibición se calculó de acuerdo con la ecuación 1. Se consideró una inhibición del 100% cuando luego de 48 h de finalizado el ensayo, las placas tratadas con el extracto colocado en el medio APD, no presentaron ningún tipo de crecimiento fúngico.

Se obtuvo un valor promedio de las áreas de crecimiento fúngico en cada división de la placa, que permitieron calcular el porcentaje de inhibición según la siguiente ecuación (1) (Magaldi *et al.*, 2004):

$$I\% = 100 (C - M) / C$$
 (1)

Siendo *I*% el porcentaje de inhibición, C el promedio de las áreas de las 4 divisiones de las placas del control + y M el promedio de las áreas de las 4 divisiones de la placa con medio y el extracto de interés. Para la descripción de las inhibiciones se utilizaron rangos dentro de los cuales se encuentran: los que alcanzaron 100% de inhibición y aquellos que tenían iguales comportamientos estadísticos que como el control (-), alta inhibición fúngica (>75%), moderadamente antifúngicos (50%-75%) y poco activos o inactivos (<50%) (Stegmayer *et al.*, 2022b). La medida del micelio desarrollado en cada división de la placa control +, cuando cubrió por completo la superficie del medio, fue obtenida mediante el escáner LA2400 con el software WinRHIZO 2013 de *Regeant Instrument Canadá* y posteriormente su superficie fue calculada mediante el programa Image J. Todos los resultados se calcularon y expresaron como media ±

desviación estándar de las determinaciones realizadas. A través del programa R se realizaron intervalos de confianza para la media de cada tratamiento con un  $\alpha$ =0,05. Además, se implementó el ajuste de Tukey para analizar las diferencias.

Los microscopios utilizados fueron *Correct Tokyo Seiwa Optical* nº 612816 y *Primo Star* ZEISS, este último con cámara integrada. Para la incubación de los hongos durante los bioensayos se utilizó una cava Top House modelo CW-25ED, en el caso de que los microorganismos requirieran temperaturas de crecimiento menores a 15 °C.

## Bioensayo de volátiles para determinación de la actividad de aceites esenciales

Para llevar a cabo el bioensayo, placas de Petri de vidrio de 60 mm de diámetro estériles fueron cubiertas con 20 mL de medio APD y una vez solidificado el mismo, se colocó en el centro, 10 μL de inóculo fúngico con concentración 1.10<sup>4</sup>-1.10<sup>5</sup> UFC mL<sup>-1</sup>. Una vez evaporada el agua de la solución de conidios inoculada, en el centro de la tapa de la placa de Petri se depositaron 15 μL de aceite esencial o agua (correspondiente al control +). Para realizar el control negativo (–) se utilizó Carbendazim con la dosis comercial recomendada por CASAFE fundida en el medio APD, y luego se procedió a la inoculación como se explicó anteriormente. La cantidad de aceite esencial utilizado se corresponde a una concentración de 1000 ppm. Las placas de Petri así preparadas, fueron incubadas de forma invertida, de manera que el aceite esencial que se evapora entrara en contacto con el medio de cultivo donde estaba creciendo el hongo. El final del ensayo se consideró cuando el micelio desarrollado en cada placa control + cubrió por completo la superficie. Estas medidas fueron obtenidas mediante el escáner LA2400 con el software WinRHIZO 2013 de *Regeant Instrument Canadá* y posteriormente su superficie calculada mediante el programa Image J.

Para cada hongo y muestra de aceite esencial, se realizaron experimentos por triplicado, de manera que se obtuvo un valor promedio de los diámetros de crecimiento fúngico que permitieron calcular el porcentaje de inhibición según la siguiente ecuación (2) (Kloucek *et al.*, 2012):  $I\% = 100 \text{ (C-M) / C} \qquad (2)$ 

Siendo *I*% el porcentaje de inhibición, C el promedio de los diámetros de las 3 placas control y M el promedio de los diámetros de las 3 placas con muestra de aceite esencial. A través del programa R se realizaron intervalos de confianza y test de Tukey con un nivel de confianza del 95% para el verdadero promedio poblacional de inhibición. Para la descripción de las inhibiciones se utilizó el valor de 100% de inhibición a aquellos que tenían iguales propiedades fungicidas al control (-), y en base a esto se definieron los siguientes porcentajes: alta inhibición fúngica (>75%), moderadamente antifúngicos (50%-75%) y poco activos o inactivos (<50%) (Stegmayer *et al.*, 2022b). En este punto es pertinente aclarar que, por una cuestión cronológica de aislamiento y caracterización de los patógenos, los extractos fijos fueron evaluados contra *B*.

*cinere*a, *C. nymphae* y *M. fructicola*; mientras que los aceites esenciales fueron evaluados contra estos tres y, además, contra *R. stolonifer* y *F. hainanense*.

#### Resultados

# Actividad antifúngica de extractos fijos

Los resultados de inhibición fúngica se calcularon y expresaron como media  $\pm$  desviación estándar de las determinaciones realizadas. Con un valor de  $\rho$  <0,05 se consideró con el subíndice a los que no presentaron diferencias respecto al control - (CZ) en forma estadísticamente significativa (Tabla 19).

**Tabla 19**. Inhibición en % frente a *B. cinerea*, *C. nymphae* y *M. fructicola* en relación a cada extracto fijo obtenido de especies vegetales. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $\alpha$ <0,05) con respecto al control CZ (a). I: Inactivo.

	Porcentaje de inhibición a 1000 ppm				
Muestra (abreviatura)	B. cinerea	C. nymphae	M. fructicola		
H de D. ambrosioides	100±0a	75±5 <sup>b</sup>	39±22 <sup>b</sup>		
Ac de D. ambrosioides	$I^b$	21±2 <sup>b</sup>	$\mathbf{I}^{b}$		
H de A. majus	72±7 <sup>b</sup>	9±6 <sup>b</sup>	$\mathbf{I}^{b}$		
MeOH de A. majus	18±10 <sup>b</sup>	11±6 <sup>b</sup>	100±0a		
H de A. inulaefolium hj	$I_p$	28±7 <sup>b</sup>	26±12 <sup>b</sup>		
Ac de A. inulaefolium hj	24±11 <sup>b</sup>	36±7 <sup>b</sup>	100±0a		
MeOH de A. inulaefolium hj	77±11 <sup>b</sup>	$I_p$	100±0a		
H de A. inulaefolium fl	$I_p$	41±11 <sup>b</sup>	39±9 <sup>b</sup>		
Ac de A. inulaefolium fl	$I_p$	35±6 <sup>b</sup>	$\mathbf{I}_{p}$		
MeOH de A. inulaefolium fl	88±3ª	$I_p$	77±6 <sup>b</sup>		
H de B. salicifolia	21±4 <sup>b</sup>	37±9 <sup>b</sup>	77±9 <sup>b</sup>		
MeOH de B. salicifolia	73±5 <sup>b</sup>	44±6 <sup>b</sup>	100±0a		
H de E. plantagineum pa	65±8 <sup>b</sup>	$\mathbf{I_{p}}$	$\mathbf{I}^{\mathrm{b}}$		
MeOH de E. plantagineum pa	52±4 <sup>b</sup>	$I_p$	96±1ª		
H de E. plantagineum fl	36±6 <sup>b</sup>	$\mathbf{I}_{p}$	4±2 <sup>b</sup>		
Ac de E. plantagineum fl	100±0a	10±4 <sup>b</sup>	7±17 <sup>b</sup>		
MeOH de E. plantagineum fl	$I_p$	5±15 <sup>b</sup>	96±1 <sup>a</sup>		
H de R. rugosum pa	73±1 <sup>b</sup>	69±3 <sup>b</sup>	83±34 <sup>b</sup>		
MeOH de R. rugosum pa	35±11 <sup>b</sup>	$I_p$	100±0a		
H de R. rugosum fl	89±5 <sup>b</sup>	100±0a	100±0a		
MeOH de R. rugosum fl	96±1 <sup>a</sup>	$I_p$	77±5 <sup>b</sup>		
H de C. rotundus	69±9 <sup>b</sup>	11±14 <sup>b</sup>	$\mathbf{I}_{p}$		
Ac de C. rotundus	$I_p$	18±8 <sup>b</sup>	$\mathbf{I}_{p}$		
MeOH de C. rotundus	32±3 <sup>b</sup>	$\mathbf{I}_{p}$	87±3 <sup>b</sup>		
H de F. dicotoma	61±5 <sup>b</sup>	$I_p$	$\mathbf{I}_{p}$		
MeOH de F. dicotoma	16±4 <sup>b</sup>	17±6 <sup>b</sup>	$28\pm4^{b}$		
H de S. americanus rz	63±7 <sup>b</sup>	38±3 <sup>b</sup>	11±7 <sup>b</sup>		
Ac de S. americanus rz	56±8 <sup>b</sup>	40±2 <sup>b</sup>	5±15 <sup>b</sup>		

MeOH de S. americanus rz	$I_p$	$I_p$	86±3 <sup>b</sup>
H de S. americanus fl	19±16 <sup>b</sup>	$I_p$	100±0a
MeOH de S. americanus fl	81±5 <sup>b</sup>	$I_p$	80±7 <sup>b</sup>
H de S. californicus rz	56±10 <sup>b</sup>	9±3 <sup>b</sup>	100±0a
Ac de S. californicus rz	100±0a	54±14 <sup>b</sup>	100±0a
MeOH de S. californicus rz	24±3 <sup>b</sup> 5±4 <sup>b</sup>		27±7 <sup>b</sup>
H de S. californicus fl	$I_p$	40±3 <sup>b</sup>	65±4 <sup>b</sup>
MeOH de S. californicus fl	89±1 <sup>a</sup>	$I_p$	92±1 <sup>b</sup>
H de V. caven	67±2 <sup>b</sup>	50±4 <sup>b</sup>	70±5 <sup>b</sup>
MeOH de V. caven	6±2 <sup>b</sup>	38±8 <sup>b</sup>	88±8 <sup>b</sup>
H de L. japonicum	44±6 <sup>b</sup>	56±6 <sup>b</sup>	93±6 <sup>b</sup>
MeOH de L. japonicum	47±4 <sup>b</sup>	20±3 <sup>b</sup>	92±1 <sup>b</sup>
H de F. officinalis	28±5 <sup>b</sup>	23±4 <sup>b</sup>	45±5 <sup>b</sup>
Ac de F. officinalis	100±0a	32±9 <sup>b</sup>	61±3 <sup>b</sup>
MeOH de F. officinalis	58±3 <sup>b</sup>	9±1 <sup>b</sup>	91±2 <sup>b</sup>
H de P. acuminata	100±0a	100±0a	100±0a
Ac de P. acuminata	$76\pm10^{b}$	36±4 <sup>b</sup>	88±15 <sup>b</sup>
H de T. majus	$I_p$	35±4 <sup>b</sup>	78±24 <sup>b</sup>
MeOH de T. majus	33±7 <sup>b</sup>	31±3 <sup>b</sup>	96±1 <sup>b</sup>
H de L. camara	25±3 <sup>b</sup>	49±1 <sup>b</sup>	26±5 <sup>b</sup>
H de P. madagascariensis	100±0a	74±4 <sup>b</sup>	100±0a
H de P. neochilus	56±8 <sup>b</sup>	59±6 <sup>b</sup>	100±0a
	Control + 0±0b		

Control – (CZ) 100±0<sup>a</sup>

Basado en los resultados mostrados en la Tabla 19, a continuación, se realiza un análisis por especie vegetal:

D. ambrosoides: H de D. ambrosioides inhibió por completo a B. cinerea logrando una alta inhibición frente a C. nymphae e inactivo frente a M. fructicola. Ac de D. ambrosioides resultó inactivo para el mismo panel. Esto indica que el extracto hexánico de hojas de esta especie, podría utilizarse para controlar los patógenos de frutilla.

A. majus: H de A. majus y MeOH de A. majus fueron inactivos para B. cinerea y C. nymphae. Para el hongo fitopatógeno M. fructicola el extracto hexánico resultó inactivo, pero el metanólico logró 100% de su inhibición.

A. inulifolium: H de A. inulaefolium hj resultó inactivo para todo el panel, mientras que Ac de A. inulaefolium hj inhibió 100% a M. fructicola. B. cinerea fue altamente inhibido por MeOH de A. inulaefolium hj, además el mismo extracto inhibió en un 100% a M. fructicola. Los extractos de flores H de A. inulaefolium fl y Ac de A. inulaefolium fl fueron inactivos frente a todo el panel, pero MeOH de A. inulaefolium fl logró una alta inhibición de B. cinerea y M. fructicola.

B. salicifolia: H de B. salicifolia fue inactivo frente a B. cinerea y C. nymphae, pero logró una alta inhibición contra M. fructicola. En cambio, MeOH de B. salicifolia fue activo frente a B. cinerea (73% de inhibición) y logró el 100% de inhibición frente a M. fructicola; por el contrario, fue inactivo con C. nymphae. Esta especie evidenció cierta selectividad para la inhibición de M. fructicola.

E. plantagineum: H de E. plantagineum pa fue moderadamente activo frente a B. cinerea, mientras que MeOH de E. plantagineum pa logró la misma actividad frente al mismo hongo y el 100% de inhibición frente a M. fructicola. H de E. plantagineum fl fue inactivo frente a todo el panel, Ac de E. plantagineum fl fue inactivo frente a C. nymphae y M. fructicola, pero logró inhibir completamente a B. cinerea. De la misma manera, MeOH de E. plantagineum fl inhibió completamente a M. fructicola y fue inactivo frente al resto de los hongos. Estos resultados demuestran que las distintas partes de esta especie podrían ser de amplio espectro fungicida en función del extracto que se esté evaluando.

R. rugosum: H de R. rugosum pa presentó actividad moderada frente a todo el panel, no así MeOH de R. rugosum pa que inhibió completamente a M. fructicola y fue inactivo frente al resto. H de R. rugosum fl inhibió el 100% del crecimiento de C. nymphae y M. fructicola y logró una alta inhibición de B. cinerea. El comportamiento de MeOH de R. rugosum fl fue diferente, inhibió por completo a B. cinerea, logró una alta inhibición de M. fructicola y fue inactivo frente a C. nymphae. Los productos obtenidos de estas especies resultaron de actividad considerable.

*C. rotundus*: H de *C. rotundus* logró una alta inhibición del patógeno *B. cinerea*, siendo inactivo para el resto de los patógenos. Ac de *C. rotundus* fue inactivo contra todos los hongos de interés, y MeOH de *C. rotundus* logró solamente una alta inhibición para *M. fructicola*.

*F. dichotoma*: H de *F. dichotoma* fue moderadamente activo frente a *B. cinerea* e inactivo para el resto de los hongos, al igual que MeOH de *F. dichotoma*. Ambos extractos de esta especie sólo fueron moderadamente activos contra *B. cinerea*.

S. americanus: H de S. americanus rz y Ac de S. americanus rz resultaron moderadamente activos contra B. cinerea e inactivos para C. nymphae y M. fructicola. Este último patógeno presentó una alta inhibición con MeOH de S. americanus rz y fue inhibido por completo con H de S. americanus fl. MeOH de S. americanus fl presentó alta inhibición de B. cinerea y M. fructicola, pero fue inactivo frente a C. nymphae.

S. californicus: H de S. californicus rz inhibió por completo a M. fructicola, moderadamente a B. cinerea, pero inactivo frente a C. nymphae. Ac de S. californicus rz inhibió por completo a M. fructicola y B. cinerea y moderadamente a C. nymphae. MeOH de S. californicus rz fue inactivo para todo el panel analizado. H de S. californicus fl presentó sólo una actividad moderada para M. fructicola. MeOH de S. californicus fl inhibió con porcentajes

mayores al 75% a *B. cinerea* y *M. fructicola*. Por lo tanto, el extracto acetónico de los rizomas de esta especie, podrías ser un controlador de *B. cinerea* y *M. fructicola*.

V. caven: H de V. caven logró inhibición moderada para B. cinerea, C. nymphae y M. fructicola. Este último patógeno también fue altamente inhibido por MeOH de V. caven mientras que al resto del panel resultó inactivo.

L. japonicus H de L. japonicus logró alta inhibición de M. fructicola, moderada para C. nymphae e inactivo en B. cinerea. MeOH de L. japonicus logró también alta inhibición en M. fructicola, pero fue inactivo frente al resto de los patógenos.

F. officinalis: H de F. officinalis fue inactivo para todos los hongos evaluados. Ac de F. officinalis inhibió en 100% a B. cinerea, logró inhibición moderada en M. fructicola y resultó inactivo en C. nymphae. MeOH de F. officinalis resultó con alta inhibición frente a M. fructicola, moderadamente activo en B. cinerea e inactivo frente a C. nymphae.

P. acuminata: H de P. acuminata inhibió en un 100% a todo el panel de hongos evaluado. Ac de P. acuminata alcanzó una alta inhibición para M. fructicola y B. cinerea, resultando inactivo para C. nymphae.

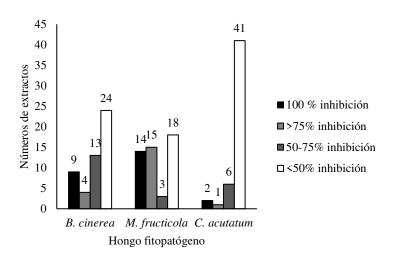
*T. majus*: H de *T. majus* y MeOH de *T. majus* lograron una alta inhibición en *M. fructicola*, pero resultaron inactivos para *B. cinerea* y *C. nymphae*.

L. camara: H de L. camara resultó inactivo para los hongos evaluados.

P. madagascariensis: H de P. madagascariensis inhibió en un 100% a B. cinerea y M. fructicola y se obtuvo, además, una inhibición moderada de C. nymphae.

P. neochilus: H de P. neochilus inhibió en un 100% a M. fructicola, pero logró inhibiciones moderadas en B. cinerea y C. nymphae.

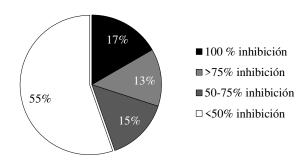
El análisis de los extractos en relación a las distintas categorías de actividad para cada especie fúngica, es indicativo de su sensibilidad a los extractos evaluados. Así, se puede observar que el mayor número de extractos inactivos se obtuvieron contra *C. nymphae* (41), luego contra *B. cinerea* (24) y finalmente contra *M. fructicola* (18), resultando ser este, el más sensible para su inhibición (Figura 11).



**Figura 11**. Número de extractos que inhibieron los patógenos en un 100%, >75%, entre 50 y 75% y menos del 50% para cada hongo fitopatógeno evaluado.

Los resultados indicaron que el crecimiento de *B. cinerea* fue inhibido en un porcentaje de 100% frente a los extractos H de *D. ambrosioides*, H de *P. acuminata*, H de *P. madagascariensis*, Ac de *E. plantagineum* fl, Ac de *F. officinalis*, MeOH de *A. inulaefolium* fl, y MeOH de *R. rugosum* fl, representando aproximadamente el 12% del total de extractos evaluados. Del mismo modo, MeOH de *A. inulaefolium* fl, MeOH de *R. rugosum* fl, MeOH de *S. californicus* fl fueron hallados estadísticamente sin diferencias al control CZ, pero con una inhibición de 88%, 96% y 89% respectivamente. El total de extractos con inhibición de *B. cinerea*, que no poseyeron diferencias significativas en relación al control -, alcanzaron el 18% del total.

En este mismo sentido, el patógeno *M. fructicola* fue inhibido en un 100% frente a los extractos de MeOH de *A. majus*, Ac de *A. inulaefolium* hj, MeOH de *A. inulaefolium* hj, MeOH de *B. salicifolia*, MeOH de *R. rugosum* pa, H de *R. rugosum* fl, H de *S. americanus* fl, H de *S. californicus* rz, Ac de *S. californicus* rz, H de *P. acuminata*, H de *P. madagascariensis* y H de *P. neochilus*. Estos extractos conforman el 24% de todos los extractos evaluados. Asimismo, fueron hallados estadísticamente sin diferencias al control, los extractos MeOH de *E. plantagineum* pa y MeOH de *E. plantagineum* fl con porcentajes de inhibición del 96% en ambos casos, totalizando junto a los anteriores, el 28% de los extractos evaluados. Sin embargo, *C. nymphae* sólo fue inhibido al 100% con los extractos: H de *R. rugosum* fl y H de *P. acuminata*, representando un 4% de los extractos totales evaluados.



**Figura 12.** Porcentajes de extractos totales evaluados, según las distintas categorías de actividad antifúngica

En la Figura 12 se muestran los porcentajes de extractos que arrojaron las distintas categorías de actividad (100% de inhibición, >75% de inhibición, entre 50 y 75% de inhibición y menor a 50% de inhibición). El total de muestras evaluadas para todos los hongos del panel representan 150 unidades. Se observó que: 83 muestras (55%) resultaron inactivas (con inhibiciones menores al 50%), 22 (15%) alcanzaron la categoría de inhibición moderada (inhibieron entre 50 y 75% alguno de los hongos del panel), 20 (13%) presentaron alta inhibición (>75% de al menos un hongo) y 25 (17%) resultaron con una inhibición del 100% de alguno de los hongos del panel.

Los extractos obtenidos por el método B (DCM de *P. madagascariensis* y DCM de *P. neochilus*), presentaron una inhibición del 100% contra *B. cinerea* y *M. fructicola* (Tabla 20). Estos resultados fueron significativos, es decir, resultaron igual en su inhibición a la acción del control químico CZ. Por otra parte, sólo se inhibió un 80% al patógeno *C. nymphae* con DCM de *P. madagascariensis* y un 65% con DCM de *P. neochilus*, resultando no significativas.

**Tabla 20.** Capacidad de inhibición (%) de los extractos obtenidos por el método B. Letras diferentes indican diferencias significativas (p<0,05) con respecto al control CZ (a).

	Porcentaje de inhibición a 1000 ppm			
Código muestra	B. cinerea	C. nymphae	M. fructicola	
DCM de P. madagascariensis	100±0 <sup>a</sup>	80±4 <sup>b</sup>	100±0 <sup>a</sup>	
DCM de P. neochilus	100±0a	65±7 <sup>b</sup>	100±0a	
Control DMSO 0±0 <sup>b</sup>				

Control CZ 100±0a

## Determinación del porcentaje de inhibición fúngica mediante bioensayo de volátiles

En la tabla 21 se muestran los resultados de los intervalos de confianza para el verdadero valor de la media de inhibición. Se implementó Tukey y se colocaron letras iguales para los que no presentaron diferencias respecto al control -.

**Tabla 21.** Capacidad de inhibición (%) de los aceites esenciales evaluados. I: Inactivo. Letras diferentes indican diferencias significativas (p<0,05) con respecto al control (-).

	Porcentaje de inhibición				
Código muestra	B. cinerea	C. nymphae	F. hainanense	R. stolonifer	M. fructícola
AE Da	5±4 <sup>b</sup>	100±0a	100±0a	100±0a	100±0 a
AE Ai	$I_p$	$I_p$	$I_p$	$I_p$	$\mathbf{I}_{p}$
AE Bf	90±2 <sup>b</sup>	18±13 <sup>b</sup>	79±6 <sup>b</sup>	23±29 <sup>b</sup>	96±1ª
AE Bs	52±3 <sup>b</sup>	48±7 <sup>b</sup>	73±8 <sup>b</sup>	92±1 <sup>a</sup>	92±4ª
AE Cbvar.ang	$I_p$	$\mathbf{I}_{p}$	$I_{P}$	$I_p$	17±6 <sup>b</sup>
AE Cbvar.b	55±5 <sup>b</sup>	53±10 <sup>b</sup>	57±8 <sup>b</sup>	89±5 <sup>a</sup>	93±2ª
AE Cs	$I_p$	11±5 <sup>b</sup>	18±6 <sup>b</sup>	$I_p$	90±3a
AE Pg	100±0a	100±0a	100±0a	100±0a	100±0 <sup>a</sup>
AE Ln	100±0a	100±0a	100±0a	100±0a	100±0 <sup>a</sup>
AE Mc	100±0a	97±4 <sup>a</sup>	94±6 <sup>b</sup>	100±0a	100±0 <sup>a</sup>
AE MI	100±0a	100±0a	80±8 <sup>b</sup>	70±19 <sup>a</sup>	100±0 <sup>a</sup>
AE Mlvar.l	100±0a	64±1 <sup>b</sup>	83±7 <sup>b</sup>	97±2ª	100±0a
AE Cp	97±1 <sup>b</sup>	73±4 <sup>b</sup>	38±13 <sup>b</sup>	87±7 <sup>a</sup>	100±0 <sup>a</sup>
AE La	100±0a	98±2ª	100±0a	100±0a	100±0 <sup>a</sup>
AE Lt	100±0a	100±0a	100±0a	100±0a	100±0 <sup>a</sup>
Control DMSO (+) 0±0 <sup>b</sup>					

Control CZ (-) 100±0a

Se puede observar que el aceite AE Da fue inactivo frente a *B. cinerea*, pero inhibió en 100% al resto de los patógenos. Dentro de los obtenidos a partir de la familia de las compuestas, AE Ai fue inactiva frente a todos los patógenos en estudio. Sin embargo, AE Bf fue inactivo frente a *C. nymphae* y *R. stolonifer*, logró una alta inhibición en *F. hainanense* y en *B. cinerea*, y una inhibición del 100% en *M. fructicola*. Dentro del mismo género *Baccharis*, AE Bs fue inactivo frente a *C. nymphae*, logró una inhibición moderada en *B. cinerea* y *F. hainanense*, y una alta inhibición en *R. stolonifer* y *M. fructicola*.

AE Cbvar.ang fue inactivo frente a todo el panel evaluado. En contraste, AE Cbvar.b arrojó inhibición moderada para *B. cinerea*, *C. nymphae* y *F. hainanense*, así como también una alta inhibición en *R. stolonifer* y *M. fructícola*. AE Cs obtuvo valores intermedios a los dos anteriores: una alta inhibición en *M. fructicola* e inactivo para el resto del panel. AE Pg y AE Ln inhibieron a todos los patógenos de estudio, mostrando ser de amplio espectro.

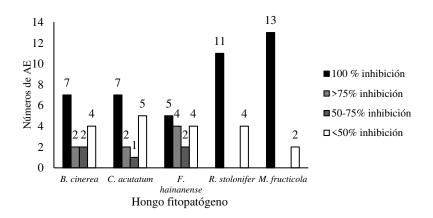
Especies de la familia de las mirtáceas tuvieron comportamientos similares. AE Mc logró una alta inhibición en *F. hainanense* e inhibió en un 100% al resto del panel. En este mismo sentido, AE Ml logró una inhibición moderada en *R. stolonifer*, alta inhibición en *F. hainanense* 

e inhibiciones del 100% en *B. cinerea*, *M. fructicola* y *C. nymphae*. AE Mlvar.l inhibió moderadamente a *C. nymphae*, logró una alta inhibición en *F. hainanense* e inhibió en un 100% a *B. cinerea*, *R. stolonifer* y *M. fructicola*.

AE Cp inhibió en 100% a *M. fructicola*, logró alta inhibición en *B. cinerea* y *R. stolonifer*, moderadas en *C. nymphae* e inactivo frente a *F. hainanense*.

Las especies de la familia labiadas, AE La y AE Lt, lograron inhibir a todos los patógenos de interés mostrando una actividad de amplio espectro.

El análisis de los AE en relación a las distintas categorías de actividad para cada especie fúngica es indicativo de su sensibilidad a los AE evaluados (Figura 13). Se observó que el mayor número de AE inactivos se obtuvieron en primer lugar para *C. nymphae* (5), luego para *B. cinerea* (4), *F. hainanense* (4) y *R. stolonifer* (4); y el más sensible a los AE fue *M. fructicola* contabilizando solamente 2 AE inactivos.



**Figura 13.** Número de AE que inhibieron los patógenos en un 100%, >75%, entre 50 y 75% y menos del 50% para cada hongo fitopatógeno evaluado.

Los resultados indican que el crecimiento de *B. cinerea* fue inhibido en un porcentaje de 100% con: AE Pg, AE Ln, AE Mc, AE Ml, AE Mlvar.l, AE La y AE Lt, lo que representa el 46% del total de los AE evaluados, y no poseyeron diferencias significativas en relación al control con CZ (-).

En este mismo sentido, el patógeno *C. nymphae* fue inhibido en un 100% con: AE Da, AE Pg, AE Ln, AE Ml y AE Lt, representando el 33% de los AE evaluados. Asimismo, fueron hallados estadísticamente iguales al control -, AE Mc y AE La con porcentajes de inhibición del 97% y 98% respectivamente, totalizando junto a los anteriores el 46% de los AE evaluados, siendo el mismo porcentaje obteniendo para *B. cinerea*.

*F. hainanense* fue el hongo que menos inhibiciones presentó con los AE evaluados. Al respecto, sólo fue inhibido por AE Da, AE Pg, AE Ln, AE La y AE Lt dado que no se observaron diferencias significativas respecto al control -. *R. stolonifer* fue inhibido por casi la totalidad de los AE excepto por AE Ai, AE Bf, AE Cbvar.ang y AE Cs. Por último, el hongo más sensible

fue *M. fructicola* que fue inhibido por el 86% de los AE, resultandos inactivos solamente AE Ai y AE Cbvar.ang.

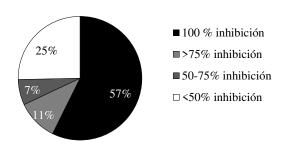


Figura 14. Porcentajes de AE totales evaluados, según las distintas categorías de actividad antifúngica.

Además, sobre el total de muestras evaluadas para todos los hongos del panel (75 determinaciones), 19 resultaron inactivas (25%), 5 alcanzaron la categoría de inhibición moderada (7%), 8 presentaron alta inhibición (11%) y 43 resultaron con una inhibición del 100% (57%) de al menos un patógeno (Figura 14). De esta forma se puede apreciar que el 75% de todas las determinaciones, arrojaron algún tipo de actividad contra al menos uno de los hongos del panel, siendo superior a los resultados obtenidos con los extractos.

Los aceites AE La, AE Lt, AE Pg y AE Ln inhibieron a todos los patógenos de interés, mostrando inhibición del crecimiento del 100%, incluso luego de 48 h de finalizado el ensayo.

#### Discusión

El análisis *in vitro* arrojó que 15 Extractos fijos (30%) y 11 AE (75%) lograron la inhibición de al menos uno de los hongos de interés. Esto evidencia que la utilización del criterio de selección de las especies vegetales fue válida y coincide con lo reportado por Pettenatti *et al.*, (2008), quienes demostraron que la información etnobotánica es de gran valor para el descubrimiento de extractos antifúngicos, hallando 60% de extractos con capacidad antifúngica, y dentro de los géneros utilizados en medicina tradicional, encontraron un 24% de positividad. Seimandi *et al.*, (2022) concluyeron que la información etnobotánica de plantas argentinas en combinación con los criterios de selección, constituyen puntos de partida para grupos de investigaciones como para así también evaluar efectos sinérgicos y disminuir la cantidad de productos fitosanitarios a aplicar.

En relación a las especies analizadas, *D. ambrosoides* presentó actividad antifúngica frente a *B. cinerea* y *C. nymphae*. Sin embargo, a diferencia de Lall & Meyer (1999) donde el extracto acetónico inhibió a una cepa resistente de *Mycobacterium tuberculosis*, el extracto acetónico estudiado en esta tesis resultó inactivo frente a todo el panel evaluado. El aceite esencial de esta especie, en coincidencia con Jardim *et al.* (2008), inhibió a *F. hainanense* y otros géneros de *Colletotrichum* sp. Además, en esta tesis se halló que esta especie también inhibió a *R.* 

stolonifer y M. fructicola; estos últimos resultados fueron publicados en Revista FAVE como requisito del doctorado (Stegmayer et al., 2020b). El AE Da como nematicida e insecticida demuestra múltiples aplicaciones, hallándose que el valor CL<sub>50</sub> fue cercano al nematicida comercial Carbofuran (Barros et al., 2019). En la actualidad, su desarrollo como producto fitosanitario es limitado por su toxicidad en mamíferos debido al contenido de ascaridol y carvacrol (Gwinn, 2018).

Los resultados obtenidos para *A. majus* contra *B. cinerea* y *C. nymphae* parecerían coincidir con los reportados por Al-Hadhrami *et al.* (2016), quienes encontraron inhibición frente a diferentes hongos, pero en dosis mayores a 2 mg mL<sup>-1</sup>. Sin embargo, para *M. fructicola*, el extracto metanólico logró 100% de inhibición. Esto podría deberse a que las cumarinas reportadas para esta especie, presentan capacidad funguicida (Al-Snafi, 2013). En estudios actuales realizados por He *et al.* (2021), aislaron la 4-metoxicumarina del extracto acetónico de *Cnidium monnieri* (umbelífera), y esta inhibió significativamente el crecimiento del micelio de *Rhizoctonia solani* con un valor de CE<sub>50</sub> de 21 μg mL<sup>-1</sup>. En investigaciones complementarias, demostraron que inhibió la β-oxidación de los ácidos grasos y la función mitocondrial para causar la muerte celular del micelio de *R. solani*.

En relación a la familia de las compuestas analizadas, se obtuvieron para *A. inulaefolium*, inhibiciones totales con el extracto acetónico y metanólico de hojas e inhibiciones altas para el extracto metanólico de flores; sin embargo, el aceite esencial resultó inactivo. En ensayos antifúngicos utilizando el aceite esencial, se informa inhibición hasta de un 70% del crecimiento de *P. brevicompactum* y *F. oxysporum*, siendo citotóxico a bajas concentraciones (Bua *et al.*, 2018).

Otra de las especies estudiadas en esta familia, *B. salicifolia*, demostró que se obtuvieron mejores resultados con el extracto metanólico inhibiendo totalmente a *M. fructicola*, en forma intermedia a *B. cinerea*, pero no a *C. nymphae*. El aceite esencial, sin embargo, arrojó mejores resultados inhibiendo a *M. fructicola* y *R. stolonifer*, y de forma intermedia a *F. hainanense*; no así para el resto del panel. En relación al género *Colletotrichum*, Ávila-Sosa *et al.* (2011) utilizaron los extractos clorofórmicos de esta especie contra *C. gloeosporioides*, inhibiendo a dicho patógeno en un 88% con un efecto fungistático. Por su parte, el aceite esencial de *B. frenguelli* obtuvo un mejor desempeño contra *B. cinerea*, *F. hainanense* y *M. fructicola*. Publicaciones actuales del género *Baccharis* informan sobre sus compuestos químicos y usos, así como sus aplicaciones farmacéuticas (Fernandes *et al.*, 2021). El género *Conyza*, perteneciente a la misma familia, logró una alta inhibición de los hongos fitopatógenos *M. fructicola* (AE Cbvar.b y AE Cs) y *R. stolonifer* (AE Cbvar.b). En otros trabajos, el AE de C. *bonariensis* (0,4-1 µl mL<sup>-1</sup>) inhibió el crecimiento micelial de *C. musae* aislados en medios de laboratorio. Estos resultados difieren de lo encontrado para *C. nymphae* con ambas subespecies de Conyza evaluadas, a pesar

de que se utilizó 15 µl para el ensayo. Esto podría deberse a que el género *Conyza* son hospedantes de especies potencialmente patógenas de *Colletotrichum* y podrían tener un papel como reservorio de inóculo para la contaminación cruzada en el agroecosistema (Bonacci *et al.*, 2021). La bibliografía consultada presenta el inconveniente de que no se determina el estado fenológico ni la subespecie vegetal abordada. Esto se ve reflejado en la publicación de Pérez & Apóstolo (2022), quienes realizaron la identificación taxonómica de *C. bonariensis* a nivel intraespecífico. Afirmaron que entre las posibles características con valor diagnóstico se encuentran el tamaño, forma y margen de las hojas, tipo de indumento, densidad de tricomas y estomas, entre otras características, que pueden variar según el tipo y zona del brote adulto analizado.

En relación el aceite esencial de *C. sumatrensis*, Mabrouk *et al.* (2013) evaluaron su capacidad como antifúngico en los patógenos humanos *A. fumigatus y Microsporum canis*, con valores intermedios a altos de inhibición. Estos valores sólo coinciden con lo hallado para *M. fructicola* en esta tesis.

E. plantagineum, otra de las malezas estudiadas, también logró inhibir a B. cinerea (Ac fl) y M. fructicola (MeOH de pa y MeOH de fl) en un 100%. La revisión actual realizada por Wang et al., (2022) de esta especie, señala que las características farmacológicas respaldan su uso tradicional, pero las sustancias medicinales que contiene son muy diferentes en composición y contenido, y el desarrollo y la aplicación de los productos correspondientes también son diferentes. Concluyen, además, que hay pocos datos clínicos sobre medicamentos relacionados con las dos especies, y se necesita más investigación para evaluar los mecanismos celulares y moleculares basados en estudios farmacológicos, de actividad biológica y de seguridad, a fin de aprovechar al máximo su potencial medicinal. Los resultados obtenidos en esta tesis muestran la capacidad de inhibir hongos fitopatógenos y contribuyen al conocimiento de la especie.

Otra de las malezas evaluadas, la especie *R. rugosum*, constituyó una de las dos especies cuyos extractos inhibieron a todo el panel de hongos fitopatógenos evaluados. Los mismos fueron: MeOH de pa (*M. fructicola*), H de fl (*C. nymphae* y *M. fructicola*) y MeOH de fl (*B. cinerea*). Brown & Morra (2005) explican que la especie, junto a otras dentro de la misma familia, es efectiva en el control de patógenos fúngicos porque contiene glucosinolatos tiofuncionalizados. Este grupo de investigación reportó también las concentraciones mínimas (en µg mL<sup>-1</sup>) de los diversos glucosinolatos para las especies de hongos fitopatógenas estudiadas (ver anexo I). Hichri *et al.*, (2019) probaron los aceites esenciales de todos los órganos de la especie frente a cinco bacterias Gram-positivas y Gram-negativas y resultaron comparables a la actividad del control positivo (Gentamicina), en especial la proveniente de flores que exhibió la mayor actividad en diversos métodos de sistemas antioxidante.

Un porcentaje muy importante de las especies más estudiadas en esta tesis fueron las comprendidas dentro de la familia Cyperaceae. *C. rotundus* sólo obtuvo, a través del extracto

metanólico, una inhibición alta en *M. fructicola*. Esta discordancia entre lo obtenido y lo expuesto por Sing *et al.*, (2011) y Adeniyi *et al.* (2014) se debió a que estos últimos utilizaron los rizomas mientras que, en la tesis, los extractos fueron obtenidos de las inflorescencias. Por el contrario, la especie *F. dichotoma* no logró inhibir a ninguno de los hongos estudiados a pesar de que existen evidencias de que especies del mismo género, *F. aphylla* L. y *F. falcata*, han mostrado de moderada a fuerte actividad antimicrobiana (Islam *et al.*, 2011). El género *Schoenoplectus* arrojó inhibiciones del 100% para *M. fructicola* (H de *S. americanus* fl, H de *S. californicus* rz y Ac de *S. californicus* rz) y *B. cinerea* (Ac de *S. californicus* rz). Ambas especies poseen actividad antimicrobiana (Toribio *et al.*, 2007; Borchardt *et al.*, 2008). Sin embargo, hubo diferencias en las inhibiciones fúngicas según los hongos estudiados y esto podría deberse a que los ambientes donde se encuentran ambas especies difieren en su capacidad de soportar stress y la consecuente producción de metabolitos secundarios, a saber, mayor tolerancia a la salinidad de *S. californicus* (~300 NaCl mM) que *S. americanus* (~200 NaCl mM) (Turcios *et al.*, 2021).

De manera semejante, los extractos de *V. caven* (H y MeOH) demostraron inhibiciones intermedias para *M. fructicola* y *B. cinerea*, obteniendo mayores valores que los logrados con el extracto etanólico de la parte aérea frente a *F. oxysporum* y *P. sanguineus* (20-40%) según Quiroga *et al.* (2001). Los resultados podrían deberse a que la mayoría de los miembros de la familia Asteraceae comparten un metabolito, inulina, que se utiliza en la salud humana como en la salud ambiental: la fitoremediación (Rolnik & Olas, 2021; Nguyen *et al.*, 2021).

*M. fructicola* mostró el mismo comportamiento antifúngico con el extracto hexánico y metanólico de *L. japonicus*. Ensayos en esta especie con extractos clorofórmicos inhibieron varios patógenos de interés clínico en humano (Shin *et al.*, 2009), pero no se han informado hasta el momento sobre patógenos fúngicos de poscosecha.

En este mismo sentido, los extractos obtenidos de *F. officinalis* inhibieron a *B. cinerea* (Ac) y *M. fructicola* (MeOH). Este hallazgo coincide con lo hallado por numerosos autores, donde el extracto etanólico inhibió a *Trichoderma*, *Alternaria solani*, *Aspergillus niger* (Chanaj-Kaczmarek & Wysocki, 2018); el extracto metanólico a *Saccharomyces boulardii*, *S. cerevisiae*, *Cladosporium herbarum*, *Paecilomyces variotii* (Sengul *et al.*, 2009); y el extracto hexánico a *A. solani*, *A. niger* (Shah *et al.*, 2012).

Persicaria acuminata (Kunth) fue la segunda especie, al igual que *R. rugosum*, inhibió a todos los patógenos de interés. En estudios recientes realizados por el grupo de trabajo, Di Liberto *et al.*, (2021), demostraron la inhibición a partir de su extracto de acetato de etilo a 250 μg/mL de *Penicillium digitatum* y *P. italicum* y a 62,5 μg/mL la inhibición de *M. fructicola*. Además, el compuesto aislado poligodial, demostró que una CIM de 16 μg mL<sup>-1</sup> inhibió el crecimiento del patógeno *Clavibacter michiganensis* en tomate y con CIM de 64 μg mL<sup>-1</sup>, a *F. oxysporum* y *Phytophthora* spp. (Montenegro *et al.*, 2018).

Con referencia a *T. majus*, sólo se obtuvo una alta inhibición contra *M. fructicola*, a partir de su extracto metanólico. Esto coincide con antecedentes reportados para *Aspergillus* sp., que revelan su inhibición con el extracto etanólico de las partes aéreas con CIM y CFM de 100 mg mL<sup>-1</sup> (Al-Jassani, 2009), como así también para *Trichoderma viridiae* y *P. notatum* (Valsalam *et al.*, 2019).

Por otro lado, *L. camara* no arrojó ninguna inhibición superior del 50%, a pesar de que ciertos antecedentes muestran que el extracto de fruta metanólico (al 5%) redujo significativamente la biomasa *C. gloeosporioides* hasta el 66% (Bashir *et al.*, 2019). Extractos metanólicos inhibieron el crecimiento micelial de *A. alternata*, *F. oxysporum*, *F. solanii*, *A. flavus* y *C. falcatum* en un rango de CIMs de 125±25 μg mL<sup>-1</sup> a 425±75 μg mL<sup>-1</sup> (Rajagopal *et al.*, 2022).

Las especies *P. madagascariensis* y *P. neochilus* obtuvieron una mejor performance de inhibición a través de los extractos diclorometánicos en comparación con los hexánicos en lo que respecta a *B. cinerea* y *C. nymphae*. Esto no coincide con lo reportado por Matias *et al.*, (2019), quienes evaluaron a ambas especies *in vitro* frente a cinco microorganismos grampositivos, tres bacterias gram-negativas y dos levaduras en ensayos de difusión en agar. En el mismo, las levaduras no fueron inhibidas por ninguno de los extractos y más aún, los extractos acetónicos como metanólicos de ambas especies fueron activos contra la mayoría de los microorganismos grampositivos. Sin embargo, en coincidencia con los autores mencionados, el extracto de *P. neochilus* no mostró actividad tan potente como la de *P. madagascariensis*. En ensayos con patógenos de interés agrícola, Mohamed *et al.*, (2021) encontró actividad de moderada a débil contra *A. solani* cuando aplicó extracto de *P. neochilus* en una concentración de 2500 mg L<sup>-1</sup> con la metodología de difusión en agar, siendo esta concentración superior a la utilizada en el ensayo de esta tesis.

Se observó en los resultados antes descriptos, un mayor porcentaje de inhibidores de hongos entre los AE en comparación con los extractos fijos evaluados. El AE de *P. graveolens* inhibió a todos los hongos fitopatógenos de interés en esta tesis al igual que el AE de *L. nobilis*.

En relación a *P. graveolans*, Bouzenna & Krichen (2013) evaluaron la capacidad antifúngica en *Rhizoctonia solani*, resultando efectivo a una dosis de 12,5 mL/20 mL de APD. Ensayos en poscosecha de flores de corte, demostraron su eficacia como agente de control *in vivo* e *in vitro* contra *B. cinerea* (Stegmayer *et al.*, 2022a). En ese sentido, Dzamic *et al.* (2014) demostraron su eficacia a concentraciones de 0,25-2,5 mg mL<sup>-1</sup> mediante el método de dilución en serie, mientras que según los resultados del método de macrodilución, fue eficaz a concentraciones de 0,5-5 mg mL<sup>-1</sup>. Los hongos fitopatógenos evaluados fueron *A. alternata*, *Fusarium sporotrichoides*, *F. tricinctum, Mucor mucedo, Penicillium funiculosum, P. ochrochloron, Phoma macdonaldii y Phomopsis helianthi*. Ensayos realizados por el mismo grupo de trabajo, mostraron que el AE de *L. nobilis* inhibió a los mismos hongos, pero con CIMs

entre  $40 \mu L/mL$  y  $50 \mu L/mL$  (Simíc *et al.*, 2014). Esto permite demostrar que ambos aceites tienen una múltiple capacidad antifúngica y que las dosis efectivas son menores para *P. graveolans* que para *L. nobilis*.

El aceite esencial del género *Melaleuca* sp. se ha informado que posee propiedades antibacterianas y antifúngicas eficaces *in vitro*. En esta tesis, la especie *M. citrina* inhibió a todos los patógenos excepto a *F. hainanense*; y esta misma situación fue observada para *M. linearis* y *M. linearis* var. *linearis*. Además, esta subespecie no inhibió a *C. nymphae*. Existen reportes donde se informa la capacidad de *M. citrina* de inhibir completamente a *Phaeoramularia angolensis* a 1500 ppm y de ser fungistático para *A. flavus* con una inhibición promedio de 89,74% (Jazet *et al.*, 2009; Sameza *et al.*, 2016).

En este mismo sentido, el extracto de la especie *M. linearis* para el control de la pudrición de la corona de la frutilla mostró solo un 44,8% de inhibición, siendo significativo su efecto a una concentración de 1000 ppm (Ara *et al.*, 2017). En relación a *M. linearis* var. *linearis*, Ghangaonkar (2013) halló que, en el extracto acuoso para control de patógenos de cebolla, obtuvo inhibiciones de 31,4% para *F. oxysporum* y 49% para *Botrytis allii*, no coincidiendo con lo hallado para estos géneros en la tesis desarrollada.

Uno de los aceites esenciales de menor actividad fue el de *C. paradisi*, el cual inhibió a *R. stolonifer* y *M. fructicola*, siendo estos resultados de inhibiciones comparables al control -. Esto coincide con lo hallado por Dososky & Setzer (2018) en *P. digitatum* con dosis menor a 1000 ppm.

Finalmente, las especies *L. alba* y *L. turbinata* obtuvieron resultados comparables a *P. graveolans* y *L. nobilis* y al control -, los cuales inhibieron a todo el panel fúngico en estudio. En hongos fitopatógenos, el AE de *L. alba* fue probado por Rao *et al.* (2000) en la germinación de teleutosporas de *Ustilago scitaminea*, conidios de *C. falcatum* y *Curvularia lunata*, siendo todos inhibidos en concentraciones desde 1000, 2000, 3000 y 4000 ppm. Otros hongos fitopatógenos como *Fusarium* sp., *Penicillium funiculosum* y *Sclerotinia sclerotiorum* también fueron inhibidos al 100% a concentraciones de 1 μg mL<sup>-1</sup> por este aceite esencial (De Oliveira Arruda *et al.*, 2019). De la misma manera, *L. turbinata* causó una inhibición completa del crecimiento de los siguientes hongos fitopatógenos: *S. sclerotiorum*, *S. rolfsii* y *R. solani*, siendo altamente efectivo en fase vapor a dosis de 10 y 20 μL/placa de Petri (Leal *et al.*, 2019). Otros estudios afirman que la exposición de maníes a vapores del aceite esencial, permitió evitar la contaminación con hongos del género *Aspergillus* (Passone & Etcheverry, 2014).

#### Conclusión

Los patógenos estudiados fueron inhibidos por al menos un extracto vegetal, donde se demostró la baja sensibilidad de *C. nymphae*, seguido por *B. cinerea* y *M. fructicola*. Los extractos

más promisorios resultaron ser: H de *R. rugosum* fl, Ac de *S. californicus* rz, H de *P. acuminata*, H de *P. madagascariensis*, DCM de *P. madagascariensis* y DCM de *P. neochilus*.

Los AE demostraron un mejor desempeño que los extractos fijos y fueron evaluados no sólo frente a los patógenos de mayor importancia para frutillas y duraznos, sino también frente a *F. hainanense* y *R. stolonifer* que también afectan en menor medida a estos cultivos. Porcentualmente, estos lograron mayores inhibiciones respecto a los extractos fijos, mostrando además que *F. hainanense* fue el patógeno de más difícil control. En el otro extremo, es decir los patógenos más susceptibles a los AE, fueron *M. fructicola* y *R. stolonifer*. Los AE provenientes de *D. ambrosioides*, *P. graveolens*, *L. nobilis*, *M. citrina*, *L. alba* y *L. turbinata* lograron la mejor performance de inhibición contra el panel bajo estudio. Por lo que los productos naturales obtenidos a partir de los aceites esenciales y extractos estudiados en esta tesis constituyen una alternativa de interés para el control de patógenos *in vitro*.

# Capítulo V: Ensayos *in vivo* (a campo o en poscosecha) para frutilla var. Cabrillo y var. San Andreas y en durazno var. Flordaking

#### Introducción

En la definición de enfermedad intervienen los siguientes factores: planta (hospedante), el o los patógeno/s, el ambiente y el tiempo. Por ello, todos estos factores juntos deben interactuar para que se exprese la enfermedad (Gally *et al.*, 2016). Debido a las pérdidas económicas que suponen los patógenos, así como a la resistencia adquirida por los funguicidas clásicos, es de importancia el estudio y continuo desarrollo de agentes alternativos para su control (Rodríguez Tacón, 2021). Por ello es que las prácticas de manejo precisas son fundamentales para la salud de los cultivos y la seguridad alimentaria, así como el papel de la diversidad de especies de plantas para reducir la acumulación de enfermedades fúngicas (Ampt *et al.*, 2019).

El objetivo de este capítulo es la evaluación *in vivo*, tanto en cultivo como en poscosecha, de aquellos productos naturales que resultaron más activos en el capítulo anterior, como también del que se dispone en mayor cantidad. Se evaluaron parámetros productivos, de calidad y fitosanitarios de frutas tratadas con los fungicidas alternativos.

#### Materiales y Métodos

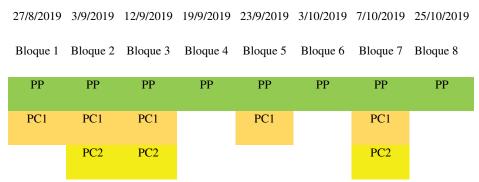
# Ensayo a campo en frutilla var. Cabrillo

El ensayo se realizó durante la temporada 2019 en el Campo Experimental en Cultivos Intensivos y Forestales (CECIF) ubicado en el departamento de Las Colonias, en el centro de la provincia de Santa Fe (Esperanza; 31° 26' S; 60° 56' W). Los plantines de frutilla Cabrillo se implantaron en condiciones de campo el 23 de mayo del mismo año en un marco de implantación a tresbolillo 30 × 30 cm sobre *mulching* negro. Las características de vigor y sanidad de los cultivares utilizados fueron similares al momento de su establecimiento en campo. Durante la temporada, las plantas se regaron utilizando un sistema por goteo. Las plantas del experimento tuvieron el manejo agronómico semejante al de las plantaciones comerciales establecidas en la zona de Coronda. Los registros de temperaturas mínimas, máximas, medias mensuales (°C) y precipitaciones (mm) fueron proporcionados por la Cátedra de Agrometeorología de UNL de la estación del Campus Donnet en la misma localidad (Anexo 2). Los tratamientos que se evaluaron fueron aquellos que obtuvieron mejor performance tanto como extracto o como aceite esencial (AE), siendo los siguientes:

- Extracto acetónico de *P. acuminata* a 1000 ppm (TA)
- Aceite esencial de *L. nobilis* a 1000 ppm (TB)
- Aceite esencial de *M. citrina* a 1000 ppm (TC)
- Aceite esencial de *P. graveolans* a 1000 ppm (TD)
- Control químico Carbendazim a dosis comercial (TE)
- Agua destilada (TF)

Los tratamientos se asignaron a las plantas utilizando un generador de números aleatorios (R Studio). Los primeros tratamientos se comenzaron el 10 de agosto y finalizaron el 7 del mes de octubre. Se realizaron repeticiones semanales. La cosecha se realizó durante todo el período de estudio. Las plantas de frutilla tratadas con agua fueron utilizadas como control. La densidad de población fue de 30000 plantas·ha<sup>-1</sup> y el diseño experimental utilizado fue completamente aleatorizado, modelizando las fechas como bloques. Cada bloque estuvo conformado por los seis tratamientos antes nombrados.

Se realizaron las evaluaciones de frutilla en madurez comercial (2/3 del total de la superficie del fruto con coloración roja) para cada tratamiento, evaluándose ciertos parámetros productivos (PP) y de calidad (PC). Los parámetros productivos se analizaron en 8 bloques (constituidos por 8 fechas), mientras que los parámetros de calidad se realizaron en 5 bloques (5 fechas) determinándose Color, Sólidos Solubles Totales (SST), Acidez Titulable (AT) y Firmeza (Figura 15). Sólo para el caso de medición de fenoles, antocianinas y capacidad antioxidante se realizaron en 3 fechas.



**Figura 15**. Diseño en bloques de la metodología de evaluación de parámetros productivos (**PP**- Número y peso de frutos) y parámetros de calidad (**PC1**- Color, SST, AT, Firmeza y **PC2**- Fenoles, Antocianinas y Capacidad Antioxidante).

## Parámetros productivos estudiados

<u>Número de frutos:</u> por tratamiento, se realizó el conteo en 8 fechas constituyendo 8 bloques en el análisis estadístico.

<u>Peso:</u> se determinó mediante balanza portátil modelo MH-500 marca Pocket Scale precisión 0,1g para el total de los frutos para cada tratamiento, recibiendo el mismo análisis estadístico que la variable número de frutos.

#### Parámetros de calidad estudiados

Los parámetros de calidad se evaluaron en cinco fechas (cinco bloques) en el caso de Color, SST, AT y Firmeza mientras que en tres fechas (tres bloques) se hallaron los parámetros de Fenoles, Antocianinas y Capacidad Antioxidante. El jugo de frutillas utilizado en los ensayos de acidez y sólidos solubles totales fue previamente obtenido de una muestra a campo de 4 plantas

por tratamiento, constituyendo cada planta una réplica por tratamiento para asegurar la aleatorización. Las fechas fueron utilizadas para identificar los bloques. Las muestras se filtraron y homogeneizaron para su análisis.

Acidez titulable: se determinó mediante el método de titulación ácido-base. En un vaso de precipitado se colocó jugo de frutas (200 μl) y agua destilada (csp. 20 ml). Se incorporaron 3 gotas de fenolftaleína como indicador, y luego se valoró cada muestra con solución acuosa de NaOH (0,1 N) para alcanzar un pH de 8,1. La titulación se daba por terminada cuando el viraje del indicador era rosa persistente durante 30s. Los contenidos de ácidos totales fueron determinados como equivalentes de ácido cítrico a través de la siguiente fórmula, según la metodología de Campana (2007):

Porcentaje de ácido cítrico (g de ácido/l de jugo) = ml utilizados de NaOH x 0,1N x 0,064

Concentración de sólidos solubles totales (SST): se colocaron 1000 μL de jugo en el prisma del refractómetro digital HI 96803 Marca Hanna Instruments Rumania de rango 0 a 85% con precisión 0,1 °Brix, previamente calibrado con agua destilada, de manera tal que cubra la totalidad del prisma, calibrándose a cero con agua destilada después de cada medición.

<u>Firmeza:</u> a cada fruto de la misma planta de cada tratamiento se le determinó la fuerza requerida para penetrar cada fruto en forma equidistante en la zona ecuatorial a través de un durómetro digital de punta plana modelo *BC-TR53215 marca TR Turoni Company Italia*, obteniéndose los resultados en grados Shore.

Color (brillo, intensidad de color y ángulo de tono): (L, a y b). Se determinó a cada frutilla obtenida en cada tratamiento, utilizando un colorímetro digital modelo CR-300 marca Konica Minolta Holdings USA. La determinación se realizó en la región del diámetro ecuatorial y se obtuvieron los parámetros L, a y b. Se evaluaron los parámetros a través de lo propuesto por Commission Internationale de lÉclairage (CIELab) y sus índices derivados (ángulo de tono y croma). La luminosidad (L) varía de 0 a 100 (negro-blanco); el parámetro a indica el grado de componente rojo (a>0) o verde (a<0) mientras que el parámetro b determina el grado de componente amarillo (b>0) o azul (b<0). Los índices derivados usan el mismo diagrama que el espacio (L, a, b) pero en coordenadas cilíndricas (ver figura 16). Los parámetros a y b se utilizaron para calcular el ángulo de tono ( $\alpha$  = tan<sup>-1</sup> b/a) mientras que la intensidad de color fue definida por [( $\alpha$  +  $\alpha$ 

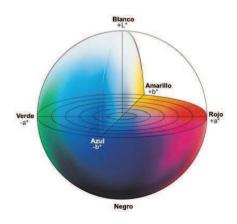


Figura 16. Espacio de Color CIELab

Antocianos: Para el dosaje de antocianos se partió de extractos de 500 mg de tejido fresco diluidos en 2 mL de metanol acidificado (MeOH:H<sub>2</sub>O:HCl, 79:20:1), que se incubaron a 37 °C durante 12 h y luego se cuantificaron mediante el registro directo de absorbancias a 540 nm usando espectrofotómetro UV-visible (Beckman DU 7500). El contenido total de antocianos se calculó con la fórmula propuesta por Abdel-Aal y Hucl (1999):

C= $(A/\dot{\epsilon})$  x (V/1000) x PM x (1/peso de la muestra) x  $10^6$ 

Donde:

A: Absorbancia muestra

έ: Absorbancia molar de la cianidina-3-glucósido, 25965 cm<sup>-1</sup>.M<sup>-1</sup>

V: Volumen total del extracto de antocianinas

PM: peso molecular de la cianidina-3-glucósido, 449 g moL<sup>-1</sup>

Los resultados fueron expresados como mg de cianidina-3-glucósido/mg.PF, donde PF es peso fresco.

## Compuestos fenólicos:

El contenido de compuestos fenólicos fue determinado según Singleton *et al.*, (1999) y expresado como μg de equivalentes de fenol/mg PF. Esta técnica se fundamenta en que los compuestos fenólicos reducen el reactivo de Folin-Ciolcalteau (reactivo fosfotúngstico y fosfomolíbdico) para formar un complejo azulado que absorbe a 765 nm. Para ello, se tomaron 500 μL de cada extracto y se les agregó 1000 μL de H<sub>2</sub>O destilada y luego 100 μL del reactivo de Folin. Se dejó en reposo 2 min a temperatura ambiente y luego se agregó 400 μL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 15,9%. Se llevó a 50 °C en baño maría durante 5 min. Transcurrido ese lapso, se trasvasó a la cubeta. La lectura de las absorbancias se realizó a 765 nm con un espectrofotómetro UV-visible *Beckman DU 7500*.

#### Capacidad antioxidante:

La capacidad antioxidante de los tratamientos fue determinada a través del ensayo TEAC (capacidad antioxidante equivalente a TROLOX) usando el catión radical 2, 2'-azino-bis (3-

etilbenzotizolin-6-sulfonato; ABTS·+) (Miller & Rice-Evans, 1993). Este compuesto es de color azul/verdoso y presenta máximos de absorbancia a 734 nm, que al ser reducido por una especie radical (R.) (ABTS $\cdot$ + + R.  $\rightarrow$ ABTS-R) o por una molécula antioxidante (A) (ABTS $\cdot$ + + A $\rightarrow$ ABTS-H+A), sufre decoloración. El grado de decoloración es proporcional a la capacidad antioxidante de la muestra. La técnica usada se llevó a cabo de acuerdo a Re et al., (1999). El radical ABTS++ se generó haciendo reaccionar una solución acuosa de ABTS 7 mM con K2S2O8 2,45 mM y luego se incubó a temperatura ambiente en oscuridad durante 12-16 h. El ABTS y el  $K_2S_2O_8$  reaccionan estequiométricamente 1:0,5 para generar el catión ABTS $\cdot$ +, el cual es estable sólo durante dos días mantenido en oscuridad y a temperatura ambiente. La solución madre de ABTS·+ se diluyó en MeOH hasta obtener valores de absorbancia de 0,7±0,02 a 734 nm en espectrofotómetro UV-visible (Spectromax plus 250, Molecular Device, CA, USA). Las muestras a evaluar se obtuvieron a partir de 2 unidades experimentales almacenadas a -8 °C, realizándose extractos por triplicado con metanol acidificado (12 h de incubación a 37 °C) a una concentración de 50 mg PF/mL. Los extractos fueron filtrados. Luego a 1 mL de ABTS++ se le adicionaron los extractos (50 µg/mL) capaces de producir entre el 20 y el 80% de depuración del radical. La reacción de los extractos con el radical ABTS·+ se realizó a temperatura ambiente. Como compuesto antioxidante de referencia se utilizó hidroxitolueno butilado (BHT) (1 mg/mL).

# Ensayo de inhibición de patógenos de poscosecha en frutilla var. San Andreas

Se realizaron evaluaciones diarias durante una semana de la variedad San Andreas en madurez comercial (2/3 del total de la superficie del fruto con coloración roja) por cada tratamiento. Las frutillas fueron adquiridas de productores de la zona de Coronda quienes realizan tratamientos convencionales. Una vez obtenidas, se realizó la desinfección durante 1 minuto con hipoclorito de sodio al 10% P/V y posterior enjuague con agua desmineralizada a cada unidad experimental. Se realizó la inoculación puntual en la zona ecuatorial de la unidad experimental con 10µl de una solución de conidios de 1.10<sup>5</sup> UFC/mL de *B. cinerea* y *C. nymphae*. Luego de 3 horas de realizada la inoculación, se realizó la inmersión: en el caso de los tratamientos contra *B. cinerea* (TA, TB, TC, TD y TE), mientras que en *C. acutatum* fue de TA, TB, TD y TE. Cada unidad se individualizó y fotografió. Se utilizaron los extractos o aceites esenciales que mejor desempeño obtuvieron a campo y de los cuales se disponía mayor cantidad para poder realizar el ensayo. A diferencia del ensayo a campo, se incorporó un extracto adicional por la performance *in vitro*. Los tratamientos consistieron en la inmersión durante 5 segundos de las frutillas en soluciones de 1000 ppm de los extractos o de AE. A continuación, se detallan los tratamientos:

- Extracto acetónico de *P. acuminata* (TA)
- Aceite esencial de *P. graveolans* (TB)
- Extracto diclorometánico de *P. madagascariensis* (TC)
- Control químico Carbendazim a dosis comercial (TD)

## - Agua destilada (TE)

Se almacenaron las frutillas a temperatura constante de 16 °C en cava Marca Tophouse para *B. cinerea* y a 20 °C para *C. nymphae* en debidos envases individuales y desinfectados. Se registró el porcentaje de frutos en descomposición y la severidad durante siete días para el primer patógeno y durante 4 días para el segundo patógeno. La severidad de las infecciones se registró según una escala empírica de Romanazzi *et al.*, (2001) con seis grados: 0, fruto sano; 1, 1-20% superficie de fruta infectada; 2, 21-40% superficie de fruta infectada; 3, 41-60% de la superficie de la fruta infectada; 4, 61-80% de la superficie de la fruta infectada; 5, ≥81% de la superficie de la fruta infectada y mostrando esporulación. El índice de infección (o índice de Mc Kinney), que incorpora tanto la incidencia como la gravedad de la enfermedad, se expresó como la ponderación media de la enfermedad como porcentaje del nivel máximo posible (Mc Kinney, 1923) y se calculó en el último día de ensayo mediante la fórmula:

$$I = \frac{\sum (d \ x \ f)}{N \ x \ D} \ . 100$$

Donde:

d es la categoría de podredumbre con intensidad puntuada en la frutilla y f es su frecuencia, N es el número total de frutos (sano y podrido), D es la categoría más alta de enfermedad que ocurrió en la escala empírica (Romanazzi *et al.*, 2001).

Para el análisis se realizó el registro fotográfico de infección. Se realizó un análisis categórico ( $\chi^2$ -cuadrado) mediante el programa estadístico RStudio ( $\alpha$ >0,05). En el caso de que se encuentren diferencias, se realizaron intervalos de proporciones.

#### Ensayo de inhibición de patógenos de poscosecha en durazno var. Flordaking

Se realizaron evaluaciones diarias durante cinco días de frutos de la variedad Flordaking en estadios previos a la madurez comercial, utilizándose 10 unidades experimentales por cada tratamiento. Los duraznos fueron adquiridos de productores de la zona del centro de Santa Fe que realizan tratamientos convencionales. Se realizó la desinfección de los duraznos durante 1 minuto con hipoclorito de sodio al 10% P/V y posterior enjuague con agua desmineralizada a cada unidad experimental. Se realizaron dos inoculaciones puntuales en la zona cercana a la incisión del pedúnculo de cada unidad experimental con 10 µ1 de una solución de conidios de 1.10<sup>5</sup> UFC/mL del patógeno *M. fructicola*. Luego de 3 horas de realizada la inoculación, se procedió a la inmersión en las soluciones tratantes, de modo de generar los tratamientos de TsIA, TIA, TA, TB, TC y TD. Diariamente se fotografiaron y se registraron los frutos infectados. Los tratamientos consistieron en la inmersión durante 5 segundos en soluciones de 1000 ppm de AE o extractos. A continuación, se detallan los tratamientos:

- Sin inocular + agua desmineralizada (sIA)
- Inoculado + agua desmineralizada (IA)

- Extracto acetónico de *P. acuminata* (TA)
- Aceite esencial de *P. graveolans* (TB)
- Aceite esencial de *M. citrina* (TC)
- Control químico Carbendazim a dosis comercial (TD)

Los duraznos tratados se almacenaron a temperatura ambiente de 20 °C en bandejas desinfectadas con tapa, de manera de garantizar la humedad. Se registró el porcentaje de frutos en descomposición y la severidad de la enfermedad durante siete días. Esta se registró diariamente según una escala empírica en base a la escala de Wagner Júnior *et al.* (2005), con puntuaciones de 0 a 4: 0, fruto sin infección; 1, de 0 a 25% de la superficie de la fruta con daño por enfermedad; 2, de 25 a 50% de la superficie de la fruta con daño a la enfermedad; 3, del 50 al 75% de la superficie del fruto con daño por enfermedad; y 4, más del 75% de la superficie del fruto con daño por enfermedad. Se realizó un análisis categórico ( $\chi^2$ -cuadrado) mediante el programa estadístico RStudio (RStudio Team, 2020) de las proporciones de los frutos enfermos ( $\alpha$ >0,05). En el caso de que se encontraran diferencias, se realizaron intervalos de proporciones.

Además, se halló el índice de Mc Kinney para los tratamientos, que incorpora tanto la incidencia como la gravedad de la enfermedad en el último día de ensayo, mediante la fórmula expresada previamente (ver fórmula pág. 90), donde se expresó como la ponderación media de la enfermedad como porcentaje del nivel máximo posible (Mc Kinney, 1923)

#### Resultados

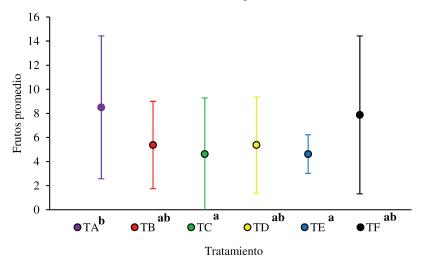
Ensayo a campo en frutilla var. Cabrillo y evaluación de parámetros productivos y de calidad de frutas según los tratamientos fungicidas aplicados

#### Parámetros productivos:

# Número de frutos

El número de frutos registrado a lo largo del ensayo obtuvo un máximo de 68 frutos para TA, seguido por 63 frutos para TF, 43 frutos para TB y TD, y por último 37 frutos para TC y TE. Se comprobaron los supuestos de homogeneidad de varianza (p> 0,42) y normalidad (p> 0,15). Posteriormente se realizó el análisis de ANOVA siendo significativo (p< 0,01). En la figura 17 se muestran los promedios y desvíos para esta variable según los distintos tratamientos.

#### Promedio de frutos por tratamiento



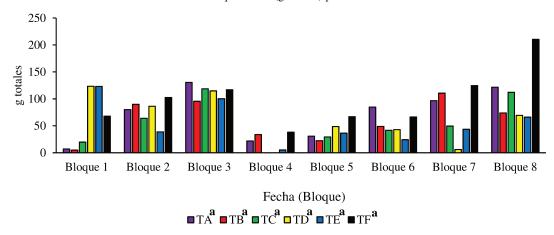
**Figura 17.** Promedio de frutos por tratamiento, cosechados en 8 fechas diferentes. Letras diferentes indican diferencias significativas (p<0,05). Dosis de tratamiento: 1000 ppm. Tratamientos: Extracto acetónico de *P. acuminata* (TA), AE de *L. nobilis* (TB), AE de *M. citrina* (TC), AE de *P. graveolans* (TD), control químico Carbendazim a dosis comercial (TE), agua destilada (TF).

Se aplicó el test de Dunnett para realizar las comparaciones entre las medias de los tratamientos versus el control (TF). Las diferencias fueron no significativas en relación a TF, pero sí se hallaron diferencias entre TA versus TC y TE.

# <u>Peso</u>

Se registraron los pesos totales alcanzados por cada tratamiento para las 8 fechas de mediciones y fueron modelizados como bloques (Figura 18). El menor peso total lo registró el tratamiento C (435 g totales), seguidos por el tratamiento E (437,5 g totales), tratamiento B (479,7 g totales), tratamiento D (491,4 g totales), tratamiento A (573,82 g totales) y por último el tratamiento F (793,9 g totales). Se comprobó la homogeneidad de varianzas (p>0,9421) y la normalidad (p>0,1306) de los datos. Se realizó el ANOVA, no obteniéndose diferencias significativas entre los tratamientos con respecto a los pesos totales alcanzados (p>0,1109).

#### Evolución del peso total (g totales) por tratamiento

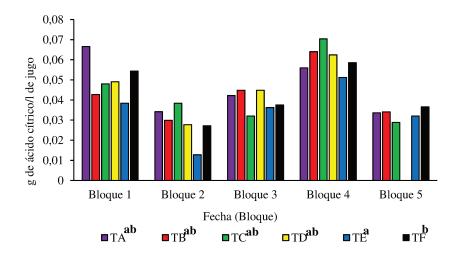


**Figura 18**. Peso total por tratamiento en 8 fechas diferentes. Letras diferentes indican diferencias significativas (p<0,05). Dosis tratante: 1000 ppm. Tratamientos: Extracto acetónico de *P. acuminata* (TA), AE de *L. nobilis* (TB), AE de *M. citrina* (TC), AE de *P. graveolans* (TD), control químico Carbendazim a dosis comercial (TE), agua destilada (TF).

#### Parámetros de calidad:

#### **Acidez**

La acidez, expresada en g de ácido cítrico/l de jugo de las frutas sometidas a los diferentes tratamientos, como se observa en la Figura 19 alcanzó un máximo y un mínimo de 0,066-0,033 en TA, 0,064-0,029 en TB, 0,0704-0,028 en TC, 0,0624-0,027 en TD, 0,0544-0,012 en TE, y por último 0,064- 0,027 en TF.

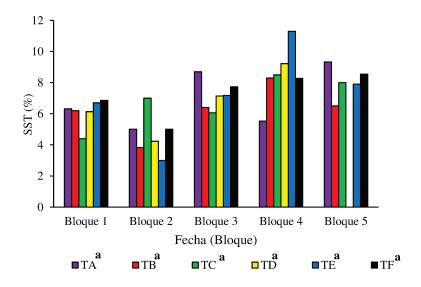


**Figura 19**. Acidez de las frutas sometidas a los distintos tratamientos, cosechadas en 5 fechas diferentes. Letras diferentes indican diferencias significativas (p<0,05). Dosis tratante: 1000 ppm. Tratamientos: Extracto acetónico de *P. acuminata* (TA), AE de *L. nobilis* (TB), AE de *M. citrina* (TC), AE de *P. graveolans* (TD), control químico Carbendazim a dosis comercial (TE), agua destilada (TF).

Se comprobó la homogeneidad de varianza (p>0,78) y normalidad (p>0,056) de los datos. Mediante ANOVA se sometieron las medias de los tratamientos, resultando al menos una distinta (p<0,02). Se realizó el análisis de las medias versus el control a través de Dunnett, arrojando diferencias para las medias del tratamiento F y el tratamiento E (p<0,03).

#### Sólidos Solubles Totales

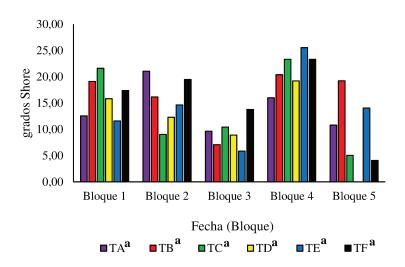
Los sólidos solubles totales en (%) de las frutas sometidas a los diferentes tratamientos, alcanzaron un máximo y un mínimo de 9,325-5 en TA, 8,3-3,83 en TB, 8,5-4,4 en TC, 9,225-4,23 en TD, 11,3-3 en TE, y por último 8,54-5 en TF. La evolución de los SST de los distintos tratamientos se muestra en Figura 20. El análisis de la homogeneidad de varianza no arrojó diferencias (p> 0,09) al igual que la normalidad (p> 0,55). Comprobados ambos supuestos, se realizó ANOVA, no encontrando diferencias significativas entre los tratamientos (p< 0,49).



**Figura 20**. Sólidos solubles totales (SST) de las frutas sometidas a los distintos tratamientos, cosechadas en 5 fechas diferentes. Letras diferentes indican diferencias significativas (p<0,05). Dosis tratante: 1000 ppm. Tratamientos: Extracto acetónico de *P. acuminata* (TA), AE de *L. nobilis* (TB), AE de *M. citrina* (TC), AE de *P. graveolans* (TD), control químico Carbendazim a dosis comercial (TE), agua destilada (TF).

## Firmeza o dureza

La firmeza obtenida de las frutas sometidas a los diferentes tratamientos, alcanzó un promedio (expresados en grados Shore) de: 14,02±2,54 en TA, 16,39±4,40 en TB, 13,88±3,50 en TC, 14,05±1,13 en TD, 14,33±3,85 en TE y 15,60±3,94 en TF. Se obtuvo la homogeneidad de la varianza a través de la raíz de los datos (p> 0,073) y su normalidad (p> 0,60). Las medias de los tratamientos, mediante ANOVA, fueron no significativas (p<0,176). A continuación, en la Figura 21, se muestra la evolución de la firmeza obtenida en las diferentes fechas de cosecha.



**Figura 21**. Evolución de la firmeza (%) de las frutas sometidas a los distintos tratamientos. Letras diferentes indican diferencias significativas (p<0,05). Dosis tratante: 1000 ppm. Tratamientos: Extracto acetónico de *P. acuminata* (TA), AE de *L. nobilis* (TB), AE de *M. citrina* (TC), AE de *P. graveolans* (TD), control químico Carbendazim a dosis comercial (TE), agua destilada (TF).

#### **Color**

El color fue analizado a partir de L y los índices derivados (croma y ángulo). En relación al parámetro L, luego de comprobados los supuestos de homogeneidad (0,28) y normalidad (p >0,053), los tratamientos no evidenciaron diferencias significativas (p=0,07). Los promedios obtenidos para el índice derivado "croma" fueron de: 36,0±7,97 en TA, 40,9±6,99 en TB, 35,7±9,03 en TC, 38,5±6,53 en TD, 38,2±7,32 en TE, 39,5±5,60 en TF. Se comprobó la homogeneidad de las varianzas, arrojando un p>0,051 al igual que la normalidad de los datos p>0,69. Con los supuestos comprobados, se realizó ANOVA (p>0,024), resultando en al menos un tratamiento diferente. Se realizó el test de Dunnett para comprobar las diferencias con el control +, resultando no significativas, pero sí lo fueron el tratamiento TB con respecto a TC. Para el índice ángulo de color, se realizó la inversa de los datos obtenidos y se comprobó homogeneidad de las varianzas (p>0,05) y normalidad (p>0,2566). Con los supuestos comprobados, se realizó ANOVA (p> 0,0011), resultando en al menos un tratamiento diferente. Se realizó el test de Dunnett para comprobar las diferencias con el control, resultando TC diferente a TF.

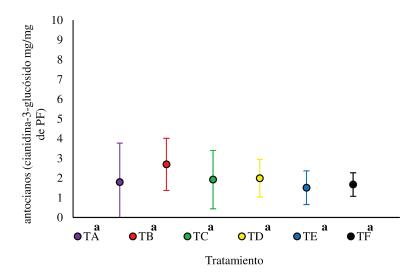
Mediante el programa Photoshop (Adobe, 2019), se presenta la Figura 22 donde se muestra la evolución del color de las frutas cosechadas para los tratamientos.

	Bloque 1	Bloque 2	Bloque	Bloque 4	Bloque 5
	36,35;	36,84;	34,40;	45,64;	32,53;
TA <sup>ab,a</sup>	29,98	30,92	29,87	38,86	31,15
	38,35;	44,44;	41,43;	48,49;	35,25;
$TB^{a,a}$	32,67	38,16	34,43	37,00	34,04
	44,27;	37,90;	33,10;	47,16;	26,69;
$TC^{b,b}$	37,69	34,19	28,38	39,96	22,54
	36,55;	37,12;	43,67;	39,94;	43,43;
TD <sup>ab,ab</sup>	30,01	31,57	39,74	32,00	31,01
	34,83;	39,99;	38,54;	41,68;	38,03;
TE <sup>ab,ab</sup>	28,81	33,25	30,57	34,80	35,08
	38,31;	42,19;	39,40;	44,17;	34,84;
$TF^{ab,a}$	28,01	34,43	32,03	36,06	28,13

**Figura 22**. Valores promedio de los índices croma y ángulo de las frutas sometidas a los diferentes tratamientos, cosechadas en las 5 fechas analizadas (bloques). Letras diferentes indican diferencias significativas (p<0,05) con respecto a TF. Dosis tratante: 1000 ppm. Tratamientos: Extracto acetónico de *P. acuminata* (TA), AE de *L. nobilis* (TB), AE de *M. citrina* (TC), AE de *P. graveolans* (TD), control químico Carbendazim a dosis comercial (TE), agua destilada (TF).

#### Antocianos

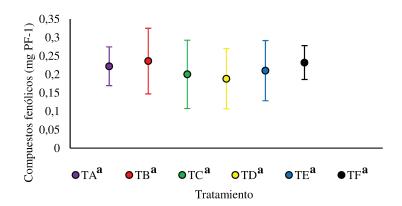
Los promedios de la cantidad de antocianos (expresados en mg de cianidina-3-glucósido/mg de PF) se muestran en la Figura 23. Se obtuvo un promedio para TA de 1,79±1,98, 2,69±1,32 en TB, 1,92±1,48 en TC, 1,99±0,95 en TD, 1,51± 0,85 en TE y 1,67±0,59 en TF. Se realizó el análisis de la homogeneidad de las varianzas (p>0,32) y normalidad de los (p>0,69). Con los supuestos comprobados, se realizó ANOVA (p>0,32), no encontrándose ninguna diferencia entre los tratamientos.



**Figura 23.** Antocianos promedios determinados en frutas sometidas a los diferentes tratamientos, cosechadas en las 3 fechas analizadas. Letras diferentes indican diferencias significativas (p<0,05) con respecto a TF. Dosis tratante: 1000 ppm. Tratamientos: Extracto acetónico de *P. acuminata* (TA), AE de *L. nobilis* (TB), AE de *M. citrina* (TC), AE de *P. graveolans* (TD), control químico Carbendazim a dosis comercial (TE), agua destilada (TF).

#### Compuestos fenólicos

Se obtuvo un promedio de compuestos fenólicos presentes en las frutas tratadas de: 0,222±0,05 en TA, 0,236±0,08 en TB, 0,2±0,09 en TC, 0,18±0,08 en TD, 0,21± 0,08 en TE, 0,23±0,04 en TF. Se realizó la comprobación de la homogeneidad de las varianzas (p>0,80) y la normalidad (p>0,20) de los datos. Se aplicó ANOVA (p>0,69), no existiendo diferencia entre los tratamientos (Figura 24).

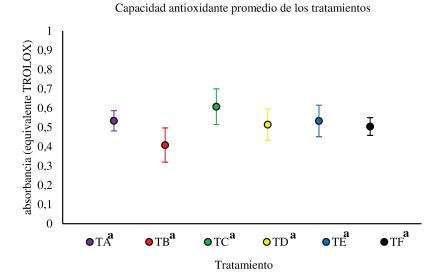


**Figura 24**. Promedio de compuestos fenólicos en las frutas, según los diferentes tratamientos y cosechadas en las 3 fechas analizadas. Letras diferentes indican diferencias significativas (p<0,05) con respecto a TF. Dosis tratante: 1000 ppm. Tratamientos: Extracto acetónico de *P. acuminata* (TA), AE de *L. nobilis* (TB), AE de *M. citrina* (TC), AE de *P. graveolans* (TD), control químico Carbendazim a dosis comercial (TE), agua destilada (TF).

#### Capacidad antioxidante

Se obtuvo un promedio de capacidad oxidante (equivalente a Trolox) de:  $0.534\pm0.18$  en TA,  $0.408\pm0.12$  en TB,  $0.607\pm0.24$  en TC,  $0.514\pm0.08$  en TD,  $0.533\pm0.10$  en TE,  $0.504\pm0.12$  en

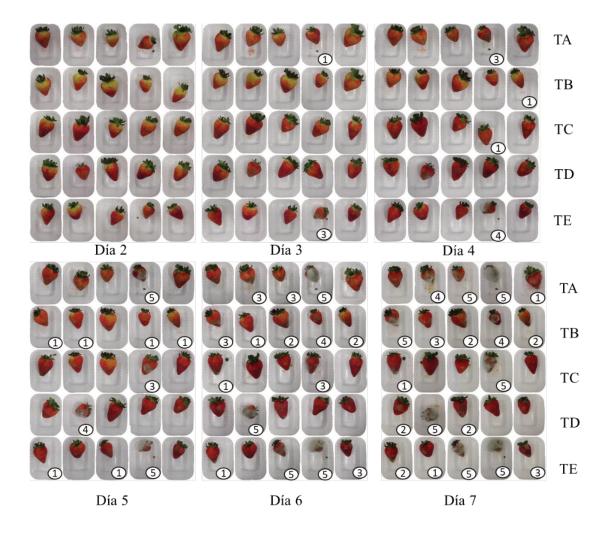
TF. Se realizó el análisis de la homogeneidad de las varianzas (p>0,20) y normalidad de los datos (p>0,05). Con los supuestos comprobados, se realizó ANOVA (p>0,08), no encontrándose diferencia entre los tratamientos.



**Figura 25.** Capacidad antioxidante promedio medido en equivalente TROLOX de las frutas sometidas a los diferentes tratamientos, y cosechadas en las 3 fechas analizadas. Letras diferentes indican diferencias significativas (p<0,05) con respecto a TF. Dosis tratante: 1000 ppm. Tratamientos: Extracto acetónico de *P. acuminata* (TA), AE de *L. nobilis* (TB), AE de *M. citrina* (TC), AE de *P. graveolans* (TD), control químico Carbendazim a dosis comercial (TE) y agua destilada (TF).

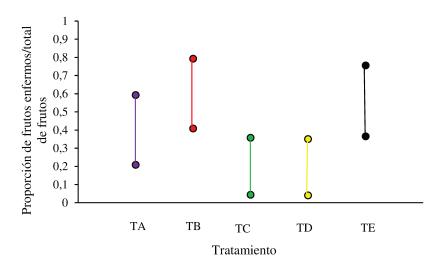
# Ensayos de inhibición de patógenos en poscosecha de frutilla var. San Andreas *B. cinerea*

A partir del segundo día de inoculación, se manifestaron los primeros síntomas del moho gris por el agente causal *B. cinerea* en los tratamientos TA y TE. El análisis de datos categóricos arrojó diferencias entre las proporciones de frutos sanos y enfermos para los diferentes tratamientos (p= 0,03). En Figura 26 se visualiza la evolución de la enfermedad según los tratamientos.



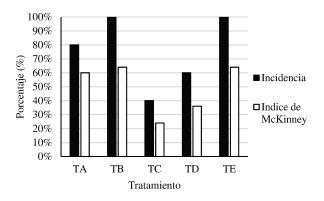
**Figura 26**. Evolución de los grados de infección por B. cinerea luego de la aplicación de los diferentes tratamientos. Dosis tratante: 1000 ppm. Tratamientos: Extracto acetónico de *P. acuminata* (TA), AE de *P. graveolans* (TB), DCM de *P. madagascariensis* (TC), control químico Carbendazim a dosis comercial (TD) y agua destilada (TE).

El análisis arrojó diferencias significativas entre los tratamientos, por lo que se realizó el intervalo de las proporciones de frutas enfermas de los diferentes tratamientos desde el día 3 hasta el día 7 (Figura 27). El intervalo para la verdadera proporción de TA fue de  $0,208 < \rho < 0,592$ , para TB fue de  $0,408 < \rho < 0,792$ , para TC y TD fue de  $0,04 < \rho < 0,35$ , y por último para TE fue de  $0,365 < \rho < 0,755$ . La comparación de los diferentes intervalos mostró diferencias entre tres grupos, TB-TE, TC-TD, y sin diferencias entre ambos grupos para TA (p=0,05).



**Figura 27**. Intervalo de confianza de la proporción de frutos enfermos de los diferentes tratamientos en relación a la infección por *B. cinerea* (p<0,05). Dosis tratante: 1000 ppm. Tratamientos: Extracto acetónico de *P. acuminata* (TA), AE de *P. graveolans* (TB), DCM de *P. madagascariensis* (TC), control químico Carbendazim a dosis comercial (TD) y agua destilada (TE).

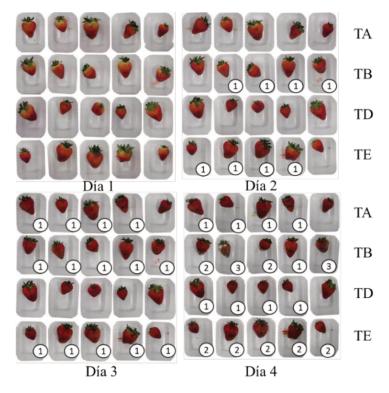
Se realizó el análisis de la incidencia y severidad a través del índice de McKinney. Se observó que el tratamiento C tuvo mejor desempeño (24%) en relación a la cantidad de frutos afectados (incidencia), así como también en el valor de la severidad alcanzada por el mismo. En esa misma línea, TD obtuvo una incidencia de 60%, mientras que el índice de McKinney alcanzó el 36%. Sin embargo, el tratamiento B tuvo igual incidencia que TE e índice de McKinney (64%). Ambos fueron superiores a los valores obtenidos para TA, donde la incidencia fue del 80% y el índice de McKinney fue de 60% (Figura 28).



**Figura 28**. Incidencia e Índice de McKinney (severidad) en relación a la infección de *B. cinerea*. Dosis tratante: 1000 ppm. Tratamientos: Extracto acetónico de *P. acuminata* (TA), AE de *P. graveolans* (TB), DCM de *P. madagascariensis* (TC), control químico Carbendazim a dosis comercial (TD) y agua destilada (TE).

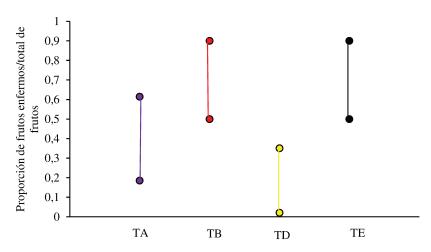
# C. nymphae

A partir del segundo día luego de la inoculación, se manifestaron los primeros síntomas de la antracnosis causada por el agente *C. nymphae* en los tratamientos TB y TE. El tratamiento TC no fue evaluado debido a los resultados hallados en la inhibición *in vitro* en el capítulo IV. El análisis de datos categóricos arrojó diferencias para las proporciones de frutos sanos y enfermos entre los diferentes tratamientos (p= 0,002). En figura 29 se visualiza la evolución de la enfermedad.



**Figura 29**. Evolución de los grados de infección por *C. nymphae* luego de la aplicación de los diferentes tratamientos. Dosis tratante: 1000 ppm. Tratamientos: Extracto acetónico de *P. acuminata* (TA), AE de *P. graveolans* (TB), control químico Carbendazim a dosis comercial (TD) y agua destilada (TE).

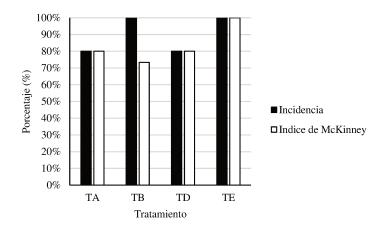
Como se expresó anteriormente, el análisis arrojó diferencias significativas entre los tratamientos, por lo que se realizó el intervalo de las proporciones de frutas enfermas de los diferentes tratamientos (Figura 30). El intervalo de confianza para la verdadera proporción de TA fue de  $0.185 < \rho < 0.614$ , para TB fue de  $0.499 < \rho < 0.900$ , para TD fue de  $0.02 < \rho < 0.375$ , y para TE de  $0.499 < \rho < 0.900$ .



**Figura 30**. Intervalo de confianza de la proporción de frutos enfermos de los diferentes tratamientos en relación a la infección por *C. nymphae* (p<0,05). Dosis tratante: 1000 ppm. Tratamientos: Extracto acetónico de *P. acuminata* (TA), AE de *P. graveolans* (TB), control químico Carbendazim a dosis comercial (TD) y agua destilada (TE).

La comparación de los diferentes intervalos mostró diferencias entre TD, TB y TE, mientras que TA no manifestó diferencias con ninguno de los tratamientos (p=0,05).

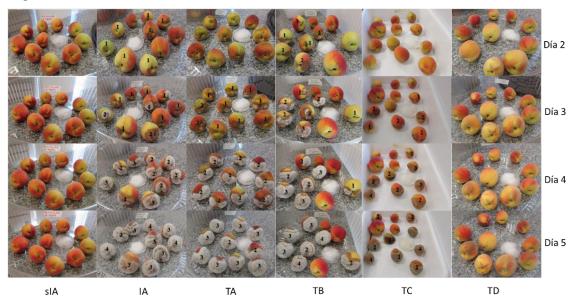
Los resultados de incidencia y severidad se muestran a través del índice de McKinney en la Figura 31. Se observa que TA y TD obtuvieron mejor desempeño (80%) en relación a la cantidad de frutos afectados (incidencia), así como también en la severidad de los mismos. En esa misma línea, TB arrojó una incidencia de 100% mientras que el índice de McKinney alcanzó el 76%. Sin embargo, el TB obtuvo valores diferentes al índice de McKinney (76%) respecto al obtenido por TE (100%).



**Figura 31**. Incidencia e Índice de McKinney (severidad) en relación a la infección de *C. nymphae*. Dosis tratante: 1000 ppm. Tratamientos: Extracto acetónico de *P. acuminata* (TA), AE de *P. graveolans* (TB), control químico Carbendazim a dosis comercial (TD) y agua destilada (TE).

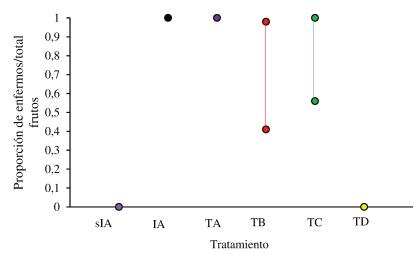
# Ensayos de inhibición de patógenos de poscosecha de durazno var. Flordaking *M. fructicola*

En el ensayo de poscosecha de durazno, a partir del segundo día de inoculación, se observaron los primeros síntomas de la pudrición marrón causada por el agente *M. fructicola* en los tratamientos TIA y TB. El análisis de datos categóricos arrojó diferencias entre las proporciones de frutos sanos y enfermos según los diferentes tratamientos (p<0,05). En Figura 32 se puede observar la evolución de la enfermedad.



**Figura 32.** Evolución de los grados de infección por *M. fructicola* luego de la aplicación de los diferentes tratamientos. Dosis tratante: 1000 ppm. Tratamientos Sin inocular + agua desmineralizada (sIA), Inoculado + agua desmineralizada (IA), Extracto acetónico de *P. acuminata* (TA), AE de *P. graveolans* (TB), AE de *M. citrina* (TC), Control químico Carbendazim a dosis comercial (TD).

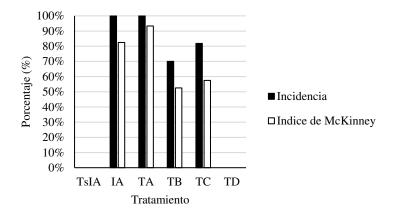
El intervalo para la proporción de enfermos del total de los frutos en el tratamiento sin inoculación artificial y TD fue del 0%. Por el contrario, las proporciones de los tratamientos IA y TA de los frutos fue de 1 para ambos casos. Valores intermedios fueron hallados para TB  $(0,41<\rho<0,98)$  como para TC  $(0,56<\rho<1)$ . La comparación de los diferentes intervalos mostró diferencias entre los grupos sIA-TD y IA-TA-TC; este último tratamiento además no se diferenció de TB mientras que sí TB se diferenció de ambos grupos (p=0,05).



**Figura 33**. Intervalo de confianza de la proporción de frutos enfermos de los diferentes tratamientos en relación a la infección por *M. fructicola* (p<0,05). Dosis tratante: 1000 ppm. Tratamientos Sin inocular + agua desmineralizada (sIA), Inoculado + agua desmineralizada (IA), Extracto acetónico de *P. acuminata* (TA), AE de *P. graveolans* (TB), AE de *M. citrina* (TC), Control químico Carbendazim en dosis comercial (TD).

Se realizó el análisis de la incidencia y severidad a través del índice de McKinney en la Figura 34. Se observó que el tratamiento D como el TsIA (control de técnica de infección artificial) tuvieron los mejores desempeños, es decir, no mostraron frutos enfermos, resultandos nulos los valores de incidencia e índice McKinney. Los tratamientos IA y TA fueron los que alcanzaron el mayor porcentaje de incidencia (100%) mientras que el índice de McKinney fue de 82,5% y 93%, respectivamente. En esa misma línea, TC obtuvo una incidencia de 82%, mientras

que el índice de McKinney alcanzó el 57,5%. Valores menores de incidencia fueron hallados en el tratamiento B (70%) que obtuvo un índice de McKinney de 52,5%.



**Figura 34**. Incidencia e Índice de McKinney (severidad) en relación a la infección de *M. fructicola*. Dosis tratante: 1000 ppm. Tratamientos Sin inocular + agua desmineralizada (sIA), Inoculado + agua desmineralizada (IA), Extracto acetónico de *P. acuminata*, AE de *P. graveolans* (TB), AE de *M. citrina* (TC), Control químico Carbendazim en dosis comercial (TD).

#### Discusión

La familia Rosaceae abarca varios cultivos productores de frutas económicamente fundamentales, como frutilla y durazno, que requieren horas de frío durante el invierno para desarrollar yemas fructíferas (Alisoltani et al., 2019). Sin este enfriamiento, los órganos florales no pueden desarrollarse normalmente (Fadón et al., 2018), lo que no ocurre naturalmente en condiciones climáticas tropicales y subtropicales (Oviedo et al., 2020). Contrariamente, las heladas de finales de invierno y principios de primavera pueden dañar severamente las yemas, las flores y, por ende, las frutas, conduciendo a una reducción de la productividad (Alisoltani et al., 2019). Esto se produjo durante la temporada 2019 donde la falta de horas de frío en el año 2018 impidió realizar el ensayo a campo en durazno, pero sí se pudieron realizar las evaluaciones de los diferentes tratamientos propuestos para frutilla bajo invernadero. Respecto a la producción de frutilla alcanzada, no se hallaron diferencias en relación a los kg totales producidos bajo cada tratamiento, pero sí hubo diferencias en los números de frutos en los tratamientos de Extracto acetónico de P. acuminata- AE de L. nobilis y el control químico Carbendazim a dosis comercial. Esto fue hallado previamente por Menzel (2021) en cultivos de frutilla, donde las plantas hacia el final de la temporada continuaron produciendo frutos pequeños, por lo que la calidad de la fruta es menor y por ende la relación es más costosa al cosechar. Este autor atribuye sus resultados a temperaturas más altas y al efecto negativo que ocasiona esto en el rendimiento de las plantas. Se sabe que la floración en frutilla se reduce a temperaturas superiores a 30 °C durante el día y 25 °C en la noche, e incluso una exposición breve de 4 h a 42 °C puede influir negativamente en el cuajado (Orde & Sideman, 2019; Samtani et al., 2019). En los invernaderos las condiciones en relación al exterior se diferencian durante el dia en 1,4 °F (17 °C). Estas condiciones fueron las observadas al menos durante 7 días de la temporada de producción (ver Anexo Condiciones climáticas). En este último estudio, además, las frutillas no se consideraban comercializables si pesaban menos de 7,0 g, o estaban deformadas, cubiertas por tierra y/o podridas. En esta tesis, este criterio no fue tenido en cuenta, por lo que quizás los resultados mencionados en los diferentes apartados podrían haber cambiado, disminuyendo el error y en consecuencia tener una mejor estimación de los parámetros evaluados.

En esta misma línea, Rosa *et al.*, (2013) sugieren que las variaciones en la producción de frutos estaban más afectadas por el medio ambiente más que por la constitución genética de una planta. Los resultados de esta investigación también afirman que la considerable variabilidad en el número de frutos pequeños, medianos, grandes y no comerciales se debió a la fecha tardía del trasplante y que este factor ambiental tuvo un efecto importante en la producción de frutos. La producción donde la siembra es tardía, por pocas semanas, resultan en rendimientos más bajos en comparación con otros estudios (Pritts & McDermott, 2017). Además, los rendimientos aumentan cuando las plantas tienen una densidad alta, incluso si el rendimiento por planta disminuye (Legard *et al.*, 2000; Orde & Sideman, 2019). La densidad utilizada en esta tesis fue menor a la utilizada en la zona de Coronda (60000 plantas. ha<sup>-1</sup>).

Por lo anteriormente expuesto, las plantas de frutilla están influenciadas por las complejas interacciones entre el cultivo y la temporada de crecimiento, la ubicación, el tipo de suelo y el sistema de producción (Galletta & Bringhurst, 1990). Existen diferencias alcanzadas entre la producción a campo e invernadero, como lo desarrollado por Pérez Trujillo (2021), donde a campo encontraron mayor partición de asimilados, resultando en rendimientos por plantas mayores que en invernadero. Además, las estructuras de los invernaderos en dicho estudio no proporcionaron aislamiento térmico durante los meses más fríos del otoño, alcanzando la misma temperatura mínima del aire durante la noche que los entornos desprotegidos, especialmente durante los meses más fríos.

Los cultivares de días neutros en frutilla, como la utilizada var. Cabrillo, no poseen estímulos del fotoperíodo, pero responden a la temperatura, ocurriendo la floración de forma continua durante su ciclo, siempre que la temperatura del aire se presente en el rango adecuado (Lambrecht *et al.*, 2020). Como se observó en los resultados, no hubo diferencia entre los tratamientos para los pesos totales, pero si para el número de frutas, aunque los pesos individuales de los frutos disminuyeron y esto se puede atribuir al fuerte efecto de la temperatura sobre el tamaño (como se explicó más arriba). La producción en ausencia de cultivares tolerantes al calor en ensayos desarrollados por Menzel (2019), mostró que el peso de la fruta disminuyó de 24 a 8 g a medida que la temperatura aumentó de 16 °C a 20 °C; además, las altas temperaturas provocaron una menor cantidad de frutos y más pequeños, disminuyendo el número de frutos de

15 a 8 por planta. En relación a los resultados hallados en esta tesis, se encontró diferencias en el número de frutos para los tratamientos TE-TC con respecto a TA. Esto puede estar relacionado a que la planta cambia su metabolismo para activar los sistemas de defensa, mientras que su crecimiento y desarrollo pueden suspenderse parcialmente (llamado *trade-off* crecimiento-defensa) (Spychalski *et al.*, 2021). A su vez, los fungicidas pueden tener efectos negativos en la fisiología del cultivo, especialmente en la fotosíntesis, conduciendo a una reducción de la producción de fotoasimilados, lo que resultaría en una disminución tanto del crecimiento como del rendimiento del cultivo (Petit *et al.*, 2012). Según Mazaro *et al.*, (2008), el tratamiento de las frutillas con quitosano puede retrasar la maduración de la fruta, aumentar su firmeza y reducir la pérdida de masa de la fruta. Estudios realizados por Spychalski *et al.*, (2021) indicaron que aplicaciones del derivado amida del benzotiadiazol, estimuló el desarrollo vegetativo de las plantas al mismo tiempo que redujo la intensidad de floración y cuajado.

Como se observó en los resultados a partir del ensayo a campo, el patrón de fructificación obtenido en `Cabrillo` presentó dos picos de producción. Esto no coincide con lo hallado por Orde & Sideman (2019) donde sólo presentó un pico. Estos últimos autores explicaron que esas diferencias son debido a los genotipos y que esta información es necesaria para que los productores puedan ofrecer un suministro constante de frutas. En coincidencia con dicho estudio, los valores de producción dentro del rango 234,9-497,8 g/planta obtenidos por estos mismos autores a nivel planta, se encontraron dentro de los valores obtenidos en esta tesis, así como también la cantidad de semanas para el inicio de la fecha de producción (10 semanas).

La titulación de ácidos (AT) evalúa el contenido de ácidos orgánicos de las frutas y es un factor importante para el mantenimiento de la calidad (Abd-Elkader et al., 2021; Kilic et al., 2021). Los ácidos orgánicos no volátiles son consumidos en el proceso respiratorio y en frutillas existen dos ácidos principales: el ácido cítrico y el ácido málico, siendo el primero el predominante (Huamaní, 2020; Mohammadi et al., 2021; Dong et al., 2020; Kilic et al., 2021). Los valores de acidez encontrados en esta tesis son menores a los reportados por Amoriello et al., (2022), quienes expresaron el contenido de ácidos orgánicos en términos de ácido málico y en base a peso fresco. En este mismo trabajo reportan, además, que en esta nueva variedad San Andreas se observó la mayor variabilidad de contenido de ácidos en relación a los diferentes tiempos de cosecha, obteniendo valores entre 7,2±0,9 y 13,2±1,3 mEq/100 g PF. Entre los factores que modifican la acidez se encuentra la maduración de la fruta, demostrando que el proceso de senescencia se está desarrollando (González et al., 2021; Hosseini et al., 2020; Zeliou et al, 2018). Hay informes contradictorios sobre la relación entre la AT y la utilización de compuestos de origen vegetal como tratamientos. Gonzalez et al., (2021) hallaron una disminución en el porcentaje de acidez en frutillas recubiertas con dos concentraciones de un aceite esencial, mientras que Hosseini et al., (2020) no observaron diferencias significativas entre frutos tratados

y no tratados en términos de pH y AT. Contrariamente, Abd-Elkader et al., (2021) encontraron diferencias entre los diferentes tratamientos, estos autores afirman que la utilización de diferentes tratamientos, podrían resultar en un efecto significativo en el proceso de respiración, reduciendo o retrasando la misma, y, por ende, en el mantenimiento del contenido de AT. Estudios realizados por Kelly et al., (2021) en tratamientos poscosecha, muestran que la frutilla tanto en producción convencional como orgánica tuvieron niveles de acidez más bajos en la cosecha, atribuyendo las diferencias a la madurez de la fruta al momento de la cosecha y a la pérdida de humedad durante el almacenamiento. En cosechas realizadas por este mismo grupo de trabajo en dos variedades, la acidez disminuyó durante el almacenamiento, pero después de 7 días, no observaron diferencias significativas en la acidez de 'Strawberry Festival', mientras que en modo convencional la variedad 'Florida Radiance' presentó una acidez más baja en comparación con los tratamientos en donde se habían realizado aplicaciones con los mismos principios activos, pero en cantidades reducidas (Abountiolas et al., 2018). A diferencia de lo hallado en esta tesis, El-fawy et al., (2020) encontraron que todos los frutos tratados aumentaron significativamente los SST y AT respecto al control no tratado, pero el mayor aumento se obtuvo cuando se aplicaron benzoato de sodio y fungicida teldore en comparación a las plantas sanas e infectadas. Esto podría deberse a que hay tratamientos que mantienen un proceso de maduración lento después de la cosecha, lo que tiende a disminuir los SST y aumentar la AT.

Los mayores valores hallados para los tratamientos en relación a los SST coinciden con lo publicado por Amoriello et al. (2022), donde alcanzan 13,5 °Brix. Sin embargo, el mínimo del intervalo presentado por estos autores (6 °Brix) no coincide con los mínimos alcanzados por los diferentes tratamientos realizados en esta tesis. El contenido de SST se correlaciona con el dulzor y el sabor (Zeliou et al., 2018), aumentando con la radiación solar y reduciéndose debido a una mayor respiración que se produce a altas temperaturas (Menzel, 2022). En esta tesis no se observaron diferencias significativas en el contenido de SST entre los diferentes tratamientos. Zushi et al., (2023) en estudios actuales sugieren que el efecto positivo del aumento de la radiación solar sobre los SST es anulado por los aumentos de temperatura. En relación a la utilización de moléculas vegetales para el uso en poscosecha, Sánchez-González et al. (2011) han informado que el recubrimiento comestible podría afectar las vías metabólicas y de envejecimiento de las frutas, prolongando la vida útil de la frutilla y reduciendo los efectos de maduración. Hosseini et al., (2020) en ensayos de pre y poscosecha informaron que el contenido de SST en la fruta sin tratar fue del 8,5 % en el momento de la cosecha y aumentó a 10,5 % al final del almacenamiento, mientras que las frutas tratadas con AE de Rosmarinus officinalis conservaron significativamente el contenido de SST durante el almacenamiento en comparación con el control (sin tratar). Según estos autores, el aumento puede deberse a la descomposición de los carbohidratos en azúcares simples y a la degradación de los polisacáridos en la pared celular de la fruta para la respiración.

Ensayos de poscosecha realizados por Abd-Elkader *et al.*, (2021) afirman, además, que la fumigación con AE redujo el consumo de SST en frutilla en comparación con el control, debido a la disminución de la respiración como resultado de la reducción del intercambio de gases.

La firmeza de las frutas es una cualidad visual muy importante en los mercados para determinar su calidad poscosecha y vida útil (Shehata et al., 2020). La sensación de textura se encuentra explicada sólo debido a su correlación con la firmeza (Zeliou et al., 2018). Disminuye gradualmente durante el almacenamiento y, en coincidencia con Hosseini et al., (2020), en esta tesis no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos. Sin embargo, en los ensayos realizados por estos últimos autores, a pesar de no tener diferencias significativas, los frutos tratados con AE mostraron mayor firmeza que los frutos no tratados después del almacenamiento. En esta tesis sólo el AE de L. nobilis obtuvo mayores valores al obtenido en el control con agua. Contrariamente, Mohammadi et al., (2021) observaron una disminución en la firmeza tanto de las frutillas control como de las tratadas con un gel de Aloe vera enriquecido con albahaca durante el almacenamiento. En esta misma línea, ensayos realizados por Abd-Elkader et al., (2021) hallaron diferencias en la firmeza en comparación con frutos sin tratar (testigo) y frutos tratados con moringa al 1%, como la utilización de vapor con los AE mixtos de E. camaldulensis var. obtusa y M. piperita (1/1 V/V), resultando en mayores valores de firmeza que otros tratamientos. Los vapores de AE podrían estar asociados con la formación de la capa superficial en la fruta que modifica la permeación de gases y disminuye la tasa de respiración, y en consiguiente, el proceso de deshidratación en la fruta (Galus et al., 2021).

Durante la maduración de los frutos ocurren una serie de procesos bioquímicos y fisiológicos, que inducen a cambios en el color. Esto se debe a la acumulación de pigmentos como también a la variación en el contenido azúcar/ácido orgánico (Zeliou *et al.*, 2018). El color de la fruta es un indicador importante que afecta la compra de los consumidores (Huamaní, 2020). En esta tesis no se encontraron diferencias en lo que respecta a luminosidad y croma, pero sí en lo que respecta al ángulo de tono entre el par de tratamientos A-B-F y C, es decir, entre el Extracto acetónico de *P. acuminata*- AE de *L. nobilis*- control con agua y el AE de *M. citrina* respectivamente. Sin embargo, los valores de luminosidad y croma se encuentran entre los hallados por Amoriello *et al.*, (2022). En investigaciones realizadas por Kelly *et al.*, (2021) tampoco se hallaron diferencias significativas en el color de la superficie entre los cultivares bajo tratamientos con fungicidas convencionales y menor cantidad de aplicaciones con los mismos principios activos (reducidos), pero sí en cuanto a los métodos de cultivo. Estos últimos asociaron las diferencias a los niveles más altos de antocianinas como ocurrió en lo hallado por Cocco *et al.*, (2015), quienes afirmaron que los pigmentos pertenecientes al grupo de las antocianinas se encuentran entre los responsables del color rojo.

La fruta también contiene antocianinas compuestas por cantidades más pequeñas de cianidina-3-O-β-glucósido, pelargonidina-3-O- rutinósido, cianidina-3-O-(6"malonil) glucósido y pelargonidina-3-O-(6"malonil) glucósido (Nowicka *et al.*, 2019). Durante el almacenamiento poscosecha, el contenido total de antocianinas disminuye gradualmente (Huamaní, 2020), pero aumenta cuando se la expone a altas concentraciones de O<sub>2</sub> (Mohammadi *et al.*, 2021).

Los ácidos orgánicos responsables de la acidez de la fruta, también están involucrados en la regulación del pH y la estabilización de las antocianinas; por lo tanto, afectan el color (Ali *et al.*, 2022). Los tratamientos con AE y extractos utilizados en esta tesis, a pesar de obtener valores promedio mayores que el control con agua, no arrojaron diferencias estadísticas. Spychalski *et al.*, (2021), al realizar aplicaciones con un derivado amida del benzotiadiazol, encontraron un aumento en el nivel de antocianinas en las plantas tratadas; sin embargo, no se observó un aumento significativo en el parámetro que describe el color rojo. Amoriello *et al.*, (2022) señalaron que la variedad Cabrillo mostró simultáneamente los valores más altos de antocianinas totales y la mayor variabilidad para este parámetro entre los diferentes períodos de cosecha, con valores máximos en primavera de 48±9, verano 27±16 y otoño 26±8 mg de cianidina 3-*O*-glucosido equivalentes/100 g PF. Estos valores son menores a los hallados en esta tesis y podría deberse a que la estabilidad de las antocianinas se ve afectada por otros factores como el pH, solventes, luz y enzimas (Ayala-Zavala *et al.*, 2004; Mohammadi *et al.*, 2021).

Gogoi et al. (2001) informaron que el primer paso del mecanismo de defensa de las plantas implica una rápida acumulación de fenoles en el sitio de infección, lo que restringe o retarda el crecimiento del patógeno. Esta propiedad podría verse reducida al final del tiempo de almacenamiento debido a la senescencia y a la descomposición. Los valores hallados para fenoles en la var. Cabrillo coinciden con lo hallado por Amoriello et al., (2022). No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos. Existen resultados contradictorios en la literatura, donde la aplicación de compuestos como quitosano puede activar la síntesis de nuevos compuestos fenólicos (Bautista-Baños et al., 2005), pero Wang & Gao (2013) hallaron para el mismo compuesto en distintas concentraciones, un retraso en el aumento de los mismos.

La protección de las células de la fruta frente al daño oxidativo, depende del nivel de enzimas antioxidantes (Petriccione *et al.*, 2015). Meyers *et al.* (2003) afirmaron que las frutillas son ricas en compuestos antioxidantes; esto se debería a la presencia de altos niveles de antocianinas como de compuestos fenólicos, cuyas acciones impactan en el desarrollo de la descomposición durante el almacenamiento (Shen *et al.*, 2013). Para su cuantificación se encontró que la prueba ABTS es la que mejor expresa la capacidad antioxidante (Ali *et al.*, 2022). En esta tesis, los valores de capacidad antioxidante coincidieron con lo encontrado para la variedad Cabrillo por Amoriello *et al.*, (2022) (no se encontraron diferencias entre los tratamientos), contrariamente a lo hallado por Abd-Elkader *et al.*, (2021), donde los frutos tratados con AE

obtuvieron diferencias en ácido ascórbico con respecto al control. Estos autores atribuyeron este aumento a las propiedades antioxidantes de los AE, lo cual reduce la difusión de oxígeno, disminuye la tasa de respiración y, por ende, la reducción en la oxidación de ácido ascórbico. Los aceites esenciales pueden inducir el sistema de defensa de las plantas, aumentando la actividad de las enzimas relacionadas con la defensa y, al menos, mejorar la capacidad antioxidante (Khumalo *et al.*, 2017). Hosseini *et al.*, (2020) en estudios similares, hallaron diferencias significativas entre el tratamiento control y los AE de *A. sativum* y *R. officinalis*.

En relación al desarrollo de la enfermedad producida por B. cinerea, se observó que el AE de P. graveolans manifestó igual comportamiento que el control con agua, mientras que el tratamiento con el extracto acetónico de P. acuminata no fue diferente a ninguno de los controles (con agua y químico). Sólo el AE de M. citrina obtuvo resultados comparables al control químico, lo que lo hace uno de los fungicidas más promisorios dentro de los que se evaluaron en esta tesis. En el ensayo de poscosecha con C. nymphae, el AE de P. graveolans obtuvo un comportamiento similar a ambos controles. Constantini et al., (2018) observaron en frutillas tratadas con quitosano, que se comportaban como las frutillas control (agua). A pesar de que en ensayos in vitro se había observado inhibición fúngica, no se observó el mismo comportamiento in situ. Las frutillas control alcanzaron una incidencia del 90% de infecciones, casi el doble que las tratadas con los compuestos antifúngicos, pero la severidad de la enfermedad fue igual en todos los tratamientos (Constantini et al., 2018). En ensayos in vivo con frutillas que se rociaron tres veces con solución de 1,4 ml/L de aceite de árbol de té (Melaleuca alternifolia), especie emparentada a M. citrina, se redujo la incidencia de pudrición natural y retrasaron la pérdida de firmeza durante el almacenamiento a 20 °C durante 5 días (Wei et al., 2018). Estos mismos autores señalan que el AE de esta especie inhibe los patógenos fúngicos al destruir la pared celular, aumentar la permeabilidad de la membrana y provocar la liberación de material celular (Li et al., 2017). Este mismo AE, en dosis crecientes, fue evaluado en la variedad San Andreas donde la aplicación redujo el desarrollo de moho gris (64% y 95%,), disminuyendo la fuerza para la penetración y provocando un color rojo en la epidermis más opaca (Alves et al., 2022). En un estudio diferente, se informó que este mismo AE de M. alternifolia, daño la membrana celular de la pudrición parda (M. fructicola) en duraznos y ayudó a controlar la enfermedad, mostrando que la aplicación de vapor de AE proporcionó efectos similares a la aplicación de contacto directo (Xu et al., 2021).

Antonioli *et al.*, (2020) desarrollaron y utilizaron nanocápsulas de ácido poliláctico biodegradable (PLA) que incluían AE de limón en su núcleo, para aplicar contra *C. acutatum* y *C. gloeosporioides*. En este último caso, los AE encapsulados mostraron lesiones de podredumbre amarga tres veces más pequeñas que los tratados con AE no encapsulados. Hosseini *et al.*, (2020) investigaron los efectos de los aceites esenciales de *Allium sativum* y *R. officinalis* contra la

antracnosis (*C. nymphaeae*) en frutos, informando que ambos aceites tenían una influencia significativa en la prevención de la antracnosis.

En el ensayo de poscosecha realizado con duraznos en esta tesis, se obtuvieron diferencias entre los tratamientos, donde el AE de *P. graveolans* a 1000 ppm (TB) arrojó diferencias significativas respecto a ambos controles. En ensayos realizados para ambos cultivos de igual interés que en esta tesis, se utilizaron cuatro tratamientos con AE que redujeron el desarrollo de enfermedades en duraznos inoculados con *R. stolonifer*. Sólo *Mentha piperita* mostró, después de 48 y 72 h de almacenamiento, un efecto continuo y significativo reduciendo la incidencia de la enfermedad en un 20% (Yan *et al.*, 2021). En ensayos con *Rosa grandiflora* se obtuvieron, a través de la aplicación del AE de *P. graveolans*, comportamientos similares al control químico (Stegmayer *et al.*, 2022a) para combatir la incidencia y severidad del moho gris en estas flores de corte.

Existen muchos ensayos donde se cuantifican las propiedades y las características organolépticas de los frutos luego de la aplicación de AE y extractos (Abd-Elkader *et al.*, 2021; Kahramanoğlu *et al.*, 2022; Kelly *et al.*, 2021; Di Liberto *et al.*, 2021). En general, las publicaciones destacan que los efectos de los AE y extractos vegetales disminuyen la gravedad de las lesiones, y en el caso de Di Liberto *et al.*, (2021), se observó retraso en la aparición de la enfermedad durante el almacenamiento como lo reportado por Kelly *et al.*, (2021) y El-fawy *et al.* (2020). Los resultados obtenidos en diferentes laboratorios son difícilmente comparables para las evaluaciones *in vivo* o poscosecha, debido a los diferentes factores que influyen en el resultado final (El Khetabi *et al.*, 2022). A su vez, los ensayos de fitopatología presentan cierto grado de dificultad debido a la manipulación de un ser vivo que va experimentando cambios a medida que pasa el tiempo; tanto los microorganismos como las plantas, son organismos vivos que interactúan con el ambiente y modifican sus comportamientos (Gally *et al.*, 2016).

# Conclusión

En el ensayo a campo con frutillas var. Cabrillo se encontraron diferencias significativas en el número de frutos para el tratamiento con extracto acetónico de *P. acuminata* respecto a Carbendazim-AE de *M. citrina*; acidez en ambos controles y color (ángulo) donde el AE de *M. citrina* se diferenció significativamente del control con agua. No hubo diferencias en el resto de los parámetros estudiados. Las razones de las diferencias se hallan en el aumento de temperatura y las reacciones de crecimiento-defensa que afectan el proceso de maduración, aumentando la AT y disminuyendo los SST. La diferencia de color se debería a reacciones de oxidación en frutillas maduras. Los ensayos en poscosecha señalan que para frutilla (var. San Andreas) el extracto de *P. acuminata* y DCM de *P. madagascariensis* para *B. cinerea* se comportaron igual al control químico. Comportamiento intermedio a ambos controles fue hallado para *P. acuminata* en los

ensayos frente a *C. nymphae*. En durazno (var. Flordaking) ninguno de los tratamientos se comportó como el control químico, alcanzando AE de *P. graveolans* valores intermedios entre ambos controles. Existe bibliografía que destaca la disminución de las lesiones y los valores no son concluyentes debido a la interacción huésped-patógeno-ambiente, necesitándose más estudios para la elucidación de la acción antifúngica. De todos modos, se puede concluir que los tratamientos con *P. acuminata*, *P. graveolens* y *M. citrina*, no afectan los parámetros de productividad y de calidad de las frutas, y ejercen una acción fitosanitaria promisoria.

# Capítulo VI: Caracterización fitoquímica de extractos fijos y aceites esenciales con la mayor capacidad antifúngica

#### Introducción

Uno de los métodos más efectivos para el manejo de enfermedades en las plantas es el control químico mediante fungicidas sintéticos (Han *et al.*, 2020). Para su adaptación ambiental y la tolerancia al estrés las plantas producen, a través de su metabolismo secundario, moléculas variables en su química y estructura, como fenoles, flavonoides, alcaloides y terpenos (Ninkuu *et al.*, 2021; Boncan *et al.*, 2020).

Los terpenos, con más de 80000 estructuras, comprenden la clase de sustancias químicas más abundante y funcionalmente más diversa presente en los organismos vivos (Zhou y Picherski, 2022; Christianson, 2017). Combinaciones de las unidades precursoras de cinco carbonos (isopreno) dan lugar a los terpenos, mientras que los terpenoides poseen un resto de oxígeno y reordenamientos estructurales adicionales (Boncan *et al.*, 2020). Todas las plantas sintetizan una gran variedad de metabolitos terpenoides que provienen de vías biosintéticas básicas; sin embargo, descubrimientos recientes han revelado variaciones en la síntesis de terpenos específicos en determinados taxones (Zhou y Picherski, 2022).

Varios factores estresantes abióticos, particularmente cuando las plantas sufren un exceso severo de energía radiante, activan la biosíntesis de flavonoides (un gran grupo de polifenoles) que actúan como amortiguadores de los niveles de especies reactivas de oxígeno y mejorando la resistencia al estrés (Zeng *et al.*, 2019; Brunetti *et al.*, 2018). Otras funciones que se le atribuyen a este grupo de moléculas son: proporcionar varios colores a las flores y otras partes de la planta, y desempeñar un papel importante en el transporte de auxina para proteger a las plantas contra el estrés abiótico y biótico (Khalid *et al.*, 2019). Los flavonoides poseen un esqueleto básico de 15

carbonos, C6-C3-C6, con dos anillos bencénicos unidos por un anillo pirano de tres carbonos que puede estar ciclado o no en el heteroátomo de oxígeno. El número y la posición de los grupos hidroxi en los anillos, influyen en la capacidad antioxidante (D'Amelia *et al.*, 2019). De la misma manera que los flavonoides, los taninos se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza y su rol tiene que ver también con foto-protección contra los rayos UV, radicales libres, defensa contra otros organismos y condiciones ambientales (Fraga-Corral *et al.*, 2021). Su función se encuentra íntimamente relacionada a la estructura química de 12 a 16 grupos fenólicos con cinco a siete anillos aromáticos capaces de unirse a una amplia gama de moléculas y actuar como captadores de electrones para atrapar iones y radicales (de Hoyos-Martinez *et al.*, 2019; Vuolo *et al.*, 2019).

Los alcaloides son productos naturales que contienen nitrógeno y derivan de varias rutas biosintéticas (Gutiérrez-Grijalva *et al.*, 2020). En una planta dada, la concentración de alcaloides puede variar ampliamente de una parte a otra, y algunas partes pueden no contener ninguno (Bribi, 2018). Generalmente, la producción de alcaloides se produce para facilitar la supervivencia de las plantas en el ecosistema, comportándose como compuestos alelopáticos (Jing *et al.*, 2014), para la protección contra los depredadores y está asociada con la formación de semillas.

Ngo et al., (2020) afirman que los productos vegetales son fuentes importantes de compuestos antifúngicos con baja toxicidad para los mamíferos y el medio ambiente y presentan escasa bioacumulación porque se degradan rápidamente en el suelo. Dichas características han ocasionado que en los últimos años la demanda de moléculas bioactivas o nano construcciones cargadas de agentes bioactivos con estas propiedades, haya aumentado considerablemente (Vallesi et al., 2020). Estos metabolitos secundarios bioactivos son fuentes importantes para la búsqueda de antifúngicos y brindan oportunidades para la producción de productos farmacéuticos (Fonmboh et al., 2020).

En el caso de extractos, se puede proceder al aislamiento de los principios activos mediante fraccionamiento bio-guiado o utilizarlos de modo estandarizado desde el punto de vista de su composición fitoquímica. Los aceites esenciales, por su naturaleza volátil, pueden ser caracterizados a través de la técnica de CG-EM (Cromatografía de Gases- Espectrometría de Masas) que a lo largo de los años ha devenido en una técnica muy robusta para este fin. Esta tesis no tuvo como objeto el aislamiento de principios activos, pero en este capítulo se presenta una caracterización cualitativa a través de la técnica CCD (Cromatografía en Capa Delgada) y utilizando diversos reveladores específicos para los tipos de compuestos mencionados arriba. Además, se presenta la caracterización química mayoritaria de los AE más activos.

#### **Materiales y Métodos**

La caracterización de los compuestos químicos se realizó a través de dos metodologías que responden a la naturaleza de las muestras. Los extractos fijos H, Ac y M como los DCM

fueron caracterizados a través de CCD, mientras que los aceites esenciales se realizaron mediante CG-EM. A continuación, se detallan las condiciones de cada una de ellas:

# Caracterización de los extractos fijos a través de Cromatografía en capa delgada (CCD)

Los extractos fijos que alcanzaron al menos una inhibición de 100% para alguno de los fitopatógenos evaluados, se analizaron por CCD empleando cromatoláminas de sílica gel tipo 60F con indicador de fluorescencia en soporte de aluminio, con un espesor de capa de 0,2 mm, de 10x10 cm de dimensiones. Como solventes eluyentes se utilizaron mezclas de hexano y acetato de etilo (proporciones 8:2, 5:5 y 2:8) con polaridad definida, actuando como eluyentes sobre la cromatolámina, permitiendo la partición diferencial de las moléculas entre el adsorbente y la fase móvil, llevando consigo la separación. Las cromatoláminas fueron observadas bajo una lámpara de luz UV a 254, 365 nm y luz visible y reveladas con diferentes reactivos de coloración para la identificación de los diferentes grupos de compuestos químicos (según reactivo):

Solución de p-anisaldehído [p-anisaldehído:H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>: ácido acético glacial: etanol 5:5:1:90 (v/v)] y posterior calentamiento con pistola de aire caliente. Se detecta la presencia de terpenos y saponinas triterpénicas, por medio de la aparición de coloraciones que variaron del azul al violeta (Wagner et al., 2011).

Reactivo de Dragendorff: se preparó una solución stock de volúmenes iguales de (1) y (2). (1) 0,85 g de nitrato de bismuto básico disuelto en 10 ml de ácido acético glacial y 40 ml de agua y (2) 8 g de yoduro de potasio disueltos en 30 ml de agua. Se mezcló 1 ml de la solución stock con 2 ml de ácido acético glacial y 10 ml de agua. La placa se roció vigorosamente y se realizó la lectura al visible. Se detecta la presencia de alcaloides cuando presenta coloración que va desde el naranja al marrón (Wagner et al., 2011).

Cloruro férrico (FeCl<sub>3</sub>): se utilizó para visualizar los fenoles (Ar-OH) y taninos con solución acuosa al 10 % y lectura al visible. Según la naturaleza química del tanino, se observan coloraciones que varían desde el azul (pirogálicos) hasta el verde (catéquicos) (Wagner et al., 2011).

*Natural Products/Polyethylene glicol (NP/PEG):* Solución metanólica al 1% de difenilboriloxietilamina y solución etanólica al 5% de polietilenglicol. Lectura al visible, 254 nm y 365 nm. Se detecta la presencia de flavonoides cuando estos se muestran en amarillo, verde o un débil azul en UV-365 (Wagner *et al.*, 2011).

# Caracterización de los perfiles químicos de los AE por CG-EM

Los aceites esenciales fueron analizados con un Cromatógrafo gaseoso Agilent modelo 7890B acoplado a un *Espectrómetro de Masas Agilent modelo 5977*, columna: HP-5MS UI (30 m x 0,25 mm con 0,25 μm de film). Las condiciones de corrida fueron las siguientes: Inyector 250 °C; temperatura de la columna: 160 °C mantenido por 3 min llevado a 5 °C/min hasta 30 °C;

tiempo de corrida: 31 min. Espectrómetro de Masas: full SCAN: 50-400, volumen de inyección: 1 μl- Split: 1:20. Para identificar los principales componentes, se compararon los espectros de masas de los picos más abundantes con la base de datos que dispone el equipo [Biblioteca de Espectro de Masas del NIST (*The NIST Mass Spectral Search Program for the NIST/EPA/NIH Mass Spectra Library versión 2.0 Build*). Los aceites esenciales se caracterizaron de acuerdo a la presencia de compuestos que representen más del 1% de su composición. Los cromatogramas obtenidos de los 11 aceites esenciales analizados, se encuentran en Anexo III.

#### Resultados

#### CCD: Extractos fijos

En tabla 22 se muestran los extractos que resultaron positivos con los diferentes reveladores. Los registros de las CCD se encuentran en anexo III. A continuación, se describen los resultados con cada revelador y la fase móvil utilizada (proporción hexano y acetato de etilo) en la que fueron detectados:

# Utilizando reactivo de p-anisaldehído como revelador

La reacción resultó positiva para: Ac de *A. inulaefolium* hj (5:5), Ac de *F. officinalis* (8:2), H de *R. rugosum* fl (5:5), H de *S. americanus* fl (5:5), H de *S. californicus* rz (5:5), H de *P. acuminata* (5:5) y H de *P. neochilus* (5:5).

# Utilizando reactivo de Dragendorff como revelador

La reacción resultó positiva para: Ac de *A. inulaefolium* hj (8:2), H de *P. acuminata* (8:2), DCM de *P. madagascariensis* (8:2, 5:5, 2:8), H de *P. madagascariensis* (2:8), DCM de *P. neochilus* (2:8), H de *P. neochilus* (5:5).

#### Utilizando FeCl<sub>3</sub> como revelador

La reacción resultó positiva para: Ac de *A. inulaefolium* hj (5:5), H de *R. rugosum* fl (5:5; 2:8), H de *S. californicus* rz (5:5; 2:8), H de *P. acuminata* (5:5; 2:8), DCM de *P. madagascariensis* (2:8), H de *P. madagascariensis* (2:8), H de *P. neochilus* (5:5; 2:8).

#### Utilizando reactivo NP/PEG como revelador

La reacción resultó positiva para: MeOH de *R. rugosum* fl (2:8), H de *S. americanus* fl (2:8), H de *S. californicus* rz (8:2,5:5; 2:8), Ac de *F. officinalis* (2:8) y H de *P. neochilus* (2:8).

**Tabla 22**. Extractos que fueron revelados con p-Anisaldehido (terpenos y saponinas triterpénicas), Dragendorff (alcaloides), FeCl<sub>3</sub> (taninos y fenoles) y NP-PEG (flavonoides) con eluyentes hexano y acetato de etilo en proporciones (8:2, 5:5 y 2:8).

Reveladores

p- Anisaldehido Dragendorff FeCl $_3$  NP/PEG Tipo de compuesto que revelan

Extracto	Terpenos y saponinas triterpénicas	Alcaloides	Taninos	Flavonoides
MeOH de A. majus		-	-	-
Ac de A. inulaefolium hj	+	+	+	-
MeOH de A. inulaefolium hj	-	-	-	-
MeOH de B. salicifolia	-	-	-	-
MeOH de E. plantagineum pa	-	-	-	-
Ac de E. plantagineum fl	-	-	-	-
MeOH de R. rugosum pa	-	-	-	-
H de R. rugosum fl	+	-	+	-
MeOH de R. rugosum fl	-	-	-	+
H de S. americanus fl	+	-	-	+
MeOH de S. americanus fl	-	-	-	-
H de S. californicus rz	+	-	+	+
Ac de S. californicus rz	-	-	-	-
Ac de F. officinalis	+	-	-	+
H de P. acuminata	+	+	+	-
DCM de P. madagascariensis	-	+	+	-
H de P. madagascariensis	-	+	+	-
DCM de P. neochilus	-	+	-	-
H de P. neochilus	+	+	+	+

#### CG-EM: Aceites esenciales

En lo que refiere al análisis de los cromatogramas (que se encuentran en Anexo III) obtenidos mediante CG-EM, se pudo determinar que:

AE Pg: el aceite de geranio se caracterizó por la presencia de geraniol (24,89%), citronelol (19,5%),  $\beta$ -linalol (10,92%),  $\gamma$ -eudesmol (8,93%), formiato de citronelilo (6,30%), isomentona (3,73%), tiglato de geranilo (3,3%), D-germacreno (2,55%) y formiato de geranilo (2,14%), representando el 82,26% del total de la composición del aceite esencial.

AE Mc: se detectó la presencia de cineol (46,58%),  $\alpha$ -pineno (23,79%),  $\alpha$ -terpinol (6,38%), L-pinocarveol (4,47%), 3-dodecil-2,5-furandiona (3,7%), 6-isopropenil-3-metoxi-3-metilciclohexeno (1,22%) y pinocarvona (1,12%); que en total representaron el 87,26%.

AE MI: el contenido de cineol (72,71%),  $\alpha$ -terpinol (7,89%),  $\alpha$ -pineno (5,01%), terpinen-4-ol (2,8%),  $\beta$ -pineno (4,81%) representaron el 93,22% del total de la composición del aceite esencial.

AE Ml.var.l: el aceite esencial de *M. linearis* var. *linearis* se caracterizó por la presencia de cineol (66,26%),  $\alpha$ -terpinol (13,17%),  $\alpha$ -pineno (3,94%),  $\beta$ -pineno (3,94%), y %), terpinen-4-ol (2,85%), que representaron el 93,16% del total de la composición de este aceite esencial.

AE La: el aceite esencial de salvia morada se caracterizó por la presencia de  $\beta$ -linalol (26,72%), trans-dihidrocarvona (16,29%), cineol (9,28%), dihidrocarvona (6,19%),  $\alpha$ -citral

(4,58%),  $\beta$ -citral (3,51%), cariofileno (2,41%) y óxido de cariofileno (2,19%). Los compuestos que se hallaron en el rango de 1% al 2% fueron sabineno (1,2%) y 1-octen-3-ol (1,14%). Todos los compuestos contabilizaron el 74,05%.

AE Lt: el contenido de (-)-carvona (58,23%), D-limoneno (27,72%), cariofileno (2,48%), cis carvil acetato (2,25%), ester cis-lachnophyllum (1,9%), metil eugenol (1,66%),  $\alpha$ -terpinol (1,64%), cis-carveol (1,61%), representaron el 97,49% del total de la composición de este aceite esencial.

AE Bs: se detectó la presencia de shyobunona (33,55%), isoshyobunona (10,48%), D-limoneno (8,07%),  $\alpha$ -cadinol (4,82%), isocalamendiol (4,28%), 6-epi-shyobunol (3,59%), hidroxiéter widdrol (3,38%), t-muurolol (2,86%),  $\delta$ -cadineno (2,08%), germacreno D-4-ol (1,64%), acetato de bornilo (1,56%), cariofileno (1,4%), espatulenol (1,29%); que en total representaron el 79%.

AE Bf: el aceite de *B. frenguellii* se caracterizó por la presencia de espatulenol (14,93%), E-nerolidol (13,7%), viridiflorol (6,91 %),  $\beta$ -pineno (5,88%),  $\gamma$ -gurjunenepoxido (5,59%), elixeno (4%), D-limoneno (3,99%),  $\alpha$ -cadinol (2,58%), epóxido Iso aromadendreno (2,51%), cariofileno (2,46%),  $\delta$ -cadineno (2,31%), t-cadinol (2,13%). Entre los compuestos que presentaron abundancia entre 1 y 2% se encontró óxido de Ledeno (II) (1,69%),  $\beta$ -cubebeno (1,55%) e dihidrocinamato de etilo (1,52%). El total de estos compuestos representaron el 62,98%.

AE Cb.var.ang: se detectó la presencia de  $\beta$ -ocimeno (16,49%), D-germacreno (14,73%), D-limoneno (10,15%), (E)- $\beta$ -farnesano (9,31%), ester cis-lachnophyllum (3,8%), elixeno (3,52%), (-)-espatulenol (2,45%), cariofileno (2,37%),  $\beta$ -elemeno (1,76%), 1-naftalenol-4-metoxi (1,76%), fitol (1,61%), y  $\alpha$ -cadinol (1,17%). Todos los compuestos contabilizaron el 69,12%.

AE Cb.var.bon: el contenido de D-limoneno (16,13%), D-germacreno (15,69%), (E)- $\beta$ -farneseno (12,07%), ester cis-lachnophyllum (10,44%), elixeno (6,38%),  $\beta$ -ocimeno (6,13%) cariofileno (5,56%), fitol (1,38%),  $\alpha$ -cadinol (1,11%),  $\beta$ -pineno (1,87%),  $\delta$ -cadineno (1,48%), E-nerolidol (1,46%),  $\beta$ -cubebeno (1,11%) representaron el 73,52% del total de la composición de este aceite esencial.

AE Cs: el aceite esencial de *C. sumatrensis* se caracterizó por la presencia de D-limoneno (29,95%), D-germacreno (9,08%),  $\beta$ -ocimeno (7,7%), (E)- $\beta$ -farneseno (7,03%), (-)- $\beta$ -pineno (5,25%), cariofileno (4,38%), (-)-espatulenol (3,45%),  $\gamma$ -elemeno (3,27%), ester cislachnophyllum (2,79%), E-nerolidol (2,69%), óxido de cariofileno (1,7%),  $\alpha$ -farneseno (1,24%),  $\gamma$ -cadinol (1,12%). La suma de estos componentes contabilizó el 79,65%.

AE Da: el contenido de (+)-4-careno (48,73%), timol (13,99%), terpinoleno (11,13%), carvacrol (8,68%),  $\beta$ -cimeno (6,61%), representaron el 89,14% del total de la composición de este aceite esencial.

AE Ln: el aceite esencial de laurel se caracterizó por la presencia de cineol (29,77%), acetato de  $\alpha$ -terpinol (15,17%), metil eugenol (13,22%),  $\beta$ -linalool (11,33%),  $\alpha$ -terpineol (6,48%), (-)-terpinen-4-ol (4,44%),  $\beta$ -felandreno (3,21%), eugenol (2,24%),  $\beta$ -pineno (1,36%), espatuleno (1,05%) y  $\alpha$ -pineno (1,01%), que representaron el 89,28% del total de la composición de este aceite esencial.

# Discusión

La formación de metabolitos secundarios es el resultado de la evolución de millones de años de interacción de la planta con los patógenos, cuya producción es costosa para su crecimiento y reproducción (Zaynab et al., 2018). Por ello, existe una mayor concentración en situaciones de estrés, explicado por el desarrollo de una defensa inducida (Harvell y Tollrian, 1999). Los extractos fijos evaluados en esta tesis y que lograron al menos una inhibición del 100% para alguno de los hongos del panel, presentaron las siguientes proporciones en referencia a los grupos de compuestos analizados: el 26,3% resultaron positivos al revelado de flavonoides, el 36,8% al de terpenos y/o saponinas triterpénicas, el 31,5% al de alcaloides y el 15% al de taninos/polifenoles. Muchos extractos no arrojaron reacciones positivas frente a los distintos reveladores, en un futuro se deberán utilizar reveladores específicos en especies emparentadas para develar su naturaleza. Hernández et al., (2009) planteó serias discrepancias sobre la relevancia de los flavonoides como antioxidante, ya que los radicales flavonoides no se han detectado en la gran mayoría de las investigaciones (Zeng et al., 2019). Estudios actuales muestran que la aparición de productos de oxidación de flavonoides puede ser transitoria y que depende, en gran medida, de la gravedad del estrés (Agati et al., 2021). Además, el contenido de taninos en la naturaleza, que también poseen capacidad antioxidante, depende de varios aspectos como la parte de la planta, la especie considerada, la estación del año y condiciones ambiental (de Hoyos-Martinez et al., 2019).

El Ac de *A. inulaefolium* hj fue positivo en CCD para terpenos y saponinas triterpénicas, alcaloides y taninos mientras que la extracción metanólica arrojó resultados negativos para estos grupos de compuestos. Estos hallazgos coinciden con lo hallado por Mosquera *et al.*, (1985), Triana *et al.*, (1995) y Lancelle *et al.*, (2009) donde se aislaron flavonoides y norlabdanos; y este último autor demostró la capacidad insecticida atribuyéndola al monoterpeno limoneno.

Por su parte, el H de *R. rugosum* fl resultó positivo para terpenos y saponinas triterpénicas y también para taninos; mientras que el MeOH de *R. rugosum* fl, lo fue para flavonoides. La caracterización del AE obtenido de las flores de esta especie mostró que estaba formado por apocarotenoides en un 28,7%, seguido de compuestos de azufre y nitrógeno (16,8%), sesquiterpenos oxigenados (8,3%) y monoterpenos oxigenados (3,5%) (Hichri *et al.*, 2019). La actividad microbiana desarrollada en ensayos antifúngicos con AE por Hichri *et al.*, (2019) estaría dada por la presencia de altos porcentajes de compuestos nitrogenados e isotiocianato. Los

resultados de esta tesis coinciden, además, con trabajos previos del mismo autor donde manifiesta que la mayor actividad inhibidora de la acetilcolinesterasa fue exhibida por los extractos crudos de las flores (Amel *et al.*, 2013). Análisis del AE de la parte aérea de *S. americanus* demuestran la presencia de ptolualdehído, alcohol cuminílico, (4-metil-pent-3-etil)-ciclohexeno-1-carboxaldehído, 3,4-ditertbutilfenol y heptadecano (Modi *et al.*, 1974). En esta tesis se reporta la presencia de flavonoides en el extracto hexánico de sus flores.

En el extracto H de *S. californicus* rz se hallaron terpenos, saponinas triterpénicas, taninos y flavonoides que son coincidente con lo detectado por Barrientos *et al.*, (2014); pero a diferencia de este autor, no se detectaron cumarinas como lo expresa en la investigación realizada.

El extracto Ac de *F. officinalis* presentó los mismos tipos de compuesto que el extracto anterior, salvo taninos. Diversos autores atribuyen la capacidad antifúngica de esta especie, al efecto sinérgico del ácido cafeico y del polifenol ácido rosmarínico (Ivanov *et al.*, 2014; Stanojević *et al.*, 2018). Sajjad *et al.* (2015) reportaron, además, alcaloides que no fueron hallados en nuestros ensayos.

El H de *P. acuminata* resultó positivo para terpenos, saponinas triterpénicas, alcaloides y taninos. Reportes previos señalan la presencia de fenilpropanoides, acetofenonas, chalconas, cumarinas, flavonoides, sesquiterpenoides, entre otros. En este último grupo se han identificado drimenol, confertifolina, isopoligodial y poligodial (Derita y Zacchino, 2011a; Derita y Zacchino, 2011b; Derita *et al.*, 2009). Este último compuesto sería el responsable de la actividad antifúngica exhibida en *B. cinerea* y *M. fructicola* (Di Liberto *et al.*, 2021).

Los extractos DCM y H de *P. madagascariensis* resultaron positivos para alcaloides y taninos. Se hallaron diferencias en el comportamiento de los extractos DCM y H entre *P. madagascariensis* y *P. neochilus*. El extracto hexánico resultó positivo para todos los reveladores, mientras que el DCM solo lo fue para alcaloides. El ácido rosmarínico es el compuesto principal en los extractos del género *Plectranthus*, y la actividad inhibidora de acetilcolinesterasa exhibida por los mismos está en correlación con su contenido (Falé *et al.*, 2011). Sin embargo, esto no coincide por lo reportado por Ascensão *et al.*, (1998) y Grayer *et al.*, (2003), quienes atribuyeron su capacidad antifúngica a dos compuestos fenólicos no flavonoides derivados del ácido caféico.

El AE de P. graveolans se caracterizó por la presencia de monoterpenos oxigenados como geraniol (24,89%), citronelol (19,5%),  $\beta$ -linalol (10,92%),  $\gamma$ -eudesmol (8,93%), entre otros. La fracción principal de citronelol (35,2%) y geraniol (28,8%) del aceite, coincide con lo hallado por otros autores (Bouzenna y Krichen, 2013; Rana et~al., 2002; Babu y Kaul, 2005), aunque se obtuvo con menor rendimiento que lo expresado por ellos. El geraniol presentó actividad sinérgica cuando se combinó con cloranfenicol, norfloxacina y tetraciclina contra K. pneumoniae, P. mirabilis, P. aeruginosa y S. aureus (Lira et~al., 2020). El citronelol, que sólo se diferencia del

geraniol por tener un doble enlace en su estructura, también demostró acción antifúngica, inhibiendo la germinación de conidios y la producción de micelios (Pereira *et al.*, 2015).

Las tres especies de Melaleuca abordadas en esta tesis presentaron diferentes porcentajes de 1,8-cineol, como compuesto principal y  $\alpha$ -pineno,  $\alpha$ -terpinol, (-)-4-terpineol, entre otros. El contenido de aceites esenciales en las plantas suele verse afectado por el momento y la estación de la cosecha, entre otras condiciones (Gad et al., 2015). Autores proponen que este género, podría utilizarse como base para la identificación y ser fuentes de 1,8-cineol, metil eugenol y terpinen-4-ol (Farag et al., 2004; Gad et al., 2015). Al mismo tiempo, está demostrado que el 1,8cineol alivia las respuestas inflamatorias y el estrés oxidativo principalmente a través de la vía de señalización del factor nuclear kappa (BNF-jB) y el factor nuclear eritroide-2 (Nrf2); pero en lo que respecta a la actividad antimicrobiana del 1,8-cineol en solitario, no es tan efectiva como la de los aceites esenciales donde está presente, debido a los efectos sinérgicos de los compuestos en la mezcla (Cai *et al.*, 2021). Con respecto a terpineol, hay cuatro isómeros: α, β, γ-terpineol y terpinen-4-ol, que se originan a través de una ruta alternativa del limoneno con un 76% de selectividad (Yuasa et al., 2006). En un estudio realizado con estos compuestos aislados, el terpinen-4-ol presentó la mayor actividad antifúngica y luego, en orden decreciente, el  $\alpha$ terpineol, el terpinoleno y el 1,8-cineol (Yu et al., 2015). Las diversas proporciones de estos compuestos en las tres especies explicarían las diferencias en la actividad antifúngica encontradas en los ensayos in vitro en esta tesis.

El análisis químico del aceite de *L. alba* demostró la presencia de β-linalol (26,72%), trans-dihidrocarvona (16,29%) y 1,8-cineol (9,28%), mientras que para el aceite de *L. turbinata* sus componentes principales fueron: (-)-carvona (58,23%), D-limoneno (27,72%) y cariofileno (2,48%). Uno de los principales usos del D-limoneno, disponible a bajo costo en la producción de cítricos, es la de ser precursor químico de S-(+)-carvona (Trytrek y Fiedurek, 2002). Un estudio reveló que ambos isómeros ópticos de la carvona, aislados del aceite de *Mentha spicata* y *Anethum sowa*, eran activos frente a un amplio espectro de bacterias y hongos patógenos (Aggarwal *et al.*, 2002). De acuerdo a lo hallado, el AE de *L. alba* pertenece a la variedad del tipo santafecina (Blanco *et al.*, 2013). Los resultados de actividad fungicida *in vitro* para *L. alba* confirman lo publicado por diferentes autores en cuanto a la variedad de microorganismos que son inactivados por este producto botánico Rao *et al.*, (2000), Shukla *et al.*, (2009), de Oliveira *et al.*, (2006) y De Oliviera Arruda *et al.*, (2019). La actividad antifúngica frente a patógenos de fruta se reporta por primera vez en esta tesis para *L. turbinata* (Stegmayer *et al.*, 2021).

En el aceite esencial de B. salicifolia se detectó la presencia de shiobunona, isoshiobunona, D-limoneno; mientras que en el de B. freguellii se observó la presencia de espatulenol, E-nerolidol, viridiflorol,  $\beta$ -pineno y D-limoneno, entre otros. Esta composición coincide con la hallada en la bibliografía, donde se señalan como metabolitos secundarios

comunes los derivados de clerodano y labdano, junto con otras moléculas bioactivas como flavonoides y sesquiterpenos (Carrizo *et al.*, 2009; Malizia *et al.*, 2005; Martinez *et al.*, 2005). Sin embargo, los diversos autores caracterizan los AE, pero no afirman cuales serían los compuestos de la mezcla que exhibirían la actividad antifúngica. Peres de Carvalho *et al.*, (2016) mostraron que los sesquiterpenoides serían los que poseen selectividad contra especies fúngicas y contra líneas celulares de cáncer.

El género Conyza, es muy rico en terpenoides como clerodanos, sesquiterpenos y diterpenos como lo hallado en los tres AE del género evaluados en esta tesis (Mata *et al.*, 1997; Zdero *et al.*, 1990; Bohlmann y Wegner, 1982). En AE Cb.var.ang la composición de los sesquiterpenos alcanzó el 72,3%, en AE Cb.var.bon el 74,89% y en AE Cs el 80,95%, valores mayores a los reportados por Thabit *et al.*, (2014). Di Liberto (2021), en ensayos bioautográficos con patrones puros, comprobó que en el extracto acetónico de *C. bonariensis* var. *bonariensis*, el D-limoneno sería uno de los compuestos responsables de la actividad antifúngica, lo que explicaría la diversa respuesta de bioactividades contra el panel de hongos evaluados de esta tesis.

La composición hallada en el AE de *D. ambrosoides* difiere de lo encontrado por diversos autores que señalan que su principal componente medicinal es el monoterpeno ascaridol (Alonso y Demachellier, 2005; Torres *et al.*, 2008). Se sabe que la proporción en la planta puede variar según su origen geográfico (Bera *et al.*, 1991; Bourgeois *et al.*, 1989). En este sentido, nuestro AE no coincidiría con la clasificación realizada por Chu *et al.*, (2011) que sitúa según la región aquellas con mayor contenido en ascaridol. Señalan, además, que este compuesto es un componente principal en el aceite esencial de *D. ambrosioides* var *anthelminticum*, mientras que el aceite de *D. ambrosioides* var. *ambrosioides* tiene un bajo contenido de ascaridol. En ensayos bioautográficos hallaron que un aceite con la siguiente composición: α-terpineno (0,4%), *p* - cimeno (1,0%), (Z)-ascaridol (95,6%) y (E)-ascaridol (3,0%) a la concentración de 0,1% inhibió completamente el crecimiento de *Aspergillus flavus*, *A. glaucus*, *A. ochraceous*, *A. niger*, *Fusarium semitectum*, *F. oxysporum*, *C. gloeosporioides* y *C. musae* (Jardim *et al.*, 2010).

El aceite esencial de laurel (AE Ln) se caracterizó por la presencia de 1,8-cineol, acetato de  $\alpha$ -terpinol, metileugenol y  $\beta$ -linalool entre otros compuestos. Esto coincide con diversos autores que caracterizaron dicho aceite (Hurrel *et al.*, 2008; Simić *et al.*, 2004; Baratta *et al.*, 1998). Estudios realizados en *Candida* sp. atribuyen al metileugenol y eugenol la acción antifúngica, afirmando que el primero de ellos sería un agente sinérgico potenciador y prometedor (Peixoto *et al.*, 2017).

#### Conclusión

Los metabolitos secundarios son el resultado de millones de años de evolución entre las plantas y el entorno. Se hallaron alcaloides, flavonoides, terpenos, saponinas terpénicas y taninos

en el 25% de los que extractos que inhibieron totalmente al menos a un patógeno del panel estudiado. La caracterización de los AE arrojó los porcentajes de los distintos compuestos que produjeron inhibiciones, entre los que se destaca el D-limoneno, 1,8-cineol, isómeros de terpineol y geraniol como los principales agentes antifúngicos. Se hallaron variaciones respecto a la bibliografía en referencia a los porcentajes de los principales componentes de los AE cuyas causas subyacen en el origen, es decir, el ambiente, la colecta, el organismo vivo (estado fenológico) y las interacciones entre los factores anteriormente mencionados.

# DISCUSIÓN GENERAL

Las frutas poseen características que las hacen susceptibles al deterioro poscosecha causada a nivel mundial por hongos (Almeida *et al.*, 2019; Belay *et al.*, 2019; Singh y Sharma, 2018). En países en vías de desarrollo como Argentina, la pérdida excede el 50% y para su reducción se aplican principalmente fungicidas (Eckert y Ogawa, 1985; Priyadarshi *et al.*, 2020; Tripathi y Dubey, 2004). El riesgo toxicológico asociado a los fungicidas de síntesis química, residuos en los alimentos, tendencias del consumo y las nuevas legislaciones, limitan y, en algunos casos, se prohibe su uso (Lastochkina *et al.*, 2019; Mac Loughlin *et al.*, 2017; Wisniewski *et al.*, 2016).

La frutilla es un producto de corta vida poscosecha, pero con un creciente mercado en los países desarrollados del hemisferio norte, ocupando nichos de muy buen poder adquisitivo (Pagani, 2011). Lo hallado en esta tesis muestra que la producción mundial se encuentra en aumento y que la producción nacional no posee incidencia sobre la primera, con un total aportado mínimo; pero la posibilidad de producir en contra estación es una capacidad comparativa de ser aprovechada. El durazno es uno de los principales frutales industrializables por su característica de sabor, aroma y apetecibilidad con una vida poscosecha de 5 a 7 días (Africano *et al.*, 2016; Franco, 2013; Pan *et al.*, 2014). Lo hallado en esta investigación muestra que la mayoría de los varietales ingresados al MCBA se encuentran sin especificar, pero a nivel internacional nuestro país es uno de los principales productores. Estadísticas actuales de ambos cultivos indican que la provincia de Santa Fe posee condiciones para su producción, y son la razón de las economías regionales que en ella se desarrollan.

Los hongos se encuentran en diversas condiciones ambientales y su identificación es necesaria para informar y predecir la evolución de los mismos (Alsohaili y Bani-Hasan, 2018 Raja *et al.*, 2017; Sudhakar *et al.*, 2013; Blackwell 2011; Schmitt y Barker, 2009). Se obtuvieron

cepas monospóricas a partir de frutas enfermas que se identificaron y posteriormente se depositaron en ceparios. La identificación molecular de *B. cinerea*, *M. fructicola*, *F. hainanense*, *R. stolonifer* y *C. nymphae* fue coincidente con la morfológica, y en el caso de *Colletotrichum* proveyó la identificación dentro del complejo. La búsqueda bibliográfica arrojó que sólo se realizan medidas preventivas para el control de *R. stolonifer* y *F. hainanense*. El inadecuado uso de fungicidas con único sitio de acción ocasionó la disminución de los principios activos disponibles para el control de los hongos de poscosecha en frutilla y durazno. Para *Colletotrichum* sp. existen pocos principios activos para su control, debido a que su ciclo se acelera en primavera y esto ocasiona que los frutos se cosechen sin tener los LMR por debajo de lo permitido. La problemática hace de su control un desafío y se agudiza debido a los casos de resistencia, la falta de medidas preventivas y culturales, estrictas regulaciones de importación y el cambio climático.

Las plantas poseen metabolitos que son diversos, funcionales y les sirven para protegerse a sí mismas de patógenos fúngicos o condiciones adversas (Dekebo, 2019; Saajena *et al.*, 2019; Santra & Banerjee, 2020). No se han descubierto completamente todos los compuestos biológicos útiles, pero la etnobotánica como la etnofarmacología son herramientas efectivas para su exploración (El Khetabi *et al.*, 2022; Saajena *et al.*, 2019; Santra & Banerjee, 2020; Matrose *et al.*, 2021). En esta tesis se realizaron fichas descriptivas de 30 especies de base etnobotánica y se obtuvieron 52 extractos, utilizando solventes de distintas polaridades, y 15 aceites esenciales.

Ensayos *in vitro* mostraron que los patógenos estudiados fueron inhibidos por al menos un extracto vegetal, donde se demostró la baja sensibilidad de *C. nymphae*, seguido por *B. cinerea* y *M. fructicola*. Los AE demostraron un mejor desempeño que los extractos fijos y lograron mayores inhibiciones respecto a los extractos, y mostraron además que *F. hainanense* fue el patógeno de más difícil control. En el otro extremo, los patógenos más susceptibles a los AE, fueron *M. fructicola* y *R. stolonifer*.

En el ensayo a campo con frutillas var. Cabrillo utilizando tres AE y un extracto, se encontraron diferencias significativas en el número de frutos y color (ángulo). Los ensayos en poscosecha para *B. cinerea* en frutilla (var. San Andreas) demostraron que dos extractos (*P. acuminata* y *P. madagascariensis*) se comportaron igual al control químico, pero no ocurrió lo mismo para el patógeno *C. nymphae*. En durazno (var. Flordaking) ninguno de los tratamientos se comportó como el control químico, siendo el AE de *P. graveolens* el que mayor eficiencia fungicida logró. Autores como Constantini *et al.*, (2018), Wei *et al.*, (2018) y Antonioli *et al.*, (2020) hallaron también una disminución en el tamaño de las lesiones con la aplicación de AE y extractos.

Los productos naturales brindan oportunidades para la producción de productos farmacéuticos y agroquímicos (Fonmboh *et al.*, 2020). Se procedió a la caracterización

fitoquímica de los extractos por CCD y de los AE por CG-EM. Se hallaron alcaloides, flavonoides, terpenos, saponinas terpénicas y taninos en el 25% de los que extractos que inhibieron totalmente al menos a un patógeno del panel estudiado. La caracterización de los AE arrojó los porcentajes de los distintos compuestos que produjeron inhibiciones, donde se hallaron variaciones respecto a la bibliografía. Según los resultados hallados en este trabajo, se logró demostrar la hipótesis de que los productos naturales poseen una acción fitosanitaria promisoria con posibilidad de aislamiento y elucidación de nuevas moléculas antifúngicas.

# **ANEXO I Especies vegetales**

# 1. Dysphania ambrosioides (L.) Mosyakin & Clemants. (Amarantaceae)

Nombres vulgares: American wormseed, Jerusalem-tea, Mexican-tea, Spanish, wormseed, Mintina, nitna, ambroisie du Mexique, mexikanischer Tee, wohlriechender Gänsefuß, Wurmsamen, erva-de-Santa-Maria, ambrósia, ambrósia-do-México, anserina-vermífuga, ereva-mata-pulga, erva-das-lombrigas, erva-de-bicho, erva-formigueira, mastruço, menstruço, apazote, apozote, epazote, hierba hormiguera, pazote, paico, citronmålla, naemsaemyeongaju (USDA, 2019).

Hierba perenne, aromática, originaria de América, naturalizada en las regiones templadas de casi todo el mundo (Figura 1) (Giusti, 1997). Habita en todo el territorio nacional desde Río negro hacia el norte. Frecuente en suelos modificados, fértiles y húmedos (Alonso y Demachellier, 2005). Es una especie anual, de emergencia primaveral temprana, vegetación primaveral y estival y fructifica en período estival (RIAN, 2019). Dentro de sus usos se realiza la decocción de la raíz y de los frutos en tomas que facilita la expulsión de parásitos intestinales (Kliks, 1985). Con las hojas y frutos se preparan infusiones o cocimientos con fines digestivos, antihelmínticos, estimulantes y sudoríficos (Eyssartier et al., 2009; Navone et al., 2004). En la zona del noroeste se utiliza para tratar el "empacho" y los parásitos en los niños, haciendo beber una infusión caliente tomada durante las comidas (o incorporada a la mamadera) durante tres días (Campos-Navarro y Scarpa, 2013). En otras regiones de América del Sur también se emplea el paico con fines medicinales (Alonso y Demachellier, 2005). En diferentes partes de la planta se reportaron los siguientes compuestos: saponinas (planta entera), ácido tartárico y ácido succínico (partes aéreas), ácido cítrico, ácido salicílico, quercetina, kaempferol rhamnósido, anetol y santonina (frutos), heterósidos triterpénicos, ambrósido, betaína, chenopodiósidos (Ahmed, 2000; Bandoni et al., 1976). El aceite esencial extraído de las hojas e inflorescencias contiene hasta un 0,35% mientras que en los frutos la concentración oscila entre 0,6 y 3% en su principal componente medicinal: el monoterpeno ascaridol (Alonso y Demachellier, 2005; Torres et al., 2008). La proporción en la planta puede variar según su origen geográfico. También presenta: mirceno, felandreno,  $\alpha$ -terpineno,  $\alpha$ -terpineol, p-cimeno, limoneno, alcanfor, aritasona, safrol,  $\delta$ -3-careno, N-docosano, N-entriacontano, N-heptacosano, N-octacosano,  $\alpha$  y  $\beta$ -pineno, methadieno, metilsalicilato y  $\delta$  -terpineol. En general, todos estos monoterpenos están asociados a pequeñas cantidades de alcanos ya sea de salicilato de metilo o de ácido butírico (Bera et al., 1991; Bourgeois et al., 1989). Diferentes ensayos evidenciaron que los extractos totales de paico poseen acción antimicrobiana frente a P. aeruginosa y S. aureus (Ross et al., 1980). El extracto acetónico de paico demostró in vitro actividad inhibitoria frente a un tipo de cepa resistente de Mycobacterium tuberculosis, en una concentración de 0,1 mg/ml (Lall y Meyer, 1989). Un ensayo in vitro con el aceite esencial también demostró actividad fungitóxica frente a Trichophyton rubrum y Microsporum gypseum y otros dermatofitos de importancia (Prasad et al., 2010; Kishore et al., 1996). Ensayos realizados por Jardim et al., (2008) demostraron una inhibición de Aspergillus flavus, A. glaucus, A. niger, A. ochraceous, Colletotrichum gloesporioides, C. musae, Fusarium oxysporum y F. semitectum, patógenos de cultivo y de poscosecha (Jardim et al., 2008). Por otra parte, un ensayo realizado con el aceite esencial en fase vapor inhibió un 100% la reproducción de Phyllosticta citricarpae en frutas cítricas que presentaban lesiones por dicho patógeno y por otros hongos contaminantes comunes de la fruta tales como C. gloeosporioides y Fusarium sp. (Faggiani y Guimaraens, 2016).



**Figura** 1. *Dysphania ambrosioides*. **A**. Vista general de la planta. **B**. Inflorescencia. **C.** Detalle de las hojas. Escala A. 10 cm. B. 1 cm. C. 1 cm

# 2. Ammi majus L. (Apiaceae)

Nombre vulgar: Falsa viznaga, Apio cimarrón, bishop's-weed, Bullwort, false bishop's-weed, greater ammi, laceflower, lady's-lace, khillah, ammi élevé, Bischofskraut, große Knorpelmöhre, großes Ammei, rizzomolo, visnaga maggiore, âmio-maior, bisnaguinha-do-campo, cicuta-negra, ameo bastardo, ameo mayor, slöjsilja (USDA, 2019).

Hierba anual, originaria de la región mediterránea del viejo mundo, difundida como malezas en muchas otras partes; en la Mesopotamia argentina, llega más al norte que *A. viznaga*, pero es menos común (Burkart y Bacigalupo, 2005). Anual, de emergencia otoñal, vegetación invernal y primaveral y floración primaveral tardía y estival (Figura 2) (RIAN, 2019). Su uso tradicional abarca el tratamiento de vitíligo, lepra, infecciones del tracto urinario, úlceras en boca entre otras (Al-Hadhrami *et al.*, 2016; Al-Snafi, 2013, Magdum y Kumar, 2013; Elgamal *et al.*, 1993).

La familia a la cual pertenece se destaca por ser una de las fuentes principales de cumarinas al igual que las familias Umbelliferae, Rutaceae, Fabaceae y Compositae (Sardari *et al.*, 2000). Los constituyentes principales de *A. majus* son las furanocumarinas, que incluyen la xantotoxina (metoxsaleno, 8-methoxypsoralen, ammoidin, hasta 1,15%), imperatorina (ammidina, hasta 0,75%) y bergapten (heraclin, majudin, 5-methoxypsoralen, hasta 1,88%), marmesina 0,25%, isoimperatorina 0,01%, heraclenina 0,07% y isopimpinelina 0,01% (Al-Snafi, 2013). Estos componentes pueden variar según el estado de plántulas con frutos verdes inmaduros, los de mayor proporción de xantotoxina (Pande *et al.*, 2002).

Se ha demostrado que las furanocumarinas son activadas con la luz solar y presentan capacidad bactericida, funguicida, insecticida, molusquicida, anticoagulante, antiparasitario, anticancerígeno, fotodinámico, antialérgicas y viricida (Al-Snafi, 2013). Al-Hadhrami *et al.*, (2016) evaluaron distintas concentraciones de diferentes tipos de extractos contra *S. aureus, E. coli, Haemophilus influenzae* y *Proteus* spp resultando en una inhibición y en una evaluación citotóxica con resultados promisorios. Se probó el extracto metanólico contra *F. oxysporum, F. verticillioides, Penicillium expansum, P. brevicompactum, A. flavus* y *A. fumigatus*, siendo significativa su inhibición con una MIC<sub>50</sub> (CI<sub>95</sub>) mayor a 2 mg mL<sup>-1</sup> (Zabka *et al.*, 2011).







**Figura 2.** *Ammi majus.* **A.** Vista general de la planta. **B.** Inflorescencia. **C.** Frutos inmaduros. Escala A. 10 cm. B. 1 cm. C. 1 cm

# 3. Austroeupatorium inulifolium (Kunth) R.M. King & H. Rob. (Asteraceae)

Nombre vulgar: Chilca de olor, L'uashitók-olé. Especie nativa del sur de América del sur. Se distribuye en la Argentina, en suelos arenosos y en campos húmedos siendo invasora de campos de cultivo abandonados. Es una hierba perenne de 1-2 m de alto que presenta una

floración primavero-estivo-otoñal con un máximo en los meses de enero y febrero (Figura 3) (Cabrera *et al.*, 2013). Las hojas son usadas como estimulante cardíaco, laxativos y anticoagulantes (Gupta *et al.*, 2002). La decocción de cogollos o de la planta entera se usa para regularizar la menstruación y como abortivo (Martinez-Crovetto, 1981). *A. inulifolium* es una de las diez plantas más utilizadas en medicina empírica en las zonas rurales de los Andes colombianos (Grande-Tovar *et al.*, 2016). Zardini (1984) y Amat (1983) incluyen *A. inulifolium* entre las compuestas con propiedades medicinales, aconsejando la necesidad de encarar estudios sobre esta familia debido a la cantidad y diversidad de productos naturales que poseen.

Mosquera *et al.*, (1985), Triana *et al.*, (1995) y Lancelle *et al.*, (2009) aislaron los componentes hallando flavonoides y norlabdanos entre los que se encuentran austroeupatol, lupeol, β-amirina, oxido de cariofileno y β-sitosterol. Ensayos realizados confirman que el aceite esencial y los extractos obtenidos de esta especie han mostrado actividades biológicas, entre ellas antiinflamatorias, insecticidas, antibacterianas contra *S. aureus, E. coli, P. aeruginosa* y *B. subtilis* (Álvarez *et al.*, 2005; Sanabria-Galindo *et al.*, 1998; Gorzalczany et al., 1996). En ensayos antifúngicos se inhibió hasta un 70% el crecimiento de *P. brevicompactum* y *F. oxysporum* utilizando el aceite esencial de *A. inulaefolium* (Grande-Tovar *et al.*, 2016).



**Figura 3**. *Austroeupatorium inulifolium*. **A**. Vista general de la planta. **B**. Inflorescencia. **C**. Frutos en diferentes estados de maduración. Escala A. 10 cm. B. 1 cm. C. 1 cm

# 4. Baccharis frenguelli Cabrera. (Asteraceae).

Son arbustos, llamados vulgarmente chilca, de 0,5-1,5 m de alto, ramosos que se distribuyen en forma endémica en el nordeste de la Argentina, Chaco, Corrientes, Santa Fe hasta Entre Ríos en suelos arenosos (Figura 4) (Cabrera *et al.*, 2000). Se desconocen los usos de esta especie; sin embargo, el género *Baccharis* conocido como carquejas, de utilizan en infusiones de tallos y brotes como tónicos, digestivos, hepáticos, diuréticos, antidiarreicos, febrífugos y cardiotónicos; el cocimiento en lavajes se aplica en casos de reuma, llagas venéreas, antihelmíntico, antiinflamatorio, agente estomacal, heridas y quemaduras (Martinez *et al.*, 2005; Lahitte *et al.*, 1998).

Los aceites esenciales del género Baccharis se han estudiado en varias especies de América del Sur, aunque el componente principal puede variar, la fracción sesquiterpénica suele ser la dominante. Una revisión del género Baccharis sp. realizada por Martínez et al., (2005) expresa que el tipo más común de metabolitos secundarios aislados del género son los derivados de clerodano, pero también se han aislado los derivados de labdano. Están presentes los compuestos acetilénicos típicos, el óxido de baccharis, un triterpeno único y los derivados de hidroxiacetofenona, aunque principalmente se han reportado en los últimos años. Otros constituyentes biológicamente activos que presentan son los flavonoides y sesquiterpenos. Feresin et al., (2001) encontraron que el extracto hexánico y diclorometano de B. grisebachii posee un amplio expectro de acción, evaluandoló contra Cryptococcus neoformans, Microsporum М. gypseum, Trichophyton mentagrophytes, *T*. rubrum, Epidermophyton canis, floccosum, Staphylococcus aureus (sensible a la meticilina), S. aureus (resistente a la meticilina) y E. coli.



**Figura 4**. *Baccharis frenguelli*. **A**. Vista general de la planta. **B**. Inflorescencia. **C**. Detalle de las hojas. Escala A. 10 cm. B. 1 cm. C. 1 cm

# 5. Baccharis salicifolia (Ruiz y Pav.) Pers. (Asteraceae)

Nombre vulgar: chilca, mule-fat, seep-willow, sticky baccharis, sticky seep-willow, water-motie, water-wally, "chilca" (mapuche), "chilca amarga", "chilca dulce", "chirca", "jarilla", sarilla del río", "junco", "suncho", "vara dulce", "yuno" (USDA, 2019).

Se caracteriza por ser una especie arbustiva muy polimorfa, ampliamente distribuida en la Argentina, donde crece en casi todas las provincias (Figura 5) (Zardini, 1984). Las hojas y los tallos son ictiotóxicos. Una infusión de las hojas o ramas frondosas se aplica externamente como un remedio para la inflamación (Martínez *et al.*, 2005). La decocción de gajos es utilizada como planta medicinal antitumoral, antirreumática y antisifílica (Abad y Bermejo, 2007; Freire *et al.*, 2007; Heinrich, 1996).

Sus hojas poseen aceite esencial cuyos componentes principales son:  $\alpha$ -thujeno (2,1%),  $\alpha$ -pineno (4,4%), sabineno (2,9%),  $\beta$ -pineno (5,5%), myrceno (2,2%),  $\alpha$ -phellandreno (3,2%), limoneno (8,1%), (Z)- $\beta$ -ocimeno (4,6%), terpinen-4-ol (5,9%),  $\delta$ -cadineno (2,3%), elemol (2,7%), cis- $\alpha$ -copaen-8-ol (2,3%),  $\alpha$ -muurolol (5,5%),  $\alpha$ -eudesmol (2,7%), chromolaenina (3,1%) y dihydroisochromolaenina (2,9%) (Carrizo *et al.*, 2009; Malizia *et al.*, 2005).

Además, se encontró óxido de baccharis, un triterpeno encontrado en otras especies de *Baccharis* (Dominguez *et al.*, 1972). Carrizo *et al.*, (2009) encontraron actividad antibacterial de su aceite esencial contra bacterias gram positivas y gram negativas con MICs entre 0,47-0,94 (μg/ml). Ávila-Sosa *et al.*, (2011) utilizaron extractos cloroformicos contra *Colletotrichum gloeosporioides* inhibiendo a dicho patógeno en un 88% con un efecto fungistático (Ávila-Sosa *et al.*, 2011).



Figura 5. Baccharis salicifolia. A. Vista general de la planta. B. Inflorescencia. C. hojas. Escala A. 10 cm. B. 1 cm. C. 1 cm

#### 6. Conyza bonariensis var. angustifolia (Cabrera) Cabrera. (Asteraceae)

Nombre vulgar: conyza

Se distingue de la variedad tipo por presentar las hojas inferiores y superiores lineares, crece en América del Sur y en la Argentina habita en diversos ambientes hasta los 3000 m.s.n.m, (Cabrera *et al.*, 2000). Es Anual, con emergencia otoñal hasta primaveral, vegetación invierno-primaveral y floración primaveral hasta otoñal (Figura 6) (RIAN, 2019).

La búsqueda realizada en relación a los usos medicinales no arrojó ninguna información. No obstante, el uso de la variedad *C. bonariensis* var. *bonariensis*, variedad emparentada, se menciona en la ficha técnica correspondiente.

En relación a los componentes de esta variedad, no se encontró información sobre su composición. Sin embargo, si con respecto al género *Conyza*, que es muy rico en terpenoides como los clerodanos, sesquiterpenos y diterpenos (Mata *et al.*, 1997; Zder *et al.*, 1990; Bohlmann y Wegner, 1982). El extracto de *C. bonariensis* contiene tres glucósidos, además de nueve compuestos conocidos que incluyen amirina, β-sitosterol, daucosterol, ácido jírico, eugenol 4-O-

glucopyranosido, luteolina y apigenina (Kong *et al.*, 2007). La composición del aceite está dominada por la presencia de sesquiterpenos que representan el 51,14% de la composición total (Thabit *et al.*, 2014). Para referencias de actividad microbiana se recomienda la relación de género que se encuentra en *C. bonariensis* var. *bonariensis*.



**Figura 6.** *Conyza bonaeriensis var. angustifolia.* **A.** Vista general de la planta en el campo. **B.** Inflorescencias. **C.** Detalle de inflorescencia y hojas. Créditos fotográficos Dra. Geraldina Richards. Disponible en: https://www.fca.unl.edu.ar/prodocova/IRUPE/.

# 7. Conyza bonariensis var. bonariensis (L.) Cronquist. (Asteraceae)

Nombre vulgar: conyza, yerba carnicera.

Es una hierba anual con hojas densamente estrigosas en ambas caras, distinguiendosé de *C. sumatrensis*. Es nativa de América del Sur, y en Argentina se distribuye hasta los 2000 m.s.n.m. (Cabrera *et al.*, 2000). Anual, con emergencia otoñal hasta primaveral, vegetación invierno-primaveral y floración primaveral hasta otoñal (RIAN, 2019). Su raíz en infusión se bebe como bebida refrescante y en medicina popular se realizan infusiones como digestiva, cicatrizante, antiséptica, antiulcerosa, antirreumática, antidiarreica, antiulcerosa gástrica, pectoral, diurética, como protector hepático, contra las enfermedades venéreas y en infecciones urinarias, vulnerario, febrífuga, antihelmíntica, insecticida y vermífuga antihemorroidal (Gupta, 1995).

La planta entera presenta ácidos fenólicos (clorogénico, cafeico, neoclorogénico, 3,4-dicafeoilquínico, 3,5-dicafeilquínico y 4,5-dicafeoilquínico); los flavonoides 7-O-glucósido de apigenina, 7-O-rutinósido de luteolina, 7-O-glucósido de luteolina, quercetrina, isoquercetina, pendulina, patuletrina, quercetina-3-glucósido, quercetina-3-O-ramnósido, quercetina-3-O-galactósido (Fusco *et al.*, 1997; Martino *et al.*, 1989; Ferraro *et al.*, 1988;). Se hallaron otros

compuestos incluyendo heterósidos cardiotónicos (cardenólidos, bufadienólidos), cinarina, crisoeriol, acacetina, esteroles (daucosterol,  $\beta$ -sitosterol), taninos, cumarinas, aceite esencial (rico en limoneno), antraquinonas, lactonas sesquiterpénicas (damsina, coronopilina, 3-HO-damsina, ambrosina, cumanina y odoratina), amirina, ácido siríngico, ácido 3-hidroxi-5-metoxibenzoico, takakín-8-O-glucurónido y eugenol-4-O-glucopiranósido (Kuiate *et al.*, 2005; Kong *et al.*, 2001; Fusco *et al.*, 1999).

Zahoor *et al.* (2010) aislaron cuatro nuevos compuestos: dos glicósidos, los erigésidos E y F, el bencil-β-D-glucopiranosido y el 2-feniletil-β-D-glucopiranósido.

Las partes aéreas rinden un 0,1 a 0,5% de esencia y según el origen geográfico varía su contenido de terpenos (Bandoni *et al.*, 2005). Un estudio efectuado con el aceite esencial de un ejemplar de Mérida (Venezuela), logró identificar 13 compuestos (98,2% del aceite), siendo transocimeno (20,72%), trans-β-farneseno (37,37%) y β-sesquifelandreno (9,76%) los componentes mayoritarios (Araujo *et al.*, 2013). Sin embargo, muestras de *C. bonariensis* recolectadas en Túnez en distintas estaciones del año presentaron una gran variación en la composición del aceite esencial (Mabrouk *et al.*, 2011). En este mismo estudio se identificaron 143 componentes de los cuales unos 20 serían los de mayor importancia. Las muestras recolectadas en primavera obtuvieron un alto contenido de éster de matricina (1,2-67,3%), (Z)-nerolidol (0,3-19,9%) y óxido de cariofileno (0,8-14,3%); mientras que en verano poseían un aumento ester de matricina (1,6-76,4%), óxido de cariofileno (1,6-22,6%) y (E)-β-farneseno (1,1-22,7%). Las muestras recolectadas en otoño presentaron ester de matricina (trazas a 63,5%), acetato de geranilo (0,0-25,3%), trans-α-bergamoteno (0,0-24,3%) y limoneno (2,7-15,3%).

El extracto acuoso elaborado con las hojas demostró actividad antibacteriana (Fernández et al., 1996). Los extractos elaborados con las hojas revelaron una fuerte actividad antimicótica, en especial algunos componentes del aceite esencial, frente a A. flavus (Singh et al., 1984; Dubey et al., 1982). El aceite esencial demostró propiedades antibacterianas y antifúngicas frente a P. aeruginosa, Bacillus cereus, C. albicans y A. niger (Araujo et al., 2013).



**Figura 7**. *Conyza bonaeriensis* var. *bonaerensis*. **A**. Vista general de la planta en el campo. **B**. Inflorescencias. **C**. Detalle de las hojas

# 8. Conyza sumatrensis (S.F. Blake) Pruski & G. Sancho. (Asteraceae)

Nombre vulgar: conyza, rama negra, mata negra, vira vira, yerba carnicera, carnicera.

Es una hierba anual que habita tanto en América del Sur como en Europa. En Argentina llega hasta los 3500 m s.n.m., encontrándose en lugares húmedos y terrenos perturbados (Cabrera et al., 2000). Anual, con emergencia preferentemente invernal tardía, vegetación primaveral y estival y floración estival hasta otoñal, presenta en su ciclo una floración mas tardía que C. bonariensis (Figura 8) (RIAN, 2019). Se informó que posee actividad antihelmíntica, diurética, expectorante, antitusiva y antiinflamatoria. El aceite esencial de algunas especies de Conyza posee monoterpenos, constituyendo más del 60% de los aceites esenciales en C. sumatrensis var. sumatrensis y C. sumatrensis var. Floribunda, cuyo compuesto predominante es limoneno (Mabrouk et al., 2013). Los compuestos acetilénicos son comunes en especies de la familia de las compuestas. El constituyente principal es el óxido de cariofileno (1; 20,5%), seguido de espatulenol (2; 13,8%), limoneno (3; 8,0%), éster de matricina (4; 7,5%), manol (3,3%), 10epicubenol (5; 2,7%), β-pineno (2,5%) y (E) -nerolidol (6; 2,4%) (Mabrouk et al., 2013). Kuiate et al., (2005) investigaron la composición del aceite esencial de hojas de E. floribundus (HB y K.) Sch.Bip. (syn. C. sumatrensis) en Camerún, identificando como mayores componentes (E)-2-lachnophyllum ester (23,7-26,2%), (Ε)-β-caryophyllene (7; 14,7- 16,6%) y (Ε)-β-farneseno (8; 14,6-16,4%). En Brasil, Machado et al., (2005) también identificaron el éster de lachnophyllum (43,7%) y limoneno (22,9%) como los principales componentes.

Mabrouk *et al.*, (2013) obtuvieron el aceite esencial de hojas y evaluaron su capacidad como antibacteriano en *Enterococcus faecalis*, *S. aureus* y *Proteus mirabilis* con CIMs contra *E. faecalis* y *E. coli* (>500 μg/ml) y como antifúngico en patógenos humanos *A. fumigatus* y *Microsporum canis*, con valores de inhibición de 69,0-72,5 y 34,9-52,4%, respectivamente. Según dichos autores, la potente actividad del aceite de hoja puede atribuirse a su alto contenido en sesquiterpenos oxigenados.



Figura 8. Conyza sumatrensis. A. Vista general de la planta en el campo. B. Inflorescencias. C. Detalle de las hojas

Nombre vulgar: Flor morada, blue Echium, Blueweed, Borraja de campo, Borragem cimarrona, Lady Campbell-weed, Paterson's-curse, purple echium, purple viper's-bugloss, purple-bugloss, Riverina bluebell, Salvation Jane, viper's-bugloss, bloudissel, pers-echium, vipérine faux-plantain, wegerichblättriger Natternkopf, sonaja, blå snokört (USDA, 2019; Lahitte *et al.*, 1998).

Hierba anual a bienal, que posee flores azules, violáceas o rojizas a la madurez y es adventicia en América. Su emergencia y brotación es otoñal, con vegetación invernal y floración primaveral, donde crece a orillas de caminos, en campos incultos y es maleza en distintos cultivos (Figura 9) (RIAN, 2019).

La planta triturada se aplica en fomentos para curar heridas y enfermedades cutáneas mientras que las hojas y flores, en infusión, son diuréticas, sudoríficas, emolientes, astringentes y emenagogas. Se indican contra el reumatismo, el sarampión, bronquitis, tos y asma (Lahitte *et al.*, 1998). En etnobotánica se utilizan sus hojas y flores, además de utilizarla como planta comestible (Guarrera *et al.*, 2016). Entre su uso se menciona: antisarampionoso, antibacterial, antioxidante, antiviral, cicatrizante, externamente se la utiliza en fomentos para madurar flemones y forúnculos, entre otros (Monti *et al.*, 2013). Se aplica en fomentos para curar heridas y enfermedades cutáneas (Lahitte *et al.*, 1998).

Posee alcaloides de pirrolizidina y sus N-óxidos predominando leptantina-N-óxido, equimidina-N-óxido y echiumino-N-oxido, teniendo una mayor proporción de pirrolizidina-N-óxidos acetilados en las flores que en hojas (Colegate *et al.*, 2005).

Los compuestos previamente mencionados se encuentran envueltos en respuestas de defensa de las plantas frente a la herbivoría y la toxicidad (Quinn *et al.*, 2014; Weston *et al.*, 2013). Por otro lado, Eruygur *et al.*, (2016) han demostrado *in vivo* en ratones la capacidad cicatrizante de *E. italicum* L., *E. vulgare* L. y *E. angustifolium* Miller. No se encontraron antecedentes de evaluaciones microbianas de esta especie.



**Figura 9**. *Echium plantagineum*. **A**. Vista general de la planta. **B**. Inflorescencia. **C**. Hojas. Escala A. 10 cm. B. 1 cm. C. 1 cm

# 10. Rapistrum rugosum (L.) All. (Brassicaceae)

Nombre vulgar: Nabo, ball-turnip, bastard-cabbage, common giant mustard, giant mustard, rapistrum-weed, turnipweed, wild turnip, gewöhnlicher runzliger Rapsdotter (USDA, 2019).

Hierba anual, nativa de Europa, introducida y naturalizada en Argentina, y crece como maleza en bordes de caminos, baldíos, áreas perturbadas y campos, con un ciclo generalmente anual, de emergencia otoñal, vegetación invernal y floración primavero-estival (Figura 10) (RIAN, 2019).

La familia a la que pertenece se destaca por encontrarse entre los alimentos básicos en distintas partes del mundo (Jahangir *et al.*, 2009). Se destacan además por poseer grandes cantidades de glicosinólatos. Los glucosinolatos no son volátiles, ocurren como sales y son potentes biocidas (Holst y Williamson, 2004; Dubuis *et al.*, 2005). Se ha encontrado que en *R. rugosum* el principal glucosinolato es glucocheirolina en un 95% (Lazzeri y Manici, 2001).

Ensayos realizados por Lazzeri y Manici (2001) simulando esta especie como abono verde, suprimió a *Pythium* sp. y también indujo un aumento en la actividad microbiana total del suelo. En la recopilación realizada por Brown y Morra (2001) se citan diferentes tipos de glucosinolatos evaluados en los patógenos de interés, la concentración en μg mL<sup>-1</sup> y el criterio utilizado a saber: *B. cinerea*: Allyl ITC 600, 4-Methylsulfinyl-3-butenyl ITC 230; 4-Hydroxybenzyl ITC 450. El criterio fue la concentración mínima de inhibición de la germinación. *Colletotrichum circinans*: Allyl ITC 5 y Phenylethyl ITC 5, en ambos casos el 100% de inhibición del crecimiento. *M. laxa*: la mínima concentración de inhibición en la germinación fue Allyl ITC 300, 4-Methylsulfinyl-3-butenyl ITC 20, 4-Hydroxybenzyl ITC 90. *R. stolonifer*: se encontró la mínima concentración de la germinación con Allyl ITC en concentración de 600, 4-Methylsulfinyl-3-butenyl ITC 290 y 4-Hydroxybenzyl ITC 1800. En *Fusarium* sp. la concentración en donde se halló el 100% de la inhibición de crecimiento fueron: Allyl ITC >99 y Benzyl ITC <1,5.



**Figura 10**. *Rapistrum rugosum*. **A**. Vista general de la planta. **B**. Inflorescencia. **C**. Fruto. Escala A. 10 cm. B. 1 cm. C. 1 cm

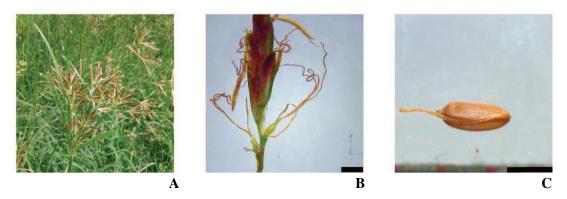
# 11. Cyperus rotundus L. (Cyperaceae)

Nombre vulgar: cebollín, cyperus.

Es una especie cosmopolita, perenne, con emergencia y brotación invernal tardía, vegetación primaveral y floración primaveral tardía hasta otoñal (Figura 11) (RIAN, 2019).

Es utilizada para tratar la diarrea, diabetes, piresis, inflamación, malaria y trastornos estomacales e intestinales (Peerzada *et al.*, 2015). Investigaciones realizadas por Peerzada *et al.*, (2015) identificaron componentes químicos como alcaloides, ciperol, flavonoides, aceites grasos, furocromonas, glicerol, ácido linolénico, ácido mirístico, almidón, saponinas, sesquiterpenos, sitosterol, ácido esteárico, terpenoides, polifenoles, y lenceno en los tubérculos y rizomas de *C. rotundus*.

Presenta componentes bioactivos contra numerosos microorganismos como *A. niger, E. coli, S. aureus* (Adeniyi *et al.*, 2013), algunas especies de *Alternaria* (*A. alternata, A. brassicola, A. solani, A. chearanthi*), *Colletotrichum* (*C. musae, Colletotrichum sp.*), *Curvularia* (*C. lunata, C. maculans, C. pallescens, C. pennisetti*), *Helminthosporium* (*H. pennissetti, H. spiciferum, H. echinoclova*) y *Heterosporium colocasiae* (Singh *et al.*, 2011). Los extractos con acetato de etilo de los rizomas de *C. rotundus*, han sido citados como sustancias antifúngicas de alta eficacia. Por estas características *C. rotundus* es considerada de alto valor potencial para ser empleada en el control ecológico de enfermedades de plantas.



**Figura 11**. *Cyperus rotundus*. **A**. Inflorescencia. **B**. espiguilla y detalle de gineceo. **C**. Fruto. Escala B. 1 mm. C. 1 mm

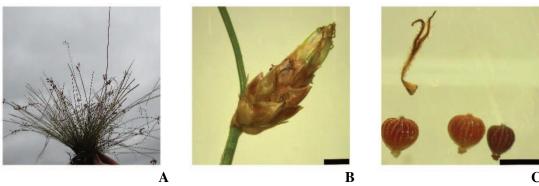
# 12. Fimbristylis dichotoma (L.) Vahl (Cyperaceae)

Nombre vulgar: Barba de indio.

Planta polimorfa, distribuida en regiones tropicales y subtropicales de todo el mundo, que en Argentina es común encontrarla formando parte de pastizales naturales, en terrenos alterados y como maleza en campos cultivados de arroz (Figura 12) (RIAN, 2019).

Varias especies de *Fimbristylis* son utilizadas en la medicina popular para tratar afecciones como eccemas, quemaduras, diarrea, infecciones intestinales, infestaciones, fiebre,

entre otros desórdenes (Simpson e Inglis, 2001). Según estos autores, *F. dichotoma* presentó en su parte aérea glucósidos cardíacos, saponinas y alcaloides (la cantidad hallada fue de 0,72 mg/g de material seco). El extracto metanólico de especies de *Fimbristylis* representadas en otros continentes como *F. aphylla* L. y *F. falcata* (Vahl.) Kunth, ha mostrado de moderada a fuerte actividad antimicrobiana (Islam *et al.*, 2011). Además, estudios realizados en India demostraron la capacidad de remoción de efluentes textiles asociada con *Ammannia baccifera* (Kadam *et al.*, 2018). Un ensayo realizado en la especie emparentada *Fimbristylis miliacea*, demostró poseer aleloquímicos como n-hexano, acetato de etilo y n-butanol, siendo el éster dioctílico del ácido hexanodioico un compuesto alelopático que se ha utilizado como químico antifúngico (Ismail y Siddique, 2012).



**Figura 12.** *Fimbristylis dichotoma*. **A.** Vista general de la planta. **B.** Detalle de una espiguilla. **C.** Frutos. Escala B. 1 mm. C. 1 mm

#### 13. Schoenoplectus americanus (Pers.) Volkart (Cyperaceae)

Nombre vulgar: Totora, American bulrush, chairmaker's bulrush, Olney three-square, Olney's three-square bulrush (Figura 13) (USDA, 2019). Es una especie perenne, rizomatosa, de amplia distribución en América, presente en arroyos, zanjas y playas arenosas formando extensos "juncales" que, al igual que *S. californicus*, florece en verano (Lahitte *et al.*, 1998).

Actualmente se la ha probado como fitoremediadora en sedimentos contaminados con Zn (Arreghini *et al.*, 2006; Poach *et al.*, 2003). Análisis del aceite esencial de la parte aérea demuestran que los componentes principales del aceite son: ptolualdehído, alcohol cuminílico, (4-metil-pent-3-enil)-ciclohexeno-1-carboxaldehído, 3,4-ditertbutilfenol y heptadecano (Modi *et al.*, 1974). Se reportó como antimicrobiana en *S. aureus*, *E. coli* y *P. aeruginosa* (Borchardt *et al.*, 2008).

136

A B C







### 14. Schoenoplectus californicus (C.A. Mey.) Soják (Cyperaceae)

Nombre vulgar: Totora, giant bulrush. Es una especie polimorfa, perenne, con rizoma horizontal profundo, alargado, leñoso, cubierto con escamas parduscas o negras, florece en verano, y es de origen americano (Figura 14) (Lahitte *et al.*, 1998).

En la medicina popular, las cenizas de los tallos se emplean para curar heridas infectadas, mientras que la planta entera disecada se utiliza en infusiones para combatir el resfrío (Bussman y Gleen, 2006). Se utiliza en la depuración de desechos industriales como constituyente de humedales (Thullen *et al.*, 2008). Ensayos realizados por Toribio *et al.*, (2007) demuestran su actividad de inhibición en *S. aureus*. Se detectaron dentro de sus componentes fundamentales mucílagos polifenoles, taninos y flavonoides (Barrientos *et al.*, 2014).



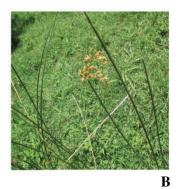




Figura 14. Schoenoplectus californicus. A. Rizoma. B. Inflorescencia. C. Frutos. Escala A. 10 cm. C. 1 mm

### 15. Vachelia caven (Molina) Molina (Fabaceae)

Nombre vulgar: Aromito, aromo, aromita, aromo criollo, espinillo negro, espinillo Santa Fe, espinillo de bañado, churqui, churque, caven, espinho, espinheiro. Es un árbol o arbusto que florece en agosto-setiembre y sus frutos maduran entre enero y abril (Figura 15) (Lahitte *et al.*, 2008).

En medicina popular se utiliza como astringente, desinfectante, antiasmático, antifúngico, antiséptico y cicatrizante (Lahitte *et al.*, 2008). El polvo de las hojas y corteza, en aplicación externa es vulnerario; la infusión de la corteza, rica en taninos, en gárgaras, es expectorante y en gotas antiotítico; en fomentos, es pectoral (Zacchino *et al.*, 2012). El polvo de las hojas y corteza se aplica por vía externa como vulnerario como también expectorante por vía interna (Alonso y Demachellier, 2005). En casos de otitis se aplica como gotas óticas y por vía externa para cicatrizar llagas, quemaduras y heridas (Hilgert, 2001). La decocción de las flores se utiliza en Salta como antitusivo y digestivo (Hilgert, 2001). La etnia Pilagá en la región chaqueña utiliza la decocción por vía oral en el tratamiento de tos convulsa y como antidiarreico (Filipov, 1994).

Se ha informado acerca de varios metabolitos secundarios de diversas especies de Acacia, incluidas aminas y alcaloides, ácidos grasos y aceites de semillas, aminoácidos no proteicos, terpenos, taninos hidrolizables, flavonoides y taninos condensados, entre otros (Seigler, 2003). A continuación, se enumeran los distintos componentes en las distintas partes de la planta.

En flores: el aceite esencial (9,7%) presenta aspecto límpido, color amarillo y fino olor aromático constituido por  $\alpha$ -pineno (5,3%), canfeno (4,3%), mirceno (4%),  $\beta$ -pineno (3,1%), limoneno (4,8%), p-cimeno (3,4%), linalol (8,7%), benzaldehído (7,4%), bornilacetato (4,2%),  $\beta$ -terpineol (6,6%), citronelol (7,2%), geranilacetato (4,1%), etilbenzoato (3%), metilsalicilato (5,5%), geraniol (8,4%), bencilalcohol (5,2%), anisaldehído (2%), metileugenol (1,3%), o-cresol (1,2%), m-cresol (1,1%), eugenol (3,1%), acetileugenol (1,5%) (Retamar, 1988). Hojas y tallos: escualeno,  $\beta$ -sitosterol, campesterol, estigmasterol, eicosanol, nonacosano (C<sub>29</sub>H<sub>60</sub>), tetratetracontano (C<sub>44</sub>H<sub>90</sub>) (Barcia, 1999). En la corteza se encuentran taninos, glicósidos cianogenéticos, goma y en semillas: ácido linolénico (54%) y lectina (Martins *et al.*, 2003).

Extractos de *A. caven* demostraron propiedades antioxidantes sobre el radical DPPH y actividad antimicrobiana moderada sobre algunos agentes patógenos intrahospitalarios (Alonso y Demachallier, 1990). El extracto etanólico de la parte aérea demostró una inhibición *in vitro* entre el 20-40% frente a *F. oxysporum* y *P. sanguineus* (Quiroga *et al.*, 2001).

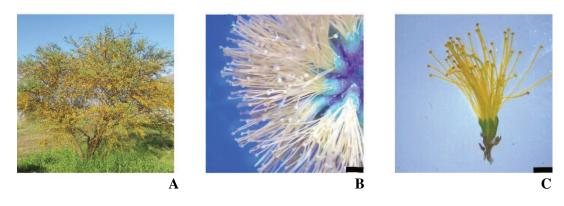


Figura 15. Vachelia caven. A. Vista general de la planta. B. Inflorescencia. C Detalle de flor. Escala A. 10 cm.

B. 1 mm. C. 1 mm

### 16. Pelargonium graveolens L'Hér. (Geraniaceae)

Nombre vulgar: Geranio, rose geranium, rose-scent geranium, gerânio, sardineira (USDA, 2019).

Ornamental y aromática, por destilación de sus hojas se extrae un aceite esencial con perfume similar al de la rosa, se multiplica por gajos y existen unas 250 especies originarias perteneciente al género en su mayoría de África (Figura 16) (Sudáfrica) (Del Vitto *et al.*, 1998; Dimitri y Parodi, 1977).

Se utiliza como cosmético y aromaterápico. La lista GRAS reconoce a *P. graveolens* como GRAS entre 1,6 y 200 ppm. En un estudio realizado por Lalli *et al.*, (2008) se demostró que la toxicidad *in vitro*, expresada en términos del valor IC<sub>50</sub>, produjo un valor IC<sub>50</sub> bastante alto, lo que significa que es bastante no tóxico, pero los niveles deben ser monitoreados.

El aceite esencial de *P. graveolens* es un líquido amarillo con un rendimiento que oscila dependiendo el sistema de extracción de aceite, la destilación de agua dio un rendimiento de aceite más alto (0,16-0,22%) que la destilación de agua-vapor (0,09-0,12%) y métodos de destilación de vapor 0,06–0,18;22% (Bouzenna y Krichen, 2013; Rana *et al.*, 2002; Babu y Kaul, 2005). La variación en el contenido total de alcohol y éster en las muestras de aceite de geranio, destiladas mediante el uso de diferentes técnicas de procesamiento en la destilación se debe principalmente a la hidrólisis de algunos componentes volátiles. La composición química con la técnica CG/EM, permitió la identificación de diferentes compuestos: el aceite destilado por el método de destilación con agua y vapor contenía un mayor contenido de hidrocarburos monoterpenos (1,7%), seguido de la destilación de vapor sin cohobacion y sin reciclaje (1,5%). La fracción principal del aceite es de monoterpenos oxigenados, incluido el citronelol (35,2%) y el geraniol (28,8%) (Bouzenna y Krichen, 2013; Rana *et al.*, 2002; Babu y Kaul, 2005).

Posee propiedades antibacteriales, antifúngicas e insecticida (Bouzenna y Krichen, 2013; Ghannadi *et al.*, 2012). El aceite de *P. graveolens* reveló que manifiesta un fuerte efecto inhibitorio sobre cepas de bacterias grampositivas como *B. cereus, B. subtilis* y *S. aureus* (Silva y Fernandes, 2010). Bouzenna y Krichen (2013) evaluaron la capacidad antifúngica en *Rhizoctonia solani* siendo efectivo en una dosis de 12,5 mL/20mL de APD. Además, se demostró su efecto antifúngico contra cinco cepas de *Aspergillus* con CIMs y CFMs (mg/ml) de 0,25 a 2,5. Rosato *et al.*, (2008) señalaron efectos sinérgicos del aceite con diversos antibióticos como norfloxacina y anfotericina B. Hsouna y Hamdi (2012) realizaron diferentes extractos: hexano, acetato de etilo y metanol y los resultados fueron comparado en términos de concentraciones inhibitorias mínimas (CIM) en *A. niger, A. flavus, Fusarium graminearum, F. oxysporum, Fusarium culmorum, Rhizopus nigricans* y *Alternaria*, resultando en una inhibición con extracto de hexano mientras que el extracto de acetato de etilo inhibió el crecimiento de *Fusarium* e inhibió

fuertemente el crecimiento de Aspergillus. Dzamic et al., (2014) probaron su efecto de inhibición en A. alternata, A. flavus, A. niger, A. ochraceus, A. terreus, A. versicolor, Aureobasidium







pullulans, Candida albitans, Cladosporium clados porioides, C. fulvum, Fus Grium sporotrichoides, F. tricinctum, Mucor mucedo, Penicillium funiculosum, P. Ochrochloron, Phoma macdonaldii, Phomopsis helianthi, Trichoderma viride y Trichophyton menthagrophyte.

**Figura 16**. *Pelargonium graveolens*. **A**. Vista general de la planta. **B**. Inflorescencia. **C**. Hojas. Escala B. 1 cm. C. 10 cm

### 17. Leonurus japonicus Houtt (Lamiaceae)

Nombre vulgar: Cuatro cantos, Motherworth (Shin *et al.*, 2009). La planta bienal, es adventicia en América donde, en la Argentina, habita en las provincias del norte, centro y Mesopotamia. (Rondina *et al.*, 2008). En la medicina china, las semillas de *L. sibiricus* se consideran constructivas y afrodisíacas y la planta seca se prescribe como un tónico y remedio general en enfermedades puerperales y menstruales (Figura 17) (Kirtikar y Basu, 2013). En Argentina se utiliza como hemostático, cicatrizante y analgésico (Rondina *et al.*, 2008; Carrizo *et al.*, 2002).

No existen antecedentes de los componentes de *L. japonicus*, pero sí de la especie emparentada *L. sibiricus* poseyendo furanoditerpenolactonas, derivados de guanidina y alcaloides (Satoh *et al.*, 2003).

Extractos metanólicos, acetónicos y clorofórmicos fueron probados contra *S. aureus*, *S. epidermis*, *S. pyogenes*, *E. coli*, *Vibrio cholerae*, *Shigella dysenteriae* y *S. boydii* siendo el hexánico y el extracto clorofórmico los más eficientes (Shin *et al.*, 2009).







A B C<sub>140</sub>

### 18. Plectranthus madagascariensis (Pers.) Benth. (Lamiaceae)

Nombre vulgar: Incienso. Es una hierba aromática perenne del sureste de África que se cultiva como planta ornamental por sus hojas aromáticas (Figura 18) (Lukhoba *et al.*, 2006).

Se utiliza para tratar dolencias de tipo respiratorias y de la piel. Las infusiones y decocciones de la raíz se utilizan para tratar la tos y las hoias machacadas se usan mediante Figura 17. A. Vista general de la planta en estado vegetativo. B. Inflorescencia. C. Detalle de las flores. Escala mB. 1 cm

Estudios fitoquímicos de la especie reportan la presencia de quinonas diterpénicas, coleonas, roileanonas y triterpenoides (Ascensão *et al.*, 1998). El ácido rosmarínico es el compuesto principal en los extractos de especies de *Plectranthus* y la actividad inhibidora de acetilcolinesterasa exhibida por los extractos de plantas está en correlación con su contenido (Falé *et al.*, 2011). Grayer *et al.*, (2003) estudiaron los flavonoides de 42 especies de *Plectranthus*, hallando en los extractos acuosos de hojas de 13 de ellas, incluida *P. madagascarensis*, dos compuestos fenólicos no flavonoides derivados del ácido caféico las nepetoidinas A y B.

Las nepetoidinas A y B inhibieron el crecimiento de *A. niger* en bioautografia en capa delgada. Otras especies del género, presentan antecedentes de actividad antifúngica: *P. barbatus*, *P. ecklonii* y *P. montanus* (Lukhoba *et al.*, 2006). Kubinova *et al.*, (2014) aislaron e identificaron cuatro componentes principales, dos de los cuales fueron diterpenoides: dihidroxiroleanona y 7β-acetoxi-6β-hidroxiroleanona, que mostraron una potente actividad antibacteriana contra *S. aureus* y *Enterococcus faecalis*. Matias *et al.*, (2014) realizaron ensayos de microdilucion y de difusión contra baterías gram positivas, gram negativas y levaduras, demostrando la mayor actividad antimicrobiana para el extracto acetónico contra *B. subtillis*, *S. epidermidis*, *S. aureus* y *E. faecalis* (MIC de 0,98 μg mL<sup>-1</sup> a 3,91 μg mL<sup>-1</sup> incluyendo cepas resistentes de MRSA y VRE). Los compuestos fueron caracterizados por HPLC coincidiendo con Kubinova *et al.* (2013).





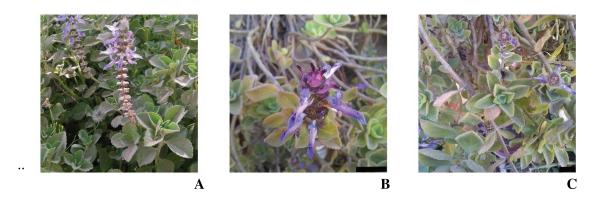


**Figura 18**. *Plectranthus madagascariensis*. **A**. Vista general de la planta en estado vegetativo. **B**. Inflorescencia. **C**. Detalle de las hojas. Escala B. 1 cm. C. 1 cm

### 19. Plectranthus neochilus Schltr. (Lamiaceae)

Nombre vulgar: Boldo paraguayo. Es una hierba perenne, a veces anual, desagradablemente aromática cuyos caracteres vegetativos poseen una gran variación al igual que su distribución. Este género ha sido semicultivado como hierba y por todo el mundo (Figura 19) (Lukhoba *et al.*, 2006). En medicina popular se utiliza para infecciones, problemas digestivos, hepático, respiratorios, entre otros (Duarte y Lopes, 2007; Wellsow *et al.*, 2006).

Εl ácido rosmarínico compuesto es el principal los extractos de especies de Plectranthus (Falé et al., 2011). Los diterpenoides también son metabolitos secundarios muy comunes en Plectranthus. La mayoría de ellos son abietanoides altamente modificados (Abdel-Mogib et al., 2002). Lukoba et al., (2016) reportaron propiedades antimicrobiales en este género. En un ensayo realizado por Silva et al., (2013) resultó efectiva como analgésico una crema preparada con extracto etanólico de P. neochilus aplicada a gatos (Borges et al., 2016). Tempone et al., (2008) probaron el extracto metanólico de hojas contra Leishmania amazonensis y L. chagasi sin ninguna actividad. Sin embargo, mostró actividad frente a Candida krusei resistente a fluconazole y C. parapsilosis suceptible a los azoles con dosis de EC<sub>50</sub>= 20,51 μg/mL. Borges et al., (2016) evaluaron in vitro la actividad citotóxica y se comprobó su especificidad para las células de carcinoma de lengua.



**Figura 19**. *Plectranthus neochilus*. **A**. Vista general de la planta al estado reproductivo. **B**. Inflorescencia. **C**. Detalle de las hojas. Escala B. 1 cm. C. 1 cm.

### 20. Laurus nobilis L. (Lauraceae)

Nombre vulgar: Laurel, bay laurel, bay-leaf laurel, Grecian laurel, sweet bay, laurier, Lorbeerbaum, Lorbeerstrauch, Gekkeiju, loureiro, louro, louro-comum, louro-de-apolônio, louro-europeu, lager, yue gui (USDA, 2019).

Son árboles o arbustos probablemente originarios de Asia Menor, cultivada desde la antigüedad y expandida en todo el mundo; en nuestro país es cultivado, aunque puede encontrarse naturalizado (Delucchi *et al.*, 2007).

Florece en primavera, fructificando en verano (Figura 20) (Hurrel *et al.*, 2010; Pocchetino y Aladio, 2010). En Argentina su uso es aromático, ornamental y en medicina popular como digestivo, antiseborreico, carminativo y emenagogo (Hurrel *et al.*, 2008; Del Vitto *et al.*, 1998; Dimitri y Parodi, 1987).

Sus hojas contienen aceites esenciales y los constituyentes principales son 1,8-cineol,  $\alpha$ -terpinilo, linalol y terpinen-4-ol (Hurrel *et al.*, 2008; Simić *et al.*, 2004; Baratta *et al.*, 1998). El aceite esencial de las flores tiene un mayor contenido de  $\beta$ -cariofileno, viridiflorene, germacradienol,  $\beta$ -elemento y trans-ocimeno (Fiorini *et al.*, 1997).

Este aceite ha sido evaluado por su actividad antimicrobial en *S. aureus, S. epidermidis* y *E. coli* al 15% (v/v). Los resultados revelaron que la dosis efectiva de los aceites esenciales de laurel para las bacterias fue del 15%, y que el orden de inhibición fue mayor en *E. coli* O157:H7 que en *S. aureus* y *S. typhimurium* (Dadalioğlu *et al.*, 2004).

En su acción antifúngica fue evaluado contra *A. niger* y *C. albicans* con diámetros de inhibición de 20–32 mm a una dosis de 15 μL (Ertürk, 2006). Tiene acción insecticida contra *Periplaneta americana* L.y áfidos (Kahan *et al.*, 2008).

Sin embargo, Simíc et al., (2014) evaluaron contra A. niger, A. ochraceus, A. versicolor, A. flavus, A. terreus, Alternaria alternata, Aureobasidium pullulans, Penicillium ochrochloron, P. funiculosum, Cladosporium cladosporioides, C. fulvium, Trichoderma viride, Fusarium tricinctum, F. sporotrichoides, Phoma macdonaldii, Phomopsis helianthi y Mucor mucedo, arrojando CIMs entre 40 mL/L y 50 mL/L.



Figura 20. Laurus nobilis. A. Vista general de la planta. B. Rama. C. Detalle de la hoja.

### 21. Melaleuca citrina (Curtis) Dum. Cours. (Myrtaceae)

Nombre vulgar: Crimson Bottlebrush, limpiatubo (Seenadera, 2017). Es un árbol pequeño y ornamental, originario de Australia que florece en primavera y se reproduce por semillas, cuyos miembros del género se han utilizado durante mucho tiempo en medicinas populares en varias partes del mundo (Figura 21) (Sharifi-Rad *et al.*, 2017). La planta ha sido utilizada por las comunidades tribales de India para el tratamiento de trastornos gastrointestinales, dolor y enfermedades infecciosas (Brophy *et al.*, 1998).

El aceite esencial contenido en las hojas alcanzó un rendimiento de 1,1%±0,06 (Silva *et al.*, 2010). La composición principal de esta mezcla compleja es de 1,8-cineol (73,8%), α-pineno (16,3%) y α-terpineol (4,8%) (Jazet *et al.*, 2009). Shukla *et al.*, (2012) y Sharma *et al.*, (2006) encontraron que la composición principal era 1,8-cineol (56,0), α-pineno (18,0), γ-terpineno (11,0) y 1,8-cineol (58,3), α-pineno (21,4), respectivamente. Jazet *et al.*, (2010) demostraron que su componente principal es 1,8-cineol (77%). Kumar *et al.*, (2015) encontraron α-pineno (32,3%) como componente principal, limoneno (13,1%) y α-terpineol (14,6%) mientras que hallaron diferencias con el aceite de flores que poseía 1,8-cineol (36,6%) seguido de α-pineno (29,7%).

El aceite esencial del género *Melaleuca* spp. se ha informado que posee propiedades antibacterianas y antifúngicas eficaces *in vitro* (Sharifi-Rad *et al.*, 2017). Inhibió a *S. aureus*, *E. coli*, *B. cereus* con CIM =0,0625 mg/ml (Silva *et al.*, 2010). En relación a ensayos fúngicos, inhibió completamente a *Phaeoramularia angolensis* a 1500 ppm con la fracción 12 que contenía terpineol (88,7%) y terpinen-4-ol (10%) (Jazet *et al.*, 2009) y se registró la no toxicidad en células normales (Kumar *et al.*, 2015).



Figura 21. *Melaleuca citrina*. A. Vista general de la planta en estado reproductivo. B. Inflorescencia. C. Detalle de la hoja.

### 22. Melaleuca linearis Schrad. & J.C. Wendl. (Myrtaceae)

Nombre vulgar: Limpiatubo, Narrow leaf bottle rush (Das et al., 2009).

Es un arbusto de follaje persistente con hojas lineares de 5-10 cm de largo ornamental, originario de Australia, que florece en primavera y es utilizado por los australianos indígenas como medicamentos para la tos y los resfriados y como agentes antisépticos (Figura 22) (Lassak

y McCarthy, 1983). Por ello, en Australia utilizan el aceite de *Melaleuca* como aditivos alimentarios naturales que proporciona un sabor agradable además de inhibir el deterioro microbiano de los alimentos (Cock, 2008).

El rendimiento alcanzado por el aceite esencial de las hojas fue de 0,3-1% y posee como componente principal el 1,8-cineol (63%) α-pineno, β-pineno, α-felandreno, limoneno, p-cimeno, linalool, terpinen-4-ol y α-terpineol (Brophy *et al.*, 1998). Los sesquiterpenoides totalizaron menos del 3% del aceite y sólo el espatulenol estaba presente en una cantidad significativa (1,5% del aceite) (Lassak y Smyth, 1994). Das *et al.*, (2009) encontraron 1,8-cineol (58,3%), 3-careno (10,7%), γ-terpineno (25,3%) y n-dic-3-eno (5,4%) como componentes principales.

Estudios realizados por Chikowe *et al.*, (2009) mencionan que el extracto metanólico de las hojas fue inhibidor del crecimiento de *B. cereus* y *S. pyogenes*, con valores CIMs de 610 y 354 μg/mL. Mientras el extracto acuoso alcanzó CIMs de 927 y 660 μg/ml respectivamente. En forma adicional en dicha investigación se determinó que todos los extractos no eran tóxicos en el bioensayo de *Artemia franciscana nauplii*.

Haqhe *et al.*, (2013) realizaron maceraciones y posteriormente extractos con éter de petróleo, tetracloruro de carbono, metanol y acetato de etilo. Estos fueron evaluados mediante el método de difusión en disco contra un panel de diez bacterias (5 Gram positivas y 5 Gram negativas) y tres hongos *S. cereviceae*, *C. albicans* y *A. niger*. Estos resultaron en una sensibilidad moderada a potente contra casi todos. En forma adicional, se evaluó la citotoxicidad en *Artemia salina* y la citotoxicidad exhibida por extracto metanólico fue comparable al sulfato de vincristina estándar.

Estudios previos realizados por Das *et al.*, (2008) habían realizado ensayos de difusión en disco con estos mismos extractos contra *B. pumilus*, *B. cereus*, *S. aureus*, *E. coli*, *E. aerogenes*, *S. typhimurium* y hongos como *C. albicans* y *A. niger*. A diferencia de Chikowe *et al.*, (2019) el extracto metanólico mostró actividad antimicrobiana potencial contra bacterias gram positivas y gram negativas y *C. albicans*.



Figura 22. Melaleuca linearis. A. Vista general de la planta al estado reproductivo. B. Inflorescencia. C. Detalle de ramas

### 23. Melaleuca linearis var. linearis sinónimo Callistemon rigidus R.Br.(Myrtaceae)

Nombre vulgar: Limpiatubo

Es un arbusto de follaje persistente con hojas lineares o linear-lanceoladas, ornamental, de origen australiano y es el más distribuida en nuestro país, florece en primavera y se reproduce por semillas (Figura 23) (Lahitte y Parodi, 1977).

Utilizada actualmente en la medicina China es una especie recientemente conocida que produce un aceite muy rico en cineol (90%) y  $\alpha$ -terpineol (Ji *et al.*, 1991). En Ghana, el porcentaje fue del 55% en el principal componente cineol (Talalaj y African, 1965). Jazet *et al.*, (2009) en Camerún, evaluándolo contra patógenos de frutas encontraron que la composición fue de 79,1% 1,8-cineol y 12,9%  $\alpha$ -pineno. En Brasil, el contenido de cineol alcanzó el 39%,  $\alpha$ -pineno 15%,  $\rho$ -pineno 11% y limoneno 19%, donde el rendimiento del aceite esencial que se encuentra en las hojas alcanzó 0,1-0,3% (Siquiera *et al.*, 1987).

Ensayos *in vitro* del extracto metanólico de hojas indicaron que fue activo contra bacterias resistentes a determinados antibióticos gram positivos y gram negativas (Saxena y Gomber, 2006; Gomber y Saxena, 2007). Extractos acuosos de hojas de *C. rigidus* fueron evaluados frente a patógenos de semillas presentando moderada actividad antifúngica contra *A. alternata, A. níger, C. lunata, F. moniliforme* y *T. viride* (Pawar, 2011).



**Figura 23**. *Melaleuca linearis* var. *linearis* **A**. Vista general de la planta al estado reproductivo. **B**. Inflorescencia. **C**. Detalle de rama

### 24. Fumaria officinalis L. (Papaveraceae)

Nombre vulgar: Fumaria, flor del pajarito, fumaria, fumaria colorada, fumaria morada, perejilillo, yuyo palomo, Fumaria (Figura 24) (RIAN, 2019).

Hierba anual muy polimorfa, adventicia en Argentina, su emergencia es otoñal, vegetación invernal y floración primaveral. Se la consume en infusión, tintura o jarabes como sedativo, depurativo, hipotensor, antiasmático, colerético/colagogo y espasmolítico y la acción farmacológica se sitúa en la regulación de la coleresis (Alonso, 1998; Del Vitto *et al.*, 1998).

Posee un alto contenido fenólico en relación a otras especies del género *Fumaria* sp. con valores de quercetina (0,49±0,03 mg/gDW), ácidos p-coumárico (1,10±0,03mg/gÁcidos DW) y ferúlicos (2,35±0,04 mg/g DW) siendo éstos los compuestos principales (Ivanov *et al.*, 2014). Los principales metabolitos secundarios que posee son los alcaloides de la isoquinolina (Sajjad *et al.*, 2015).

El extracto metanólico de *F. officinalis* ha mostrado actividad inhibitoria contra patógenos como *B. subtilis*, *S. aureus* y *Cladosporium herbarum* (Sengul *et al.*, 2009). Extractos etanólicos realizados por Izzo *et al.*, (1995) probaron su acción contra *Proteus mirabilis*, *P. aeruginosa, Klebsiella pneumoniae, Salmonella typhi, S. aureus* y *B. subtilis* en el método de difusión en agar.



Figura 24. Fumaria officinalis. A. Vista general de la planta al estado reproductivo. B. Ramas y flores. C. Detalle de inflorescencia

### 25. Persicaria acuminata (Kunth) M. Gómez (Polygonaceae)

Nombre vulgar: Catay grande, sanguinaria del agua, cien nudos, lagunilla, yerba picante, plumerillo del campo, capiticova, erva de bicho, smarteed, bloodroot, knotweed, ca´atái (Lahitte *et al.*, 1998). Son hierbas perennes que crecen en zonas bajas, inundables, a orillas de arroyos y lagunas, floreciendo en otoño (Figura 25) (Lahitte *et al.*, 1998).

La decocción de la planta, en tomas, es diurética, depurativa, hipotensora, antiescorbútica, astringente, emenagoga, antisifílica y antihemorroidal; en cataplasmas es vulneraria (Lahitte *et al.*, 1998).

El género posee diversos componentes del metabolismo secundario como: fenilpropanoides, acetofenonas, chalconas, cumarinas, flavonoides, sesquiterpenoides, entre otros. Dentro de los sesquiterpenoides, los más relevantes son: drimenol, confertifolina, isopoligodial y poligodial (Derita y Zacchino, 2011a; Derita y Zacchino, 2011b; Derita *et al.*, 2009).

En estudios realizado por Derita *et al.* (2009) y Derita y Zacchino (2011b) se demostró que el extracto diclorometanico de las partes aéreas cosechadas en otoño poseía actividad antifúngica frente a *C. albicans*, *S. cerevisiae*, *C. neoformans*, *M. gypseum*, *T. rubrum* y *T. mentagrophytes*. En el mismo determinaron que dicha actividad correspondía a poligodial.

El compuesto poligodial demostró que una CIM de 16 μg/ml inhibió el crecimiento de *Clavibacter michiganensis* y con CIM de 64 μg/mL a *F. oxysporum* y *Phytophthora* spp, todos estos patógenos de tomate (Montenegro *et al.*, 2018).



Figura 25. Persicaria acuminata. A. Vista general de la planta. B. Hojas. C. Detalle de la inflorescencia

### 26. Citrus paradisi Macfad. (Rutaceae)

Nombre vulgar: Pomelo. Es una planta cultivada, híbrido producto de la retrocruza entre *C.* x aurantium (*C. maxima* x *C. reticulata*) y *C. maxima*. que en la región rioplatense es cultivada en huertos y jardines (Figura 26) (Lahitte *et al.*, 1998). Los aceites esenciales de los cítricos se usan ampliamente como aditivos alimentarios naturales debido a que se han clasificado como generalmente reconocidos como seguros (GRAS). Posee actividad antifúngica, antibacterial, anticancerígena y larvicida (Dosoky y Setzer, 2018).

El aceite esencial extraído de la piel por hidrodestilación está constituído por: D-limoneno (75,05%), seguido de β-myrceno (7,25%), α-pineno (2,11%), cariofileno (1,88%), octanal (1,68%) y β-felandreno (1,18%) (Okunowo *et al.*, 2013). Algunos de los componentes menores incluyeron δ-cadineno (0,89%), copaeno (0,82%), ftalato de metilo (0,54%), linalol (0,48%) y 3-careno (0,21%). El aceite esencial mostró una fuerte actividad antibacteriana contra *B. cereus, E. faecalis, E. coli, K. pneumoniae, Pseudococcus sp., S. flexneri* y *S. aureus* (Okunowo *et al.*, 2013). El extracto con metanol presentó una fuerte actividad antifúngica frente a *A. niger, C. albicans, C. cucumerinum, P. digitatum, P. italicum* y *P. chrysogenum* (Churata-Oroya *et al.*, 2016; Viuda-Martos *et al.*, 2008; Caccioni *et al.*, 1998).



Figura 26. Citrus paradisi. A. Vista general de la planta en fructificación. B. Frutos. C. Detalle de las flores

### 27. *Tropaeolum majus* L. (Tropaolaceae)

Nombre vulgar: Taco de reina, espuela de galán, espuela de cabellero, berro, chagas, flôr de sangue, common nasturtium (Lahitte *et al.*, 1998). Es una hierba trepadora o decumbente, con hojas peltadas originaria de Perú, extensamente cultivada como ornamental que florece en primavera y verano (Lahitte *et al.*, 1998).

Cultivada como ornamental, sus hojas se comen como hortaliza en ensaladas, además de las flores y las semillas por su sabor especiado, cosmético y dérmico (tónico capilar, antiséptico), antiescorbútico (Adame y Martínez, 2000; Del-Vitto *et al.*, 1998). La infusión de las hojas y flores se emplea como antiescorbútico, diurético, revitalizante y para combatir infecciones del sistema respiratorio y urinario. En aplicación externa (diluida ligeramente con alcohol), se emplea como analgésico, antiseborréico y antimicótico (Roig, 2001). Se utiliza a menudo en el tratamiento de varias enfermedades entre las que se encuentran trastornos cardiovasculares, infecciones del tracto urinario, asma y estreñimiento (Corrêa, 1984; Ferreira *et al.*, 2004).

La presencia de mirosina confiere el sabor picante a las Tropaeolaceae. Además, presenta glucosinolatos en las hojas y que han demostrado su poder anticancerígeno (Lykkesfeldt y Moller, 1993; Griffiths *et al.*, 2001). El aceite esencial está constituido por glucosinolatos (0,1%), principalmente glucotropeolina. Posee terpenoides, vitamina C (300 mg/100 g de planta fresca), carotenoides, ácidos orgánicos como ácidos málico y clorogénico, ácido erúcico, glucósidos de la quercetina, isoquercetina, isoquercitrina, helenina en flores, y sales minerales ricas en sulfato potásico (Faik *et al.*, 2000; Castellani *et al.*, 1996).

Se ha probado su efecto contra *B. subtilis, E. coli, S. aureus, Proteus mirabilis, Pneumococcus* sp., *Staphylococcus* sp., *Streptococcus* sp., *Candida* sp. y *Pseudomonas* sp. (Bloem *et al.*, 2007; Zanett *et al.*, 2003). Las fracciones hexánica y clorofórmica del extracto etanólico (70%) de hojas demostraron *in vitro* propiedades inhibitorias frente a *Staphylococcus epidermidis, S. aureus, E. coli, K. pneumoniae* y *Salmonella setubal*. El extracto etanólico de las partes aéreas demostró una actividad antifúngica en aislados aflatoxigenicos de *Aspergillus* sp.

con CIM y CFM de 100mg/ml y una discreta actividad antiparasitaria (CL<sub>50</sub>>5000 mg/l) en el bioensayo sobre nauplios de *Artemia fransciscana* en estadío II (Al-Jassani, 2009; Maguiña y Iannacone (2000).



Figura 27. Tropaeolum majus. A. Hojas. B. Flor. C. Detalle de fruto. Escala B. 1 cm. C. 1 cm

### 28. Lantana camara L. (Verbenaceae)

Nombre vulgar: Bandera española, camará de espinas, camará de dos colores, yerba de la cruz, camará miudo de espinho, common lantana, ca´mará.

Arbustos que crecen en bordes de montes o selvas, en lugares semisombríos, en suelos arcillosos o arenosos, en ambientes modificados, desde el nivel del mar hasta los 1000 m.s.n.m., florecen en verano y fructifican en otoño (Figura 28) (Lahitte *et al.*, 1998). Se realizan infusiones de hojas y flores empleándose como digestiva, carminativa, antirreumática, febrífuga y diurética (Alonso y Demachelliet, 2005).

En sus partes aéres se presentan triterpenoides policíclicos como lantadeno A, B, C y D, icterogenina, camarósido, ácido dihidroxi-ursanoico, ácido oleanónico, ácido hidroxi-oleanenoico, ácido 2-acetoxilantánico, ácidos lántico, lantanílico y lantoico (Naz y Bano, 2013; Ganjewala *et al.*, 2009; Begum *et al.*, 2008). Estudios recientes muestran un compuesto nuevo, denominado lantigdienona, junto con los ya reportados camarinina y ácido camangeloil, dos nuevos triterpenoides (ácido camarólico y ácido lantriglóico) y los triterpenos ácido camárico, lantanólico, lantanílico, pomólico, camarínico, lantóico, lantacina, camarina, camarinina y ácido ursólico (Begum *et al.*, 2010). En otras partes de la planta se reportan otros compuestos como: camarasido, glucósido flavónico presente en la hoja, α-amirina, α-felandreno, lantamarona, ácido camarínico, ácido lantabetúlico, triacontan-l-ol, lantanósido, lantanona, linarósido, glucósidos feniletanoides (verbascósido, isoverbascósido, martinósido, isonuomiósido A, calceolariósido E, deramnosil-verbascósido), iridoides (tevésido y genipósido) (Naz y Bano, 2013; Ganjewala *et al.*, 2009).

Se ha probado su acción antifúngica y antibacterial en *P. aeruginosa, A. niger, F. solani* y *C. albicans*. Naz y Bano (2013) encontraron inhibición del 71% y del 66% para *A. fumigatus* y *A. flavus* con extractos metanólicos de hojas. Además, posee efecto larvicida en *Aedes aegypti* y *Culex quinquefasciatus* (Kumar y Maneemegalai, 2008; Deena y Thoppil, 2000).



Figura 28. Lantana cámara. A. Vista general de la planta. B. Hojas. C. Inflorescencia.

### 29. Lippia alba (Mill.) N.E.Br. ex Britton & P. Wilson (Verbenaceae)

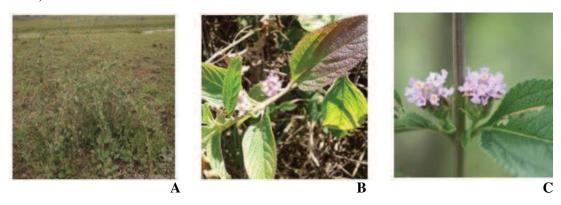
Nombre vulgar: Salvia morada.

Arbustos aromáticos que florece en primavera y verano. Se trata de un taxón muy variable y polimorfo, ampliamente distribuído en Sudamérica tropical y subtropical. En Argentina habita frecuentemente en las selvas o en galería a lo largo de los ríos (Figura 29) (Lahitte *et al.*, 1998). En medicina popular, la decocción de las hojas frescas se usa con frecuencia como analgésico, eupéptico y para tratar trastornos gastrointestinales como espasmos e indigestión (Di Stasi, 1994). Es utilizada para tratar una indigestión severa seguida de diarrea profusa, mediante infusión de las hojas durante nueve días consecutivos (Soraru y Bandoni, 1978). En Chaco se ha descrito que esta especie también se usaba como antitusiva, descongestiva, para el dolor de garganta y dolores de cabeza (Scarpa, 2004). En otras regiones de Argentina se usa como tintura preparada con 200 g de hojas secas y 70° de etanol (Alonso y Demachellier, 2005). Las partes aéreas se utilizan de forma externa para tratar enfermedades cutáneas, quemaduras, heridas y úlceras. La infusión de las raíces también se usa contra los resfriados y la tos (Scarpa, 2004).

El elemento predominante es el aceite esencial en hojas con rendimientos entre (0,5-1,5%) cuyo componente principal es el limoneno (Terblanché y Kornelius, 1996). Otros componentes encontrados en estos aceites, en orden decreciente de frecuencia, fueron: p-cimeno, α-pineno, alcanfor, p-cariofileno, linalool y timol. Dependiendo del perfil químico, se han definido varios quimiotipos. Oliveira *et al.*, (2006) sugirieron al menos 12 de estos. De acuerdo con Bandoni (2003) (en Alonso y Demachellier, 2005) retomando a Fester (1958) y estudios modernos de Blanco *et al.* (2013), en Argentina se han definido 5 variedades: tipo santafecina (con α-pineno, dihidrocarvona, alcanfor, citral y linalol), tipo entrerriana I (con d-limoneno,

lipiona), tipo entrerriana II (con d-piperitona), tipo norte santafecino (con citral), y tipo tucumano (con (-)-piperitona, limoneno y 1,8-cineol).

El aceite esencial de *L. alba* mostró actividades inhibitorias de crecimiento (entre 32,1 y 100%) contra hongos aflatoxigénicos como *A. flavus*, siendo sus CIMs más bajas que las del fungicida sistémico Bavistin (Shukla *et al.*, 2009). En ensayos realizados por Oliveira *et al.*, (2006) obtuvieron un AE rico en monoterpenos oxigenados y se ensayó frente a *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii*, *C. neoformans*, *T. rubrum*, *Fonsecaea pedrosoi* presentando halos de inhibición entre 1,1 a 5 cm. En hongos fitopatógenos, el aceite esencial fue probado en la germinación de teleutosporas de *Ustilago scitaminea*, conidios de *C. falcatum y Curvularia lunata*, siendo todos inhibidos en concentraciones desde 1000, 2000, 3000 y 4000 ppm (Rao *et al.*, 2000). Otros hongos fitopatógenos como *Fusarium* sp., *Penicillium funiculosum* y *Sclerotinia sclerotiorum* también fueron inhibidos a concentraciones de 1 μg/mL (De Oliviera Arruda *et al.*, 2019).



**Figura 29**. *Lippia alba*. **A**. Vista general de la planta a campo (Créditos fotográficos: IBODA-CONICET. Fuente: http://buscador.floraargentina.edu.ar/species/details/25285/15149). **B**. Detalle de hoja. **C**. Detalle de inflorescencia (Créditos fotográficos: Dr. J. F. Pensiero. Fuente: https://www.fca.unl.edu.ar/prodocova/IRUPE/index2Nueva.html)

## 30. Lippia turbinata Griseb. (Verbenaceae)

Nombre vulgar: Poleo

Son arbustos aromáticos que se extienden por el centro y oeste de la Argentina, habita principalmente en las provincias fitogeográficas del Chaco, Monte y del Espinal (Figura 30). Su parte aérea se emplea en Argentina como digestivo, diurético, tónico amargo, emenagogo y abortivo (Campos-Navarro y Scarpa, 2013). Es una de las especies utilizadas tradicionalmente en Argentina contra el "empacho" (Martinez-Crovetto, 1981).

Sus hojas presentan iridoides, flavonoides, aceite esencial (0,2-0,8%) compuesto principalmente por lipiona (1,2-epoxipulegona), d-limoneno, cineol, lipiafenol, dihidrolipiona, carvona, fenoles, 1,8-cineol, entre otros (Terblanche y Kornelius, 1996; Bailac *et al.*, 2006).

Extractos metanólicos que poseían flavonoides de plantas de la zona de Tucumán exhibieron actividades antimicrobianas en bacterias gram-positivas y gram-negativas con dosis equivalentes a cloranfenicol (Hernández *et al.*, 2000). La exposición de maníes a vapores del aceite esencial de poleo permitió evitar la contaminación con hongos del género *Aspergillus* (Passone y Etcheverry, 2014). En otros usos no microbianos, el aceite esencial demostró efectos repelentes frente al ácaro *Verroa destructor* y larvicida frente a *Culex quinquefasciatus* (Ruffinengo *et al.*, 2005; Kembro *et al.*, 2009).



**Figura 30** *Lippia turbinata* **A**. Vista general de la planta a campo (Créditos fotográficos: IBODA-CONICET. Fuente: http://buscador.floraargentina.edu.ar/species/details/25329/15181). **B**. Detalle de rama con hojas (Créditos fotográficos: Dr. J. F. Pensiero. Fuente: https://www.fca.unl.edu.ar/prodocova/IRUPE/index2Nueva.html). **C**. Detalle de inflorescencia. (Créditos fotográficos: Dr. J. F. Pensiero. Fuente: https://www.fca.unl.edu.ar/prodocova/IRUPE/index2Nueva.html)

# ANEXO II Condiciones meteorológicos

JDiaDeAño	Fecha	TMAX	TMED	TMIN	PATM	LLUVIA	HR	VVTO	RS
91	1/4/2019 00:00	26,4	24,5	22,2	1008,2	1,5	99		2,32
92	2/4/2019 00:00	32,2	25,7	20,3	1007,2	0	89		9,36
93	3/4/2019 00:00	32,8	25,9	20,5	1005,2	0	89		10,13
94	4/4/2019 00:00	30,9	23	17,4	1001	0	81		8,62
95	5/4/2019 00:00	23,8	17,3	10,6	1014,1	0	77		12,43
96	6/4/2019 00:00	25,9	17,7	10,5	1015,5	0	79		13,17
97	7/4/2019 00:00	27,9	17,9	9	1014,2	0	79		13,21
98	8/4/2019 00:00	28,3	19	10,6	1013,2	0	80		12,49
99	9/4/2019 00:00	29,2	21,6	14,1	1009,9	0	81		10,94
100	10/4/2019 00:00	29,7	23,7	19,2	1008,9	0	81		8,13
101	11/4/2019 00:00	23,3	17,3	11,6	1013,1	0	89		8,21
102	12/4/2019 00:00	25,7	17,2	10,3	1010,7	0	82		11,3
103	13/4/2019 00:00	29,3	19,9	11	1005,6	0	80		10,66
104	14/4/2019 00:00	31,7	23,8	16,6	1007,4	0	81		8,33
105	15/4/2019 00:00	21,4	18,4	14,8	1013	49,25	98		1,77
106	16/4/2019 00:00	24,4	17,5	10,8	1014,3	0	90		11,86
107	17/4/2019 00:00	26,8	18,7	11,6	1009,3	0	87		11,68
108	18/4/2019 00:00	28,7	21	15,3	1006,5	0	87		10,7
109	19/4/2019 00:00	30,5	24,1	20,1	1005,4	0	91		6,01
110	20/4/2019 00:00	26,8	22,8	18	1007,5	0	90		5,71
111	21/4/2019 00:00	22,5	18,2	14,7	1010,5	0	83		7,36
112	22/4/2019 00:00	16,3	15,1	13,9	1013,5	2,75	96		0,6
113	23/4/2019 00:00	20	16,2	13,6	1015,3	0	94		6,56
114	24/4/2019 00:00	17,4	15,7	13,8	1014,5	30,5	99		0,6
115	25/4/2019 00:00	18,9	18,2	17,5	1011,3	22,5	99		0,95
116	26/4/2019 00:00	20,2	18,8	18	1008,7	4,5	99		3
117	27/4/2019 00:00	21,1	18,1	16,4	1009,4	0	96		6,01
118	28/4/2019 00:00	23,7	18,4	14,7	1008,1	0	91		11,14
119	29/4/2019 00:00	26	17,8	12,2	1007,7	0	90		11,7
120	30/4/2019 00:00	22,7	17,4	13,6	1013	0	78		11,14
121	1/5/2019 00:00	25,4	16,6	8,6	1011,2	0	86		11,67
122	2/5/2019 00:00	26,9	20,3	15,3	1001,7	0	89		10,18
123	3/5/2019 00:00	26,9	21,9	19,3	1003,1	0	97		4,07
124	4/5/2019 00:00	24,3	22,2	19,8	1005,1	0,25	99		3,56
125	5/5/2019 00:00	23,6	21,9	19,8	1006,4	102,25	99		4,31
126	6/5/2019 00:00	22,6	18,9	16,6	1013,7	0	97		5,21
127	7/5/2019 00:00	20	17,4	15,3	1012,4	1	97		2,8
128	8/5/2019 00:00	20	17,6	15,5	1010,9	0	98		4,02
129	9/5/2019 00:00	21,2	19,1	17,4	1002,8	0,5	99		1,29
130	10/5/2019 00:00	21,9	17,2	11,5	1006,3	0	88		9,93

131	11/5/2019 00:00	21,3	13,7	8,4	1012,7	0	85	11,17
132	12/5/2019 00:00	23,5	14	6,5	1014,9	0	82	10,75
133	13/5/2019 00:00	23,9	14,6	7,7	1018,6	0	84	8,42
134	14/5/2019 00:00	21,4	14,6	9,3	1021,8	0	89	7,56
135	15/5/2019 00:00	22,2	14,6	7,8	1020,2	0	90	7,33
136	16/5/2019 00:00	24,1	17,2	10,5	1015,9	0	93	7,47
137	17/5/2019 00:00	25,9	19,9	14,6	1009	0	93	6,61
138	18/5/2019 00:00	23,5	19,5	16,9	1009,6	0	98	3,38
139	19/5/2019 00:00	16,8	15,4	13,1	1011,9	0	99	0,89
140	20/5/2019 00:00	17,5	16,7	15,6	1008,7	7,75	99	0,49
141	21/5/2019 00:00	16	14,4	12,1	1013,3	0,75	99	1,24
142	22/5/2019 00:00	14,3	13,1	11,3	1016,7	0	99	1,03
143	23/5/2019 00:00	18	11,9	7,2	1016,4	0	88	7,94
144	24/5/2019 00:00	21,2	11,9	3,9	1012,5	0	87	7,66
145	25/5/2019 00:00	20,3	14,1	9,2	1009	0	93	4,97
146	26/5/2019 00:00	21,2	16,1	12,2	1005,7	0	95	4,3
147	27/5/2019 00:00	14,9	12,8	10,7	1007	0	99	1,62
148	28/5/2019 00:00	19,8	14	10,4	1010,2	0	97	5,08
149	29/5/2019 00:00	18,7	15,6	11,1	1012	0	98	3,24
150	30/5/2019 00:00	16,2	14,9	13,2	1010	0,75	99	1,16
151	31/5/2019 00:00	18,7	14,8	11,1	1011,6	0	94	5,32
152	1/6/2019 00:00	18	15,4	12,5	1012,6	1,5	99	3,23
153	2/6/2019 00:00	18,7	13,1	9,6	1016,7	0	99	3,74
154	3/6/2019 00:00	21,9	13,9	7,7	1019,7	0	92	7,41
155	4/6/2019 00:00	21,8	15,3	10,2	1016,7	0	91	6,76
156	5/6/2019 00:00	21,8	16,4	13	1009,4	0	92	8,3
157	6/6/2019 00:00	24	18,6	14,8	1005,2	0	92	11,22
158	7/6/2019 00:00	19,6	15,7	8,5	1013	0	84	12,23
159	8/6/2019 00:00	20,7	11,4	4,4	1015,7	0	81	13,74
160	9/6/2019 00:00	18,1	13,6	7,2	1010,4	0	99	5,41
161	10/6/2019 00:00	18,9	16,3	11,8	1009,3	0,25	99	2
162	11/6/2019 00:00	23,5	19,4	17,6	1007,4	0	97	7,89
163	12/6/2019 00:00	24,6	20,3	18,2	1004	0	99	6,55
164	13/6/2019 00:00	23,7	20,5	18	1003,3	0,25	99	2,49
165	14/6/2019 00:00	17,2	15,4	14	1010	0,75	98	5,35
166	15/6/2019 00:00	14,7	13,2	12,1	1010,3	11,75	99	0,33
167	16/6/2019 00:00	11,6	10,6	9,7		13,5	93	
168	17/6/2019 00:00	11,1	10,5	10	1014,1	7,25	99	0,44
169	18/6/2019 00:00	17,4	12	9,1	1011,5	0,75	86	11,36
170	19/6/2019 00:00	19,4	11,8	5,8	1016,1	0	80	12,64
171	20/6/2019 00:00	19,6	11	3,2	1017,1	0	85	12,21
172	21/6/2019 00:00	21,7	15,5	9,8	1012,8	0	95	7,22

173	22/6/2019 00:00	27,1	20,1	16,2	1012,3	0	97		9,42
174	23/6/2019 00:00	28,6	21,5	18	1006,4	0	92		11,3
175	24/6/2019 00:00	23,4	19,3	17,1	999,4	0	99		7,7
176	25/6/2019 00:00	16,6	9,3	3,6			59		
177	26/6/2019 00:00	16,1	8,6	2,1	1011,9	0	68		12,39
178	27/6/2019 00:00	18,4	11,3	5,1	1006,1	0	75		11,98
179	28/6/2019 00:00	18,4	15,5	12,8	1002,4	0	99		2,71
180	29/6/2019 00:00	17,8	14,4	12,5	1005,3	0	98		4,29
181	30/6/2019 00:00	14,4	10,2	6	1015,2	0	93		9,57
182	1/7/2019 00:00	16	8,3	1,1	1015,8	0	84		12,11
183	2/7/2019 00:00	17,2	9,9	4,8	1005	0	87	15,8	11,23
184	3/7/2019 00:00	15,4	7,1	1,4	1011,5	0	77	70,5	6,55
185	4/7/2019 00:00	13,2	7,6	2,2	1016,7	0	83	50,8	3,35
186	5/7/2019 00:00	11,4	5,1	0,1	1025,8	0	78	90,4	6,52
187	6/7/2019 00:00	13,9	5,3	-1,7	1025,5	0	83	50	6,31
188	7/7/2019 00:00	15,1	8,7	4,2	1020,3	0	79	141	5,67
189	8/7/2019 00:00	18,2	10,5	3,3	1015,7	0	80	132,2	6,3
190	9/7/2019 00:00	22,3	14,3	7,3	1014,1	0	86	53,9	5,25
191	10/7/2019 00:00	23,3	16,9	13,2	1010,6	0	90	55,6	4,94
192	11/7/2019 00:00	25,4	18,7	14,5	1005,9	0	93	70	4,1
193	12/7/2019 00:00	17,3	14,3	10,2	1008,6	0	99	142,8	2,24
194	13/7/2019 00:00	16,8	11,7	6,9	1012	0	92	80,5	4,32
195	14/7/2019 00:00	17,8	11,6	6,9	1013,4	0	89	55,1	5,26
196	15/7/2019 00:00	20,4	12,9	5,0		0	75		
197	16/7/2019 00:00	19,2	12,6	3,6		0	64		
198	17/7/2019 00:00	20,6	13,7	6,8		0	66		
199	18/7/2019 00:00	17,7	11,4	6,1	1013,6	0	80		
200	19/7/2019 00:00	14,2	9,3	4,6	1012,2	0	88		
201	20/7/2019 00:00	16,2	9,6	3,6	1004,0	0,2	86		
202	21/7/2019 00:00	17,5	10,6	3,9	996,4	0	75		
203	22/7/2019 00:00	19,4	12,8	7,9	1011,3	0	55		
204	23/7/2019 00:00	19,0	11,7	4,0	1017,6	1,2	80		
205	24/7/2019 00:00	20,7	13,5	6,8	1023,5	1,8	86		
206	25/7/2019 00:00	20,9	15,2	11,3	1015,6	34,2	96		
207	26/7/2019 00:00	23,6	17,4	12,5	1016,5	0,6	96		
208	27/7/2019 00:00	26,1	19,1	14,4	1022,3	0,6	85		
209	28/7/2019 00:00	29,5	21,6	14,4	1016,9	0	94		
210	29/7/2019 00:00	14,8	11,9	9,4	1014,1	0	94	20,2	2,64
211	30/7/2019 00:00	18,8	12	4,4	1013,5	0	93	23,4	6,46
212	31/7/2019 00:00	24,6	16	10,2	1004,9	0,25	91	93,7	6,32
213	1/8/2019 00:00	18	14,1	7,2	1009,7	0	70	212,2	3,46
214	2/8/2019 00:00	17	9	2,9	1022,5	0	71	96,8	7,17

215	3/8/2019 00:00	18,4	9,1	2	1024,3	0	66	17,2	7,34
216	4/8/2019 00:00	18,8	10,6	2,6	1023	0	74	101,2	7,32
217	5/8/2019 00:00	20,7	13	6,6	1016,4	0	76	176,2	7,53
218	6/8/2019 00:00	25,6	16,8	10,8	1008,4	0	76	170,6	7,45
219	7/8/2019 00:00	18,8	14,1	8	1012,6	0	90	164,2	6,37
220	8/8/2019 00:00	13,6	12,3	10,6	1015,6	0	91	276,7	1,64
221	9/8/2019 00:00	10,6	8,8	7,2	1014,7	7,5	99	214,9	2,22
222	10/8/2019 00:00	17,3	8,6	0,7	1016,1	0	76	54,2	8,42
223	11/8/2019 00:00	18,6	11,4	4,9	1010,4	0	78	91,8	
224	12/8/2019 00:00	17,8	11,0	5,8	1017,7	0	71	126,8	
225	13/8/2019 00:00	13,0	6,3	0,6	1030,2	0	68	150,8	
226	14/8/2019 00:00	13,4	6,9	1,1	1027,1	0	70	117,5	
227	15/8/2019 00:00	17,7	10,3	3,7	1017,1	0	75	186,1	
228	16/8/2019 00:00	25,5	15,5	6,8	1008,2	0	81	85,1	
229	17/8/2019 00:00	22,3	17,3	10,9	1004,1	0	80	14,0	
230	18/8/2019 00:00	17,7	11,4	6,1	1018,5	0	81	115,5	
231	19/8/2019 00:00	14,2	9,3	4,6	1023,8	0	67	131,3	
232	20/8/2019 00:00	16,2	9,6	3,6	1024,3	0	67	115,8	
233	21/8/2019 00:00	17,5	10,6	3,9	1021,6	0	68	78,6	
234	22/8/2019 00:00	19,4	12,8	7,9	1022,2	0	64	171,4	
235	23/8/2019 00:00	19,0	11,7	4,0	1019,8	0	71	12,1	
236	24/8/2019 00:00	20,7	13,5	6,8	1015,6	0	67	2,8	
237	25/8/2019 00:00	20,9	15,2	11,3	1012,3	3,8	76	123,7	
238	26/8/2019 00:00	23,6	17,4	12,5	1012,1	0,6	88	95,2	
239	27/8/2019 00:00	26,1	19,1	14,4	1014,8	0	82	96,3	
240	28/8/2019 00:00	29,5	21,6	14,4	1006,7	0	74	158,4	
241	29/8/2019 00:00	25,7	21,0	14,5	1004,4	0	62	88,5	
242	30/8/2019 00:00	18,5	14,9	10,5	1009,6	24	78	157,9	5,34
243	31/8/2019 00:00	17,5	13,6	9,2	1016,2	0	59,0	98,4	
244	1/9/2019 00:00	21,4	12,7	4,1	1016,5	0	57,0	106,0	
245	2/9/2019 00:00	20,9	12,8	5,4	1013,0	0	61,3	172,8	
246	3/9/2019 00:00	23,1	13,3	6,6	1020,8	0	57,0	74,7	8,34
247	4/9/2019 00:00	16,9	10	1,9	1023,6	0	63	78,4	9,63
248	5/9/2019 00:00	15	10,6	7,1	1022,2	0	67	196,9	8,94
249	6/9/2019 00:00	18,4	12,2	6,8	1012,2	0	84	137,4	6,78
250	7/9/2019 00:00	21,1	16	12,1	1008,5	0	92	113	7,23
251	8/9/2019 00:00	19,9	15,3	10,1	1007,3	0	92	64	6,27
252	9/9/2019 00:00	16,6	15	13,6	1004,2	69,25	99	187,6	2,41
253	10/9/2019 00:00	17,9	15,2	12,8	1012,5	0	96	108,5	4,97
254	11/9/2019 00:00	19,7	15,2	11,2	1012,5	0	91	145,1	7,39
255	12/9/2019 00:00	18,7	12	7,2	1017,8	0	81	115,2	11,11
256	13/9/2019 00:00	20,4	12,7	4,7	1016,2	0	80	81,6	11,5

257	14/9/2019 00:00	24	17	10,4	1007,9	0	86	120,8	10,88
258	15/9/2019 00:00	29,2	21,4	14,1	1000,1	0	87	169,5	9,65
259	16/9/2019 00:00	21,6	17	10,8	1011,5	0	76	251	7,81
260	17/9/2019 00:00	21,5	14,5	5,5	1009,9	0	62	41,8	9,45
261	18/9/2019 00:00	26,6	17,1	9	1004,1	0	66	73,5	11,57
262	19/9/2019 00:00	20,3	14,7	8,2	1003,9	0	63	194,7	8,95
263	20/9/2019 00:00	21	12,2	3,9	1015,9	0	56	53,5	12,28
264	21/9/2019 00:00	24,2	14,2	4,3	1016,8	0	60	64,2	12,66
265	22/9/2019 00:00	24,6	16,4	6,6	1020,3	0	66	145,9	12,52
266	23/9/2019 00:00	23	16,5	11,2	1016,9	0	69	199,2	10,29
267	24/9/2019 00:00	27,6	18,3	9,6	1015,8	0	68	46,2	12,77
268	25/9/2019 00:00	29,6	18,8	8,5	1014,8	0	69	19,9	12,71
269	26/9/2019 00:00	30	20,7	9,9	1013,5	0	65	70,7	12,46
270	27/9/2019 00:00	27,8	21,2	14,9	1011,5	0	70	244,5	12,36
271	28/9/2019 00:00	28,1	20,4	13,4	1008,4	0	77	198,3	12,25
272	29/9/2019 00:00	33,6	24,3	15	1002,8	0	73	191,8	11,82
273	30/9/2019 00:00	37,2	28,3	21,2	993,9	0	66	194	10,16
274	1/10/2019 00:00	22,8	16,7	14,3	999,1	1,75	90	315,7	1,99
275	2/10/2019 00:00	18,9	15,9	13,9	1010,6	0	71	275,7	8,49
276	3/10/2019 00:00	16,6	14,3	12,9	1014,2	1,25	96	159,1	1,15
277	4/10/2019 00:00	15,3	14,3	12,8	1012,3	1,25	99	154,3	1,59
278	5/10/2019 00:00	20,1	14,7	10,9	1016,4	0	81	149,5	14,09
279	6/10/2019 00:00	23,6	15,5	6,8	1015,3	0	73	72,1	15,81
280	7/10/2019 00:00	29	20,5	11,1	1008,9	0	79	100	14,75
281	8/10/2019 00:00	23,7	19,2	17,3	1011,8	8,25	89	114,9	4,76
282	9/10/2019 00:00	30,7	23	15,5	1008,4	0	80	134,1	12,98
283	10/10/2019 00:00	34,5	26,4	18,6	1002,7	0	75	183,2	12,84
284	11/10/2019 00:00	38,5	30	22	998,8	0	72	150,5	12,32
285	12/10/2019 00:00	39,8	31	25	996,4	0	76	190,8	12,31
286	13/10/2019 00:00	23,9	20,9	15,8	1008,5	10	90	248	9,01
287	14/10/2019 00:00	15	12,7	9,8	1019,4	1,75	82	248,1	5,14
288	15/10/2019 00:00	12,7	10,9	8,4	1018,9	3,75	95	155,4	2,18
289	16/10/2019 00:00	16,6	14,9	12,7	1013,4	2,25	99	70,9	2,54
290	17/10/2019 00:00	20,2	17,6	14,4	1009,7	4	97	88,3	5,18
291	18/10/2019 00:00	25,9	18,7	11,4	1014,2	0	79	108,5	15,23
292	19/10/2019 00:00	25,4	18,8	11,3	1015,9	0	74	113,3	14,65
293	20/10/2019 00:00	17,2	15	13	1012,2	7,75	98	65,1	1,11
294	21/10/2019 00:00	23,4	17	10,9	1011,4	0	81	84,6	15,45
295	22/10/2019 00:00	21,4	16,6	11,5	1011,4	0	89	95,8	10,96
296	23/10/2019 00:00	27,3	19,3	11,7	1010,7	0	80	38,4	12,26
297	24/10/2019 00:00	29,8	21,7	14	1008,9	1,75	77	118,4	13,32
298	25/10/2019 00:00	30,6	22,6	16,3	1010,3	1,5	78	132,3	15,25

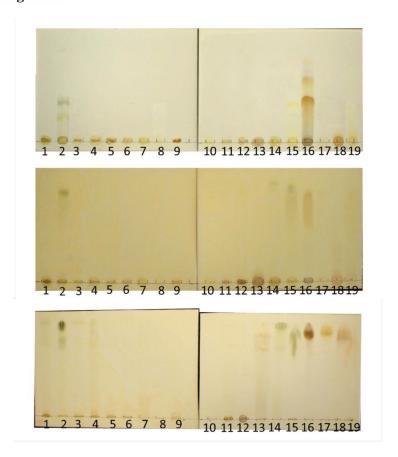
299	26/10/2019 00:00	31,5	24,2	16,1	1002,1	0	68	223,8	14,71
300	27/10/2019 00:00	29,4	24,5	20,1	998,2	0	85	234,5	9,68
301	28/10/2019 00:00	29	23,9	19,1	998	0	88	148,7	10,69
302	29/10/2019 00:00	25,7	21,1	17,8	999,8	0,25	96	175,5	6,36
303	30/10/2019 00:00	22,5	19,6	16,6	1004,9	0,25	95	171,5	2,38
304	31/10/2019 00:00	26,5	20,4	12,7	1010,6	0	82	190,2	15,21

# ANEXO III Cromatoláminas y Cromatogramas

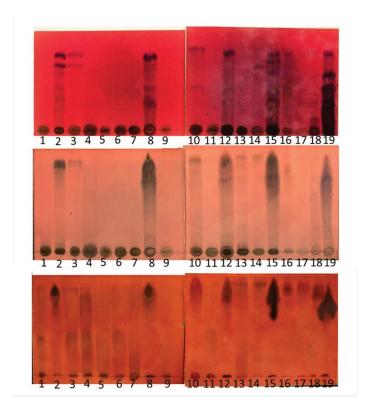
CCF

1	MeOH de A. majus	11	MeOH de S. americanus fl
2	Ac de A. inulaefolium hj	12	H de S. californicus rz
3	MeOH de A. inulaefolium hj	13	Ac de S. californicus rz
4	MeOH de B. salicifolia	14	Ac de F. officinalis
5	MeOH de E. plantagineum pa	15	H de P. acuminatum
6	Ac de E. plantagineum fl	16	DCM de P. madagascariensis
7	MeOh de R. rugosum pa	17	H de P. madagascariensis
8	H de R. rugosum fl	18	DCM de P. neochilus
9	MeOH de R. rugosum fl	19	H de P. neochilus
10	H de S. americanus fl		

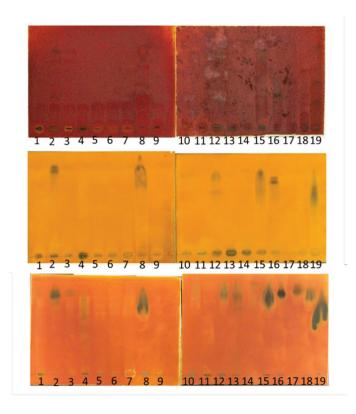
# Reactivo de Dragendorff



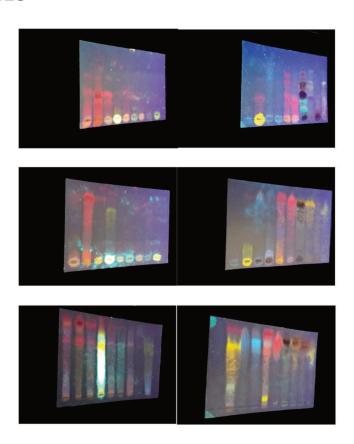
# Reactivo anisaldehído-ácido sulfúrico



# Reactivo cloruro férrico

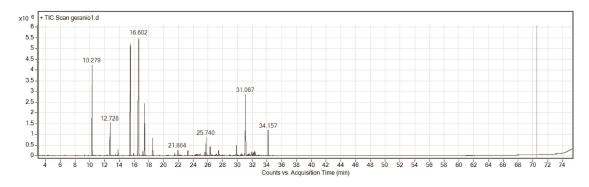


# Reactivo NP-NPPEG

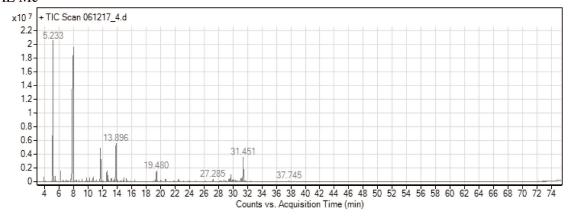


## **Cromatogramas Gaseosos**

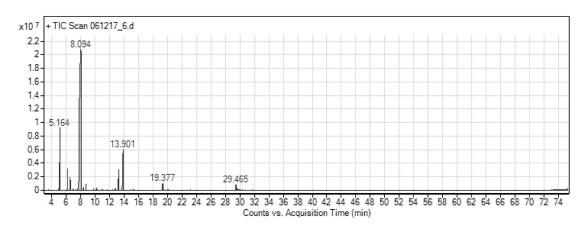
## AE Pg



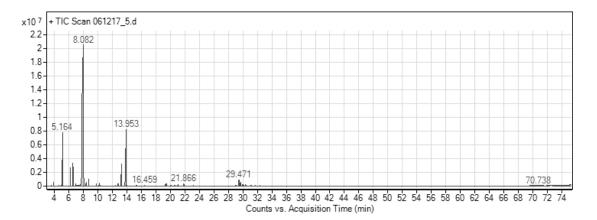
### AE Mc



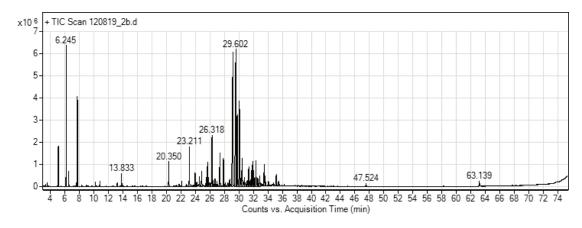
## AE Ml



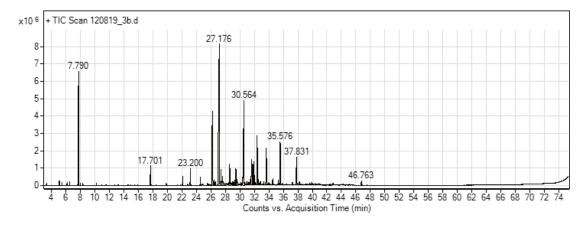
AE Mlvar.l



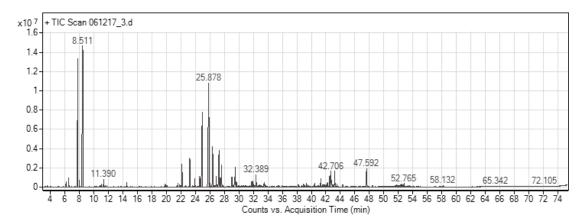
### AE Bf



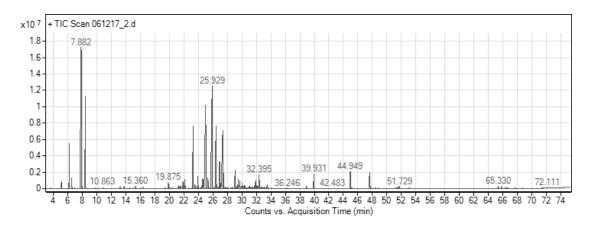
### AE Bs



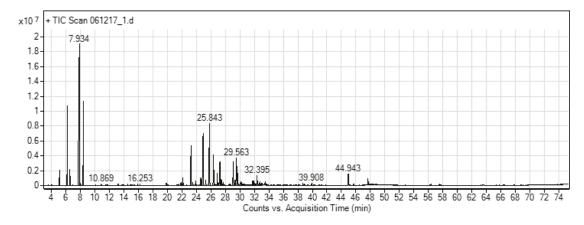
AE Cbvar.ang



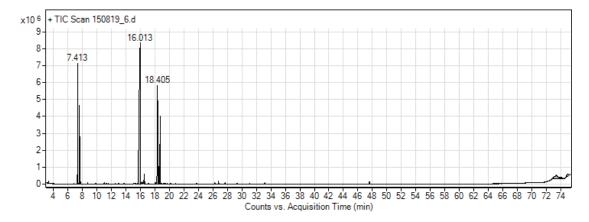
### AE Cbvar.bon



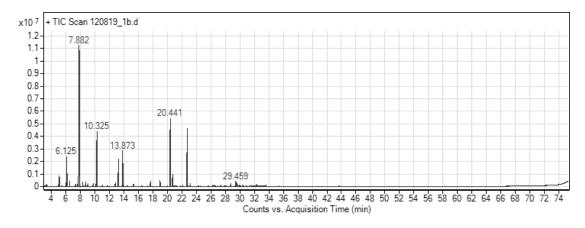
### AE Cs



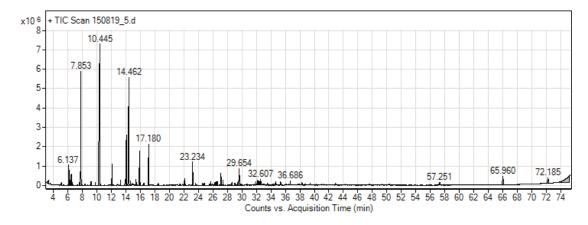
AE Da



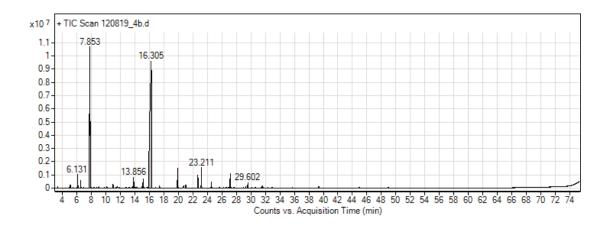
### AE Ln



### AE La



AE Lt



### **BIBLIOGRAFÍA CITADA**

Agrios, G.N. (2005). *Plant Pathology*. 5th ed. Amsterdam: Elsevier Academic Press.

Araya L. H., Clavijo, C., & Herrera, C. (2006). Capacidad antioxidante de frutas y verduras cultivados en Chile. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 56(4), 361-365. Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\_arttext&pid=S000406222006000400008&lng=es&tln

Abad, M. J., & Bermejo, P. (2007). *Baccharis* (Compositae): a review update. *Arkivoc*, 7(7), 76-96. http://dx.doi.org/10.3998/ark.5550190.0008.709.

Abdel-Aal, E. S., & Hucl, P. (1999). A rapid method for quantifying total anthocyanins in blue aleurone and purple pericarp wheats. *Cereal chemistry*, 76(3), 350-354. https://doi.org/10.1094/CCHEM.1999.76.3.350.

Abd-Elkader, D. Y., Salem, M. Z., Komeil, D. A., Al-Huqail, A. A., Ali, H. M., Salah, A. H., & Hassan, H. S. (2021). Post-harvest enhancing and *Botrytis cinerea* control of strawberry fruits using low cost and eco-friendly natural oils. *Agronomy*, 11(6), 1246. https://doi.org/10.3390/agronomy11061246.

Abdel-Mogib, M., Albar, H. A., & Batterjee, S. M. (2002). Chemistry of the genus *Plectranthus. Molecules*, 7(2), 271-301. https://doi.org/10.3390/70200271.

Abountiolas, M., Kelly, K., Yagiz, Y., Li, Z., Mahnken, G., Borejsza-Wysocki, W., & do Nascimento Nunes, M. C. (2018). Sensory quality, physicochemical attributes, polyphenol profiles, and residual fungicides in strawberries from different disease-control treatments. *Journal of agricultural and food chemistry*, 66(27), 6986-6996. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b02153.

Acuña O., & Llerena, T. (2001). *Manual Postcosecha de frutilla*. Escuela Politécnica Nacional. Gráficas Gumar, Quito. Disponible en: http://repositorio.educacionsuperior.gob.ec/bitstream/28000/906/1/LSENESCYT-0078.pdf.

Adame, J., & Martínez, H. A. (2000). *Plantas curativas del noreste mexicano: Nuevo León, Coahuila, Tamaulipas y altiplano potosino*. Ediciones Castillo, México.

Adeniyi, T. A., Adeonipekun, P. A., & Omotayo, E. A. (2014). Investigating the phytochemicals and antimicrobial properties of three sedge (Cyperaceae) species. *Notulae Scientia Biologicae*, 6(3), 276-281. https://doi.org/10.15835/nsb639356.

Aderogba, M. A., McGaw, L. J., Bagla, V. P., Eloff, J. N., & Abegaz, B. M. (2014). *In vitro* antifungal activity of the acetone extract and two isolated compounds from the weed, *Pseudognaphalium luteoalbum*. *South African Journal of Botany*, 940, 74-78. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2014.06.003.

Adlercreutz, E. G. (2016). Cultivos anuales y bianuales de frutilla en el sudeste de la provincia de Buenos Aires: modificaciones en los parámetros de crecimiento. [Tesis Maestría]. Universidad Nacional del Litoral. Disponible en: http://hdl.handle.net/11185/851.

Adobe Inc. (2019). Adobe Photoshop. Retrieved from https://www.adobe.com/products/photoshop.html.

Africano, K. L., Almanza-Merchán, P. J., Criollo, E., Herrera, A., Balaguera-López, H. E. (2016). Postharvest characterization of peach fruit [*Prunus persica* (L.) Batsch] cv. Dorado produced under high-altitude tropical conditions. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 10(2), 232-240. https://doi.org/10.17584/rcch.2016v10i2.5712.

Agati, G., Brunetti, C., Fini, A., Gori, A., Guidi, L., Landi, M., & Tattini, M. (2020). Are flavonoids effective antioxidants in plants? Twenty years of our investigation. Antioxidants, 9(11), 1098. https://doi.org/10.3390/antiox9111098.

Agarwal, K. K., Khanuja, S. P., Ahmad, A., Santha Kumar, T. R., Gupta, V. K., & Kumar, S. (2002). Antimicrobial activity profiles of the two enantiomers of limonene and carvone isolated from the oils of *Mentha spicata* and *Anethum sowa*. *Flavour and Fragrance Journal*, 17(1), 59-63. https://doi.org/10.1002/ffj.1040.

Ahmad, A., Patel, I., Sanyal, S., Balkrishnan, R., & Mohanta, G. P. (2014). A study on drug safety monitoring program in India. *Indian journal of pharmaceutical sciences*, 76(5), 379. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4243254.

Ahmed, A. A. (2000). Highly oxygenated monoterpenes from *Chenopodium ambrosioides*. *Journal of Natural Products*, 63(7), 989-991. https://doi.org/10.1021/np990376u.

Alara, O. R., Abdurahman, N. H., & Ukaegbu, C. I. (2021). Extraction of phenolic compounds: A review. *Current Research in Food Science*, 4, 200-214. https://doi.org/10.1016/j.crfs.2021.03.011.

Al-Fadhal, F. A., AL-Abedy, A. N., & Al-Janabi, M. M. (2018). Molecular identification of novel isolates of *Rhizoctonia solani* Kühn and *Fusarium* spp. (Matsushima) isolated from petunia plants (*Petunia hybrida* L.). *Plant Archives*, 18(1), 703-711. Disponible en: http://plantarchives.org/PDF%20181/703-711%20(PA3%204178).pdf.

Al-Hadhrami, R. M. S., Al Muniri, R. M. S., & Hossain, M. A. (2016). Evaluation of antimicrobial and cytotoxic activities of polar solvent extracts from leaves of *Ammi majus* used by the omanis. *Pacific Science Review A: Natural Science and Engineering*, 18(1), 62-65. https://doi.org/10.1016/j.psra.2016.08.002.

Ali, Q., Kurubas, M. S., Ustun, H., Balkhi, M., & Erkan, M. (2022). Evaluation of Foliar Organic Fertilizer, Biofertilizer and Biological Fungicide on the Antioxidant Compounds and Postharvest Quality Attributes of Strawberry Fruit. *Erwerbs-Obstbau*, 1-12. https://doi.org/10.1007/s10341-022-00659-w.

Alisoltani, A., Karimi, M., Ravash, R., Fallahi, H., & Shiran, B. (2019). *Molecular responses to cold stress in temperate fruit crops with focus on Rosaceae family*. En: Rajpal, V., Sehgal, D., Kumar, A., Raina, S. (eds) Genomics Assisted Breeding of Crops for Abiotic Stress Tolerance, Vol. II (pp. 105-130). Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-99573-1\_7.

Al-Jassani, M. J. (2009). *Tropaeolum Majus* Leaves Extract as an Antifungal, Antiaflatoxigenic and Antiaflatoxin Agent. *Journal of Global Pharma Technology*, 12(09), 328-333. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/322629049.

Almeida, F., Rodrigues, M. L., & Coelho, C. (2019). The still underestimated problem of fungal diseases worldwide. *Frontiers in microbiology*, 10, 214. https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00214.

Alonso, J., & Desmarchelier, C. (2005). *Plantas autóctonas medicinales de la Argentina*. Buenos Aires, Argentina, LOLA.

Alonso, J. R. (1998). *Tratado de Fitomedicina: Bases Clínicas y Farmacológicas*. Buenos Aires, Argentina, Editorial Isis.

Al-Snafi, A. E. (2013). Chemical constituents and pharmacological activities of *Ammi majus* and *Ammi visnaga*. A review. *International Journal of Pharmacy and Industrial Research*, 3(3), 257-265. Disponible en: https://www.academia.edu/download/37073231/46.pdf.

Alsohaili, S. A., & Bani-Hasan, B. M. (2018). Morphological and molecular identification of fungi isolated from different environmental sources in the Northern Eastern desert of Jordan *Journal of Biological Sciences*, 11(3). Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/323377785.

Álvarez, M. E., Isaza, G., & Echeverry, H. M. (2005). Efecto antibacteriano *in vitro* de *Austroeupatorium inulaefolium* HBK (Salvia amarga) y *Ludwigia polygonoides* HBK (Clavo de laguna). *Biosalud*, 4, 46-55. Disponible en: https://revistasojs.ucaldas.edu.co/index.php/biosalud/article/view/5860.

Alves, J. A. V., Steffens, C. A., da Silva, J. C., Pansera-Espíndola, B., do Amarante, C. V. T., & Moreira, M. A. (2022). Quality of 'San Andreas' strawberries and control of gray mold with essential melaleuca oil. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(1), e16130. https://doi.org/10.1111/jfpp.16130.

Amat, A. G. (1983). Taxones de Compuestas Bonaerenses críticos para la investigación farmacológica. *Acta Farmaceutica Bonaerense*, 2(1), 23-36. Disponible en: http://www.latamjpharm.org/trabajos/2/1/LAJOP\_2\_1\_3\_1\_MICAOYZ892.pdf.

Amel, O. H., Malek, B. H., Hichem, B. J., Ali, L., Mahjoub, A., & Boulbaba, S. (2013). Antioxidant and anti-acetylcholinesterase activities of extracts from *Rapistrum rugosum* in Tunisia. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 3(5), 367-374. https://doi.org/10.1016/S2222-1808(13)60086-9.

Amoriello, T., Ciccoritti, R., & Ferrante, P. (2022). Prediction of Strawberries' Quality Parameters Using Artificial Neural Networks. *Agronomy*, 12(4), 963. https://doi.org/10.3390/agronomy12040963.

Ampt, E. A., van Ruijven, J., Raaijmakers, J. M., Termorshuizen, A. J., & Mommer, L. (2019). Linking ecology and plant pathology to unravel the importance of soil-borne fungal pathogens in species-rich grasslands. *European Journal of Plant Pathology*, 154(1), 141-156. https://doi.org/10.1007/s10658-018-1573-x.

Anagnostopoulou, K., Nannou, C., Evgenidou, E., & Lambropoulou, D. (2022). Overarching issues on relevant pesticide transformation products in the aquatic environment: A review. *Science of The Total Environment*, 152863. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.152863.

Anderson, I. C., & Parkin, P. I. (2007). Detection of active soil fungi by RT-PCR amplification of precursor rRNA molecules. *Journal of microbiological methods*, 68(2), 248-253. https://doi.org/10.1016/j.mimet.2006.08.005.

Antonioli, P., Fontanella, G., Echeverrigaray, S., Longaray Delamare, A. P., Pauletti, G., Barcellos, T. (2020). nanocapsules containing lemongrass essential oil for postharvest decay control: *In vitro* and *in vivo* evaluation against phytopathogenic fungi. *Food Chemistry*, 326, 126997. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126997.

Antunes, L. E. C., & Peres, N. A. (2013). Strawberry production in Brazil and south america. *International Journal of Fruit Science*, 13(1-2), 156-161. https://https://doi.org/10.1080/15538362.2012.698147.

Ara, T., Monzur, S., Saand, M. A., Islam, R., Alam, S., & Hossain, M. (2017). The first report of *Pestalotiopsis* sp. causing crown rot disease on strawberry (*Fragaria X ananassa* Duch.) in Bangladesh and evaluation of fungicide activity. *International Journal of Biosciences*, 11(4), 350-358. https://doi.org/10.12692/ijb/11.4.350-358.

Araujo, L., Moujir, L. M., Rojas, J., Rojas, L., Carmona, J., & Rondón, M. (2013). Chemical Composition and Biological Activity of *Conyza Bonariensis* Essential Oil Collected in Mérida, Venezuela. *Natural Product Communications*, 8(8). https://doi.org/10.1177/1934578X1300800838.

Arreghini, S., de Cabo, L., & de Iorio, A. F. (2006). Phytoremediation of two types of sediment contaminated with Zn by *Schoenoplectus americanus*. *International Journal of Phytoremediation*, 8(3), 223-232. https://doi.org/10.1080/15226510600846764.

Arul, J. (1994). *Emerging technologies for the control of postharvest diseases of fresh fruits and vegetables*. En: Wilson C.L. & Wisniewski M.E. (Eds.), Biological Control of Postharvest Diseases–Theory and Practice (Pp. 1-7). Florida: CRC Press Boca Raton.

Ascensão, L., Figueiredo, A. C., Barroso, J. G., Pedro, L. G., Schripsema, J., Deans, S. G., & Scheffer, J. J. (1998). *Plectranthus madagascariensis*: morphology of the glandular trichomes, essential oil composition, and its biological activity. *International Journal of Plant Sciences*, 159(1), 31-38. https://doi.org/10.1086/297518.

Avila-Sosa, R., Gastélum-Reynoso, G., García-Juárez, M., de la Cruz Meneses-Sánchez, M., Navarro-Cruz, A. R., & Dávila-Márquez, R. M. (2011). Evaluation of different Mexican plant extracts to control anthracnose. *Food and Bioprocess Technology*, 4(4), 655-659. https://doi.org/10.1007/s11947-009-0318-4.

Ayala-Zavala, J. F., Wang, S. Y., Wang, C. Y., & González-Aguilar, G. A. (2004). Effect of storage temperatures on antioxidant capacity and aroma compounds in strawberry fruit. *LWT-Food Science and Technology*, 37(7), 687-695. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2004.03.002.

Azevedo, M. M., Faria-Ramos, I., Cruz, L. C., Pina-Vaz, C., & Goncalves Rodrigues, A. (2015). Genesis of azole antifungal resistance from agriculture to clinical settings. *Journal of agricultural and food chemistry*, 63(34), 7463-7468. https://https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b02728.

Babu, K. G., & Kaul, V. K. (2005). Variation in essential oil composition of rose-scented geranium (*Pelargonium* sp.) distilled by different distillation techniques. *Flavour and fragrance journal*, 20(2), 222-231. https://doi.org/10.1002/ffj.1414.

Baggio, J. S., Gonçalves, F. P., Lourenço, S. A., Tanaka, F. A. O., Pascholati, S. F., & Amorim, L. (2016). Direct penetration of *Rhizopus stolonifer* into stone fruits causing rhizopus rot. *Plant Pathology*, 65(4), 633-642. https://doi.org/10.1111/ppa.12434.

Bailac, P. N., Gende, L., Gascón, A., Fritz, R., Ponzil, M. I., & Eguaras, M. (2006). Control of *Ascosphaera apis* and *Paenibacillus larvae* subsp. *larvae* by the use of essential oils for obtaining beehive products without toxic residues. *Molecular Medicinal Chemistry*, 11, 1-2. Disponible en: http://idecefyn.com.ar/mmcv11/01mmv11.pdf.

Bandoni, A. L. (2003). Los recursos vegetales aromáticos en Latinoamérica. Su aprovechamiento industrial para la producción de aromas y sabores. CYTED. *Ciencia y tecnología para el desarrollo*, 2, 85. https://www.academia.edu/15574491/Bandoni\_LOS\_RECURSOS\_VEGETALES\_AROM%C3%81TICOS\_EN\_LATINOAM%C3%89RICA.

Bandoni, A. L., Mendiondo, M. E., Rondina, R. V. D., & Coussio, J. D. (1976). Survey of argentine medicinal plants-Folklore and phytochemical-Screening. II. *Economic Botany*, 30(2), 161-185. https://doi.org/10.1007/BF02862962.

Bandoni, A. L. (2005). Capítulo I: Especies aromaticas argentinas como fuente de terpenoides de interés. En Barrero, A. F. (Ed.) (pp. 7-34). Plantas iberoamericanas como fuente

de terpenoides útiles en química fina. Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/275240473.

Baños, S. B., López, M. H., Lauzardo, A. N. H., Espino, J. L. T., Cerón, M. K. B., & Giorgana, G. E. M. (2005). Effect of Chitosan on in vitro development and morphology of two isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. and Sacc. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 23(1), 62-67. Recuperado en: https://www.redalyc.org/pdf/612/61223109.pdf.

Baptistella, C., Coelho, P. J., Fagundes, P. R. S., & Ramos, R. C. (2018). Peach culture and its importance in the state of São Paulo, 2013-2017. *Informações Econômicas-Instituto de Economia Agrícola*, 48(1), 33-49. Disponible en: http://www.iea.sp.gov.br/ftpiea/ie/2017/tec3-1.pdf.

Baratta, M. T., Dorman, H. D., Deans, S. G., Biondi, D. M., & Ruberto, G. (1998). Chemical composition, antimicrobial and antioxidative activity of laurel, sage, rosemary, oregano and coriander essential oils. *Journal of Essential Oil Research*, 10(6), 618-627. https://doi.org/10.1080/10412905.1998.9700989.

Barcia, A., López de Ruiz, C., Ardanaz, R., & Ruiz, S. (1999). Estudio fitoquímico de Acacia caven (Mol.) Mol. 3º Congreso Internacional de Plantas Medicinales. El Canelo de Nos, Chile, p 59.

Barkai-Golan R. (2001). Postharvest diseases of fruits and vegetables: development and control. Amsterdam: Elsevier Academic Press.

Barrientos, E. A., Feijóo, M. S., Peneff, R. B., Laztra, E., & Gratti, A. C. (2014). Anatomical study and preliminary phytochemical analysis of aquatic monocots in" meadows" of the Patagonian Steppe. *Dominguezia*, 30(2), 27-33. Disponible en: http://www.dominguezia.org/volumen/articulos/3023.pdf.

Barros, A. F., Campos, V. P., de Paula, L. L., Oliveira, D. F., de Silva, F. J., Terra, W. C., & Salimena, J. P. (2019). Nematicidal screening of essential oils and potent toxicity of *Dysphania ambrosioides* essential oil against *Meloidogyne incognita in vitro* and *in vivo. Journal of Phytopathology*, 167(7-8), 380-389. https://doi.org/10.1111/jph.12803.

Barros, G., Zanon, M. A., Palazzini, J. M., Haidukowski, M., Pascale, M., & Chulze, S. (2012). Trichothecenes and zearalenone production by *Fusarium equiseti* and *Fusarium semitectum* species isolated from Argentinean soybean. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 29(9), 1436-1442. https://doi.org/10.1080/19440049.2012.698397.

Barth, E., Resende, J. T. V. D., Moreira, A. F. P., Mariguele, K. H., Zeist, A. R., Silva, M. B., & Youssef, K. (2020). Selection of experimental hybrids of strawberry using multivariate analysis. *Agronomy*, 10(4), 598. https://doi.org/10.3390/agronomy10040598.

Bashir, S., Jabeen, K., Iqbal, S., Javed, S., & Naeem, A. (2019). *Lantana camara*: Phytochemical analysis and antifungal prospective. *Planta Daninha*, 37. https://doi.org/10.1590/S0100-83582019370100137.

Baudino, A. (2013). Competitividad internacional de las empresas del sector productor y procesador de frutillas de la región de Coronda, durante 2010-2012. Posicionamiento a través de la conformación de un cluster. [Tesina de grado]. Universidad Abierta Interamericana. Disponible en: http://imgbiblio.vaneduc.edu.ar/fulltext/files/TC112572.pdf.

Bautista-Baños, S., Bosquez-Molina, E., & Barrera-Necha, L. L. (2014). *Rhizopus stolonifer* (soft rot). En: Bautista-Baños S. (ed.), *Postharvest decay* (Pp. 1-44). Academic Press. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-411552-1.00001-6.

Bedetta, B., Sordo, M. del H., Pernuzzi, C., Travadelo, M., & Gariglio, N. (2011). Fortalecimiento de pequeños productores frutihortícolas como aporte al Desarrollo local de la zona de Coronda. Resumen poster extensión. IX Congreso Iberoamericano de Extensión. Disponible

en:

https://www.unl.edu.ar/iberoextension/dvd/archivos/posters/mesa1/resumen/fortalecimiento-depequenos-.pdf.

Begum, S., Wahab, A., & Siddiqui, B. S. (2008). Antimycobacterial activity of flavonoids from *Lantana camara* Linn. *Natural Product Research*, 22(6), 467-470. https://doi.org/10.1080/14786410600898714.

Begum, S., Zehra, S. Q., Ayub, A., & Siddiqui, B. S. (2010). A new 28-noroleanane triterpenoid from the aerial parts of *Lantana camara* Linn. *Natural Product research*, 24(13), 1227-1234. https://doi.org/10.1080/14786410903034082.

Belay, Z. A., Caleb, O. J., & Opara, U. L. (2019). Influence of initial gas modification on physicochemical quality attributes and molecular changes in fresh and fresh-cut fruit during modified atmosphere packaging. *Food Packaging and Shelf Life*, 21, 100359. https://https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2019.100359.

Bento, C., Gonçalves, A. C., Silva, B., & Silva, L. R. (2020). Peach (*Prunus persica*): Phytochemicals and health benefits. *Food Reviews International*, 1-32. https://doi.org/10.1080/87559129.2020.1837861.

Bera, B., Mukherjee, K. K., & Ganguly, S. N. (1991). Chemical investigation of the seeds of diploid cytotypes of *Chenopodium album*. *Fitoterapia*, 62(2), 178.

Bhutia, D. D., Zhimo, Y., Kole, R., & Saha, J. (2016). Antifungal activity of plant extracts against *Colletotrichum musae*, the post harvest anthracnose pathogen of banana cv. Martaman. *Nutrition & Food Science*, 46(1), 2-15. https://doi.org/10.1108/NFS-06-2015-0068

Blackwell, M. (2011). The Fungi: 1, 2, 3... 5.1 million species? *American journal of botany*, 98(3), 426-438. https://doi.org/10.3732/ajb.1000298.

Blanco, M. A., Colareda, G. A., van Baren, C., Bandoni, A. L., Ringuelet, J., & Consolini, A. E. (2013). Antispasmodic effects and composition of the essential oils from two South American chemotypes of *Lippia alba. Journal of ethnopharmacology*, 149(3), 803-809. https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.08.007.

Bloem, E., Haneklaus, S., & Schnug, E. (2007). Comparative effects of sulfur and nitrogen fertilization and post-harvest processing parameters on the glucotropaeolin content of *Tropaeolum majus* L. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(8), 1576-1585. https://doi.org/10.1002/jsfa.2895.

Bohlmann, F., & Wegner, P. (1982). Three diterpenes from *Conyza podocephala*. *Phytochemistry*, 21(7), 1693-1695. https://doi.org/10.1016/S0031-9422(82)85041-3.

Bolsa de Comercio de Santa Fe (BCSF). (2005). *La Cadena de Valor de la frutilla en la región Coronda*. Centro de Estudios y Servicios. Disponible en: https://www.bcsf.com.ar/ces/downloads.php?file=SUVfMjAwNV9GLnBkZg%3D%3D.

Bonacci, M., Formento, Á. N., Morales, M. C., Orlando, J., Ibáñez, F., Sartori, M., & Barros, G. (2021). *Conyza bonariensis* as an alternative host for *Colletotrichum* species in Argentina. *Journal of Applied Microbiology*, 130(5), 1656-1670. https://doi.org/10.1111/jam.14879.

Boncan, D. A. T., Tsang, S. S., Li, C., Lee, I. H., Lam, H. M., Chan, T. F., & Hui, J. H. (2020). Terpenes and terpenoids in plants: Interactions with environment and insects. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(19), 7382. https://doi.org/10.3390/ijms21197382.

Borchardt, J. R., Wyse, D. L., Sheaffer, C. C., Kauppi, K. L., Ehlke, R. G. F. N. J., Biesboer, D. D., & Bey, R. F. (2008). Antimicrobial activity of native and naturalized plants of Minnesota and Wisconsin. *Journal of medicinal plants research*, 2(5), 098-110. Disponible en: https://academicjournals.org/journal/JMPR/article-full-text-pdf/F3DA2A715147.

Borges, D. F., Lopes, E. A., Moraes, A. R. F., Soares, M. S., Visôtto, L. E., Oliveira, C. R., & Valente, V. M. M. (2018). Formulation of botanicals for the control of plant-pathogens: A review. *Crop Protection*, 110, 135-140. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2018.04.003.

Borges, G. A., Ferreira, J. F., Elias, S. T., Guerra, E. N. S., Silveira, D., & Simeoni, L. A. (2016). Cytotoxic effect of *Plectranthus neochilus* extracts in head and neck carcinoma cell lines. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 10(10), 157-163. https://doi.org/10.5897/AJPP2015.4355.

Boriss, H., Brunke, H., & Kreith, M. (2006). Commodity profile: strawberries. Agricultural Issues Center, University of California, Davis, California, USA. Disponible en: https://aic.ucdavis.edu/profiles/Strawberries-2006.pdf.

Boukhatem, M. N., Boumaiza, A., Nada, H. G., Rajabi, M., & Mousa, S. A. (2020). *Eucalyptus globulus* essential oil as a natural food preservative: Antioxidant, antibacterial and antifungal properties *in vitro* and in a real food matrix (orangina fruit juice). *Applied Sciences*, 10(16), 5581. https://doi.org/10.3390/app10165581.

Bourgeois, P., Joseph, H., & Savary, H. (1989). *Détermination d''huiles essentielles et dosage de l''ascaridol dans Chenopodium ambrosioides*. Rapport TRAMIL. Pharmacopée végétale caribéenne. Disponible en: https://issuu.com/scduag/docs/pharmacope/120.

Bourne M. 1977. Postharvest food losses: the neglected dimension in increasing the world food supply. Cornell University, Ithaca. Disponible en: https://hdl.handle.net/1813/28900.

Bouzenna, H., & Krichen, L. (2013). *Pelargonium graveolens* L'Her. and *Artemisia arborescens* L. essential oils: chemical composition, antifungal activity against *Rhizoctonia solani* and insecticidal activity against *Rhysopertha dominica*. *Natural Product Research*, 27(9), 841-846. https://doi.org/10.1080/14786419.2012.711325.

Bouzo, C. A., Favaro, J. C., Pilatti, R. A., & Scaglia, E. M. (2005). Cinturón hortícola de Santa Fe: Descripción de la zona y situación actual. *Fave: Sección Ciencias Agrarias*, 4(1/2): 63-69. https://doi.org/10.14409/fa.v4i1/2.1315.

Brauer, V. S., Rezende, C. P., Pessoni, A. M., De Paula, R. G., Rangappa, K. S., Nayaka, S. C., Gupta, V. K., & Almeida, F. (2019). Antifungal agents in agriculture: Friends and foes of public health. *Biomolecules*, 9(10), 521. https://doi.org/10.3390/biom9100521.

Brent, K. J., & Hollomon, D. W. (2007). Fungicide resistance in crop pathogens: How can it be managed? 2nd Rev. Edn. Online. Fungicide Resistance Action Committee (FRAC), CropLife Int, 1., Brussels, Belgium. Disponible en: https://www.frac.info/docs/default-source/publications/monographs/monograph-1.pdf.

Bribi, N. (2018). Pharmacological activity of alkaloids: a review. *Asian Journal of Botany*, 1(1), 1-6. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/324476579.

Brophy, J. J., Goldsack, R. J., Forster, P. I., Craven, L. A., & Lepschi, B. J. (1998). The leaf essential oils of the Australian members of the genus *Callistemon* (Myrtaceae). *Journal of Essential Oil Research*, 10(6), 595-606. https://doi.org/10.1080/10412905.1998.9700986.

Brown, J., & Morra, M. J. (2005). Glucosinolate-Containing Seed Meal as a Soil Amendment to Control Plant Pests: 2000-2002 (No. NREL/SR-510-35254). National Renewable Energy Lab., Golden, CO (US). https://doi.org/10.2172/15016728.

Brunetti, C., Fini, A., Sebastiani, F., Gori, A., & Tattini, M. (2018). Modulation of phytohormone signaling: A primary function of flavonoids in plant—environment interactions. *Frontiers in Plant science*, 9, 1042. https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01042.

Brusotti, G., Cesari, I., Dentamaro, A., Caccialanza, G., & Massolini, G. (2014). Isolation and characterization of bioactive compounds from plant resources: the role of analysis in the

ethnopharmacological approach. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 87, 218-228. https://doi.org/10.1016/j.jpba.2013.03.007.

Bua, A., Usai, D., Donadu, M. G., Delgado Ospina, J., Paparella, A., Chaves-Lopez, C., & Molicotti, P. (2018). Antimicrobial activity of *Austroeupatorium inulaefolium* (HBK) against intracellular and extracellular organisms. *Natural Product Research*, 32(23), 2869-2871. https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1385014.

Burkart, A., & Bacigalupo, N. M. (2005). Flora Ilustrada de Entre Rios (Argentina) Parte IV: Dicotiledóneas Arquiclamídeas, B: Geraniales a Umbelliflorales. Buenos Aires, Colección Cientifica del INTA. Pp. 590-592.

Bussmann, R. W., & Glenn, A. (2010). Plantas medicinales utilizadas en Perú para el tratamiento de enfermedades respiratorias. *Revista peruana de biología*, 17(3), 331-346. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/pdf/rpb/v17n3/a08v17n3.pdf.

Byrde, R. J. W., & Willetts, H. J. (1977). The brown rot fungi of fruit: their biology and control. Pergamon Press, New York.

Byrne, D. H., Raseira, M. B., Bassi, D., Piagnani, M. C., Gasic, K., Reighard, G. L., & Pérez, S. (2012). Peach. En: Badenes, M., Byrne, D. (eds) *Fruit Breeding. Handbook of Plant Breeding*, vol 8, (Pp. 505-569). Springer, Boston, MA. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-0763-9\_14.

Cabrera, Á. L., Crisci, J. V., Delucchi, G., Freire, S. E., Giuliano, D. A., Iharlegui, L., & Zavaro Pérez, C. A. (2000). Catálogo ilustrado de las Compuestas (= Asteraceae) de la provincia de Buenos Aires, Argentina: sistemática, ecología y usos. ProBiota; Cobiobo. Disponible en: http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/15831.

Cabrera, M., Andrada, A., & Gallez, L. (2013). Floración de especies con potencial Apícola en el Bosque nativo formoseño, Distrito Chaqueño Oriental (Argentina). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 48. https://doi.org/10.31055/1851.2372.v48.n3-4.7554.

Caccioni, D. R., Guizzardi, M., Biondi, D. M., Renda, A., & Ruberto, G. (1998). Relationship between volatile components of citrus fruit essential oils and antimicrobial action on *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum*. *International journal of food microbiology*, 43(1-2), 73-79. https://doi.org/10.1016/S0168-1605(98)00099-3.

Cai, Z. M., Peng, J. Q., Chen, Y., Tao, L., Zhang, Y. Y., Fu, L. Y., & Shen, X. C. (2021). 1, 8-Cineole: a review of source, biological activities, and application. *Journal of Asian natural products research*, 23(10), 938-954. https://doi.org/10.1080/10286020.2020.1839432.

Cai, J., Yan, R., Shi, J., Chen, J., Long, M., Wu, W., & Kuca, K. (2022). Antifungal and mycotoxin detoxification ability of essential oils: A review. *Phytotherapy Research*, 36(1), 62-72. https://doi.org/10.1002/ptr.7281.

Caminiti, C. A. (2015). *Cultivo de frutillas en la provincia de Neuquén*. Estación Experimental Agropecuaria Bariloche. Centro Regional Patagonia Norte. Ediciones INTA. Disponible en: http://hdl.handle.net/20.500.12123/2815.

Campana B. (2007). Índices de Madurez, Cosecha y Empaque de frutas. En: Campana, B. M. R., Ochoa, M. J., & Sozzi, G. O. (eds.). *Árboles frutales. Ecofisiología, cultivo y aprovechamiento*, (pp. 705-768). Editorial Facultad de Agronomía. Argentina.

Campos-Navarro, R., & Scarpa, G. F. (2013). The cultural-bound disease "empacho" in Argentina. A comprehensive botanico-historical and ethnopharmacological review. *Journal of ethnopharmacology*, 148(2), 349-360. https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.05.002.

Carrizo Flores, R., Ponzi, M., Ardanaz, C., Tonn, C. E., & Donadel, O. J. (2009). Chemical composition of essential oil of *Baccharis salicifolia* (Ruiz & Pavon) Pers. and antibacterial activity. *Journal of the Chilean Chemical Society*, 54(4), 475-476. http://dx.doi.org/10.4067/S0717-97072009000400034.

Carrizo, E. D. V., Palacio, M. O., & Roic, L. D. (2002). Plantas de uso medicinal en la flora de los alrededores de la ciudad de Santiago del Estero (Argentina). *Dominguezia*, 18(1), 26-25. http://www.dominguezia.org/volumen/articulos/1813.pdf.

CASAFE. (2017). Guía de productos fitosanitarios. para la República Argentina. Buenos Aires, Argentina.

Casals, C., Elmer, P. A. G., Viñas, I., Teixidó, N., Sisquella, M., & Usall, J. (2012). The combination of curing with either chitosan or *Bacillus subtilis* CPA-8 to control brown rot infections caused by *Monilinia fructicola. Postharvest Biology and Technology*, 64(1), 126-132. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2011.06.004.

Castellani, D., Casali, V., Barbosa, L., & Cecon, P. (1996). Produção de ácido erúcico em função do sombreamento e da época de coleta de sementes de *Tropaeolum majus* L. XIV Simposio de Plantas Medicinais do Brasil. Florianópolis, Santa Catarina, Brasil.

Castro, G., Pérez-Mayán, L., Carpinteiro, I., Ramil, M., Cela, R., & Rodríguez, I. (2020). Residues of anilinopyrimidine fungicides and suspected metabolites in wine samples. *Journal of Chromatography A*, 1622, 461104. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2020.461104.

Chanaj-Kaczmarek, J., & Wysocki, M. (2018). Skład chemiczny, właściwości biologiczne i lecznicze ziela dymnicy lekarskiej (*Fumaria officinalis* L.). *Postępy Fitoterapii*, 2, 121-127 https://doi.org/10.25121/PF.2018.19.2.121.

Chau, K. F., & Alvarez, A. M. (1983). Effects of low-pressure storage on *Colletotrichum gloeosporioides* and postharvest infection of papaya. *HortScience*, 18(6), 953-955.

Chikowe, G., Mpala, L., & Cock, I. E. (2019). *Callistemon linearis* Schrad. and JC Wendl. Extracts Inhibit the Growth of Gram-Positive Bacteria but have no Effect on Gram

39-46. Bacteria. *Pharmacognosy* https://doi.org/10.5530/pc.2019.2.10.

Christianson, D. W. (2017). Structural and chemical biology of terpenoid cyclases. Chemical reviews, 117(17), 11570-11648. https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.7b00287.

Chu, S. S., Feng Hu, J., & Liu, Z. L. (2011). Composition of essential oil of Chinese Chenopodium ambrosioides and insecticidal activity against maize weevil, Sitophilus zeamais. Pest Management Science, 67(6), 714-718. https://doi.org/10.1002/ps.2112.

Churata-Oroya, D. E., Ramos-Perfecto, D., Moromi-Nakata, H., Martínez-Cadillo, E., Castro-Luna, A., & Garcia-de-la-Guarda, R. (2016). Efecto antifúngico de Citrus paradisi "toronja" sobre cepas de Candida albicans aisladas de pacientes con estomatitis subprotésica. Revista Estomatológica Herediana, 26(2), 78-84. https://dx.doi.org/10.20453/reh.v26i2.2869.

Cirilli, M., Bassi, D., & Ciacciulli, A. (2016). Sugars in peach fruit: a breeding perspective. Horticulture Research, 3. https://https://doi.org/10.1038/hortres.2015.67.

CLSI, Clinical and Laboratory Standards Institute. (2008). 2° ed. Reference Method for Broth Dilution Fungicidal Susceptibility Testing for Filamentous Fungi. M38 A2. Wayne, USA.

Cocco, C., Magnani, S., Maltoni, M. L., Quacquarelli, I., Cacchi, M., Antunes, L. E. C., & Baruzzi, G. (2015). Effects of site and genotype on strawberry fruits quality traits and bioactive compounds. *Journal of Berry Research*, 5(3), 145-155. doi.org/10.3233/JBR-150098.

Cock, I. E. (2008). Antibacterial activity of selected Australian native plant extracts. Internet Journal Microbiology, 4(2), 1-8. Disponible en: http://hdl.handle.net/10072/21382.

Colegate, S. M., Edgar, J. A., Knill, A. M., & Lee, S. T. (2005). Solid-phase extraction and HPLC-MS profiling of pyrrolizidine alkaloids and their N-oxides: a case study of Echium plantagineum. Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques, 16(2), 108-119. https://doi.org/10.1002/pca.828.

Comtet, T., Sandionigi, A., Viard, F., & Casiraghi, M. (2015). DNA (meta) barcoding of biological invasions: a powerful tool to elucidate invasion processes and help managing aliens. Biological Invasions, 17(3), 905-922. https://doi.org/10.1007/s10530-015-0854-y.

Contarino, R., Brighina, S., Fallico, B., Cirvilleri, G., Parafati, L., & Restuccia, C. (2019). Volatile organic compounds (VOCs) produced by biocontrol yeasts. Food microbiology, 82, 70-74. https://doi.org/10.1016/j.fm.2019.01.008.

Correa, M. P. (1984). Dicionário de plantas uteis do Brasil e das exóticas cultivadas no Brasil. Imprensa Nacional Brasília, Rio de Janeiro/Brasília.

Costantini, R., Ventura-Aguilar, R. I., Hernández-López, M., Bautista-Baños, S., & Barrera-Necha, L. L. (2018). Potencial antifúngico de nanopartículas de quitosano y extracto de Arándano sobre Colletotrichum fragariae en fresa. Revista Iberoamericana de Tecnología

19(1). Postcosecha, Recuperado en:

https://www.redalyc.org/journal/813/81355612004/81355612004.pdf.

Da Silva, L. L., Moreno, H. L. A., Correia, H. L. N., Santana, M. F., & de Queiroz, M. V. (2020). Colletotrichum: Species complexes, lifestyle, and peculiarities of some sources of variability. *Applied* microbiology and biotechnology, 104(5), 1891-1904. https://doi.org/10.1007/s00253-020-10363-y.

Dadalioğlu, I., & Evrendilek, G. A. (2004). Chemical compositions and antibacterial effects of essential oils of Turkish oregano (Origanum minutiflorum), bay laurel (Laurus nobilis), Spanish lavender (Lavandula stoechas L.), and fennel (Foeniculum vulgare) on common foodborne pathogens. Journal of agricultural and food chemistry, 52(26), 8255-8260. https://doi.org/10.1021/jf049033e.

Daferera, D. J., Ziogas, B. N., & Polissiou, M. G. (2003). The effectiveness of plant essential oils on the growth of Botrytis cinerea, Fusarium sp. and Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis. Crop protection, 22(1), 39-44. https://doi.org/10.1016/S0261-2194(02)00095-9.

D'Amelia, V., Aversano, R., Chiaiese, P., & Carputo, D. (2018). The antioxidant properties of plant flavonoids: their exploitation by molecular plant breeding. Phytochemistry Reviews, 17(3), 611-625. https://doi.org/10.1007/s11101-018-9568-y.

Damm, U., Cannon, P. F., Woudenberg, J. H. C., & Crous, P. W. (2012). The Colletotrichum acutatum species complex. Studies inmycology, 73, 37-113. https://doi.org/10.3114/sim0010.

Das, A., Zaman, K., & Singh, A. V. (2009). Phytochemical and chemical composition evaluation of Volatile Oil of Callistemon linearis DC Leaf. Advances in Natural and Applied 56-60. Disponible Sciences, 3(1),en: https://link.gale.com/apps/doc/A235407190/AONE?u=anon~504de016&sid=googleScholar&xi d=d1d0c3a6.

De Oliveira Arruda, R. D. C., Victório, C. P., Boaretto, A. G., Carollo, C. A., da Silva Farias, C., Marchetti, C. R., & Silva, D. B. (2019). Essential oil composition, antifungal activity and leaf anatomy of Lippia alba (Verbenaceae) from Brazilian Chaco. Journal of Medicinal Plants Research, 13(4), 79-88. https://doi.org/10.5897/JMPR2018.6700.

Dean, R., Van Kan, J. A., Pretorius, Z. A., Hammond-Kosack, K. E., Di Pietro, A., Spanu, P. D., Rudd, J. J, Dickman, M., Kahmann, R., Ellis, J., & Foster, G. D. (2012). The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. Molecular plant pathology, 13(4), 414-430. https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2011.00783.x.

Deena, M. J., & Thoppil, J. E. (2000). Antimicrobial activity of the essential oil of Lantana camara. Fitoterapia, 71(4), 453-455. https://doi.org/10.1016/S0367-326X(00)00140-4.

De Hoyos-Martinez, P. L., Merle, J., Labidi, J., & Charrier–El Bouhtoury, F. (2019). Tannins extraction: A key point for their valorization and cleaner production. *Journal of Cleaner Production*, 206, 1138-1155. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.09.243.

Dekebo, A. (2019). Introductory Chapter: Plant Extracts. En: Dekebo, A.(ed.) *Plant Extracts*. IntechOpen. https://doi.org/10.5772/intechopen.85493.

Del Vitto, L. A., Petenatti, E. M., & Petenatti, M. E. (1998). Recursos herbolarios de San Luis (Argentina). Segunda parte: plantas exóticas cultivadas, adventicias y/o naturalizadas. *Multequina*, 7, 29-48. Disponible en: https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=42800704.

Delucchi, G., Farina, E., & Torres Robles, S. (2007). *Laurus nobilis* (Lauraceae) especie naturalizada en la República Argentina. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 42(3-4), 309-312. Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\_arttext&pid=S1851-23722007000200016&lng=es&tlng=en.

Demarchi, M. G. (2010). El circuito de producción hortícola: Una aproximación al estudio del cinturón verde en los distritos de Monte Vera y Recreo, departamento La Capital, provincia de Santa Fe. *Pampa* (*Santa Fe*), 6, 139-168. Disponible en: https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/3670753.pdf.

De Oliveira Arruda, R. D. C., Victório, C. P., Boaretto, A. G., Carollo, C. A., da Silva Farias, C., Marchetti, C. R., & Silva, D. B. (2019). Essential oil composition, antifungal activity and leaf anatomy of *Lippia alba* (Verbenaceae) from Brazilian Chaco. *Journal of Medicinal Plants Research*, 13(4), 79-88. https://doi.org/10.5897/JMPR2018.6700.

Derita, M. G., Leiva, M. L., & Zacchino, S. A. (2009). Influence of plant part, season of collection and content of the main active constituent, on the antifungal properties of *Polygonum acuminatum* Kunth. *Journal of ethnopharmacology*, 124(3), 377-383. https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.05.029.

Derita, M., & Zacchino, S. (2011a). Validation of the Ethnopharmacological Use of *Polygonum Persicaria* for its Antifungal Properties. *Natural Product Communications*, 6(7). https://doi.org/10.1177/1934578X11006007.

Derita, M., & Zacchino, S. (2011b). Chemotaxonomic importance of sesquiterpenes and flavonoids in five argentinian species of *Polygonum* genus. *Journal of Essential Oil Research*, 23(5), 11-14. https://doi.org/10.1080/10412905.2011.9700474.

Derwich, E., Benziane, Z., & Chabir, R. (2011). Aromatic and medicinal plants of morocco: chemical composition of essential oils of *Rosmarinus officinalis* and *Juniperus Phoenicea*. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*, 2, 145-153. Disponible en: https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/sea-161343.

Di Liberto, M. G. (2021). Búsqueda de biofungicidas pos-cosecha a partir de fuentes vegetales autóctonas, aplicables a naranjas, frutillas y duraznos [Tesis de Doctorado]. Universidad Nacional de Rosario. Disponible en: http://hdl.handle.net/2133/22185.

Di Liberto, M. G., Seimandi, G. M., Fernández, L. N., Ruiz, V. E., Svetaz, L. A., & Derita, M. G. (2021). Botanical control of citrus green mold and peach brown rot on fruits assays using a *Persicaria acuminata* phytochemically characterized extract. *Plants*, 10(3), 425. https://doi.org/10.3390/plants10030425.

Di Stasi, L. C., Hiruma, C. A., Guimarães, E. M., & Santos, C. D. (1994). Medicinal plants popularly used in Brazilian Amazon. *Fitoterapia* (*Milano*), 65(6), 529-540. Disponible en: http://pascal-francis.inist.fr/vibad/index.php?action=getRecordDetail&idt=3379615.

Di Toro, D. (2019). Una mirada a las finanzas post-crisis de las economías regionales. Análisis de un sector particular: Productores de frutilla de la región Coronda en el período 2003-2007. [Tesis de maestría]. Universidad Nacional de Rosario. Disponible en: oai:rephip.unr.edu.ar:2133/16279.

Dimitri, M. J., & Parodi, L. R. (1977). *Enciclopedia Argentina de agricultura y jardinería* (No. 630). Buenos Aires, Acme.

Dini, M., Raseira, M. C. B., Valentini, G. H., & Zoppolo, R. (2021). Duraznero: situación actual en Uruguay, Brasil y Argentina. *Agrociencia Uruguay*, 25(nspe1), e394. Disponible en: https://doi.org/10.31285/agro.25.394.

Dominguez, X. A., Sanchez, H., Merijanian, B. A., Rojas, M. P. 1972. Stigmasterol, Friedooleanan-3β-ol and baccharis oxide from *Baccharis salicifolia*. *Phytochemistry*,77, 2628. https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)88562-3.

Dong, L. M., Quyen, N. T. T., & Thuy, D. T. K. (2020). Effect of edible coating and antifungal emulsion system on *Colletotrichum acutatum* and shelf life of strawberries. *Vietnam Journal of Chemistry*, 58(2), 237-244. https://doi.org/10.1002/vjch.201900169.

Dosoky, N. S., & Setzer, W. N. (2018). Biological activities and safety of *Citrus* spp. essential oils. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(7), 1966. https://doi.org/10.3390/ijms19071966.

Dowling, M., Peres, N., Villani, S., & Schnabel, G. (2020). Managing *Colletotrichum* on fruit crops: A "complex" challenge. *Plant Disease*, 104(9), 2301-2316. https://doi.org/10.1094/PDIS-11-19-2378-FE.

Droby, S., & Lichter, A. (2007). Post-Harvest Botrytis Infection: Etiology, Development and Management. En: Elad Y., Williamson B., Tudzynski P., Delen N. (eds) *Botrytis: Biology, Pathology and Control* (Pp. 349-367). Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-2626-3\_19.

Duarte, M. D. R., & Lopes, J. F. (2007). Stem and leaf anatomy of *Plectranthus neochilus* Schltr., Lamiaceae. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 17(4), 549-556. https://doi.org/10.1055/s-0034-1394759.

Dubey, N. K., Dixit, S. N., & Bhargava, K. S. (1982). Evaluation of leaf extracts of higher plants against some storage fungi. *Indian Journal of Botany*, 5(1): 20-22.

Dubuis, P. H., Marazzi, C., Städler, E., & Mauch, F. (2005). Sulphur deficiency causes a reduction in antimicrobial potential and leads to increased disease susceptibility of oilseed rape. *Journal of Phytopathology*, 153(1), 27-36. https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2004.00923.x.

Dutra, P. S. S., Pereira, W. V., & May De Mio, L. L. (2019). Brazilian isolates of *Monilinia fructicola* from peach do not present reduced sensitivity to iprodione. *European Journal of Plant Pathology*, 153(4), 1341-1346. https://doi.org/10.1007/s10658-018-01637-3.

Džamić, A. M., Soković, M. D., Ristić, M. S., Grujić, S. M., Mileski, K. S., & Marin, P. D. (2014). Chemical composition, antifungal and antioxidant activity of *Pelargonium graveolens* essential oil. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 4(3), 001-005. https://doi.org/10.7324/JAPS.2014.40301.

Eckert, J.W. & Ogawa, J.M. (1985). The chemical control of postharvest diseases: subtropical and tropical fruits. *Annual Reviews Phytopathology*, 23(1): 421-454. https://doi.org/10.1146/annurev.py.23.090185.002225.

El Khetabi, A., Lahlali, R., Ezrari, S., Radouane, N., Nadia, L., Banani, H., Askarne, L., Tahiri, A., El Ghadraoui, L., Belmalha, S., & Barka, E. A. (2022). Role of plant extracts and essential oils in fighting against postharvest fruit pathogens and extending fruit shelf life: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 120, 402-417. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.01.009.

El-fawy, M. M., El-Sharkawy, R. M. I., & Ahmed, M. M. (2020). Impact of pre- and post-harvest treatment with chemicals preservatives on *Botrytis* gray rot disease and fruit quality of strawberry. *Archives of Agriculture Sciences Journal*, 3(2), 178-194. https://doi.org/10.21608/aasj.2020.49300.1046.

El gamal, M. H. A., Shalaby, N. M., Duddeck, H., & Hiegemann, M. (1993). Coumarins and coumarin glucosides from the fruits of *Ammi majus*. Phytochemistry, 34(3), 819-823. https://doi.org/10.1016/0031-9422(93)85365-X.

Erel, Ş. B., Reznicek, G., Şenol, S. G., Yavaşoğlu, N. Ü. K., Konyalioğlu, S., & Zeybek, A. U. (2012). Antimicrobial and antioxidant properties of *Artemisia* L. species from western Anatolia. *Turkish Journal of Biology*, 36(1), 75-84. https://doi.org/10.3906/biy-0912-27.

Ertürk, Ö. (2006). Antibacterial and antifungal activity of ethanolic extracts from eleven spice plants. *Biologia*, 61(3), 275-278. https://doi.org/10.2478/s11756-006-0050-8.

Eruygur, N., Yılmaz, G., Kutsal, O., Yücel, G., & Üstün, O. (2016). Bioassay-guided isolation of wound healing active compounds from *Echium* species growing in Turkey. *Journal of Ethnopharmacology*, 185, 370-376. https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.02.045.

European Food Safety Authority (EFSA), Bellisai, G., Bernasconi, G., Brancato, A., Carrasco Cabrera, L., Ferreira, L., & Verani, A. (2021). Reasoned opinion on the toxicological properties and maximum residue levels (MRLs) for the benzimidazole substances carbendazim and thiophanate-methyl. *EFSA Journal*, 19(8), e06773. https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6773.

EWG Dirty DozenTM EWG's. (2021). Shopper's Guide to Pesticides in ProduceTM. Disponible en: https://www.ewg.org/foodnews/dirty-dozen.php.

Excel PLKM. 2003. Microsoft Excel. Denver Co., USA.

Eyssartier, C., Ladio, A. H., & Lozada, M. (2009). Uso de plantas medicinales cultivadas en una comunidad semi-rural de la estepa patagónica. *Boletín latinoamericano y del Caribe de plantas medicinales y aromáticas*, 8(2): 77-85. https://www.redalyc.org/pdf/856/85611769004.pdf.

Fadón, E., Rodrigo, J., & Herrero, M. (2018). Is there a specific stage to rest? Morphological changes in flower primordia in relation to endodormancy in sweet cherry (*Prunus avium L.*). *Trees*, 32(6), 1583-1594. https://doi.org/10.1007/s00468-018-1735-7.

Faggiani, E. P., & Guimaraens, A. (2016). *Control de la esporulación de Phyllosticta citricarpa en fruta cítrica mediante el uso de aceites esenciales*. En: INIA Salto Grande; Programa Nacional Producción Citrícola. Poscosecha de Frutos Cítricos. Estudio del daño por frío y control de patógenos. Salto (UY): INIA. Poscosecha de, 23. Disponible en: http://www.ainfo.inia.uy/digital/bitstream/item/10531/1/SAD-770-p.23-26.pdf.

Faik, A., Desveaux, D., & MacLachlan, G. (2000). Sugar-nucleotide-binding and autoglycosylating polypeptide (s) from nasturtium fruit: biochemical capacities and potential functions. *Biochemical Journal*, 347(3), 857-864. https://doi.org/10.1042/bj3470857.

Falé, P. L., Madeira, P. J. A., Florêncio, M. H., Ascensão, L., & Serralheiro, M. L. M. (2011). Function of *Plectranthus barbatus* herbal tea as neuronal acetylcholinesterase inhibitor. *Food & Function*, 2(2), 130-136. https://doi.org/10.1039/C0FO00070A.

Fallahi, M., Saremi, H., Javan-Nikkhah, M., Somma, S., Haidukowski, M., Logrieco, A. F., & Moretti, A. (2019). Isolation, molecular identification and mycotoxin profile of *Fusarium* species isolated from maize kernels in Iran. *Toxins*, 11(5), 297. https://doi.org/10.3390/toxins11050297.

FAO. 2018. Estadísticas de la FAO Cultivos. Disponible en: http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC Fecha de consulta: 01/04/2019.

Farag, R. S., Shalaby, A. S., El-Baroty, G. A., Ibrahim, N. A., Ali, M. A., & Hassan, E. M. (2004). Chemical and biological evaluation of the essential oils of different *Melaleuca* 

species. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 18(1), 30-35. https://doi.org/10.1002/ptr.1348.

Feliziani, E., & Romanazzi, G. (2016). Postharvest decay of strawberry fruit: Etiology, epidemiology, and disease management. *Journal of Berry Research*, 6(1), 47-63. https://doi.org/10.3233/JBR-150113.

Feliziani, E., & Romanazzi, G. (2013). Preharvest application of synthetic fungicides and alternative treatments to control postharvest decay of fruit. *Stewart Postharvest Review*, 9(3), 1-6. https://doi.org/10.2212/spr.2013.3.3.

Feresin, G. E., Tapia, A., López, S. N., & Zacchino, S. A. (2001). Antimicrobial activity of plants used in traditional medicine of San Juan province, Argentine. *Journal of Ethnopharmacology*, 78(1), 103-107. https://doi.org/10.1016/S0378-8741(01)00322-1.

Fernandes, G. W., Oki, Y., & Barbosa, M. (2021). The Ecological and Applied Potential of *Baccharis*. In: Fernandes, G.W., Oki, Y., Barbosa, M. (eds) *Baccharis*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-83511-8\_1.

Fernández, J., Olano, I., Vásquez, A., Ferreira, F., Bassagoda, M., Vero, S., & Cerdeiras, M. (1996). Actividad antimicrobiana de plantas medicinales uruguayas III. In VIIIº Simposio Latinoamericano de Farmacobotánica. Montevideo.

Ferraro, G. E., Broussalis, A. M., Van Baren, C. M., Muschietti, L. V., & Coussio, J. D. (1988). Polyphenolic compounds isolated from *Conyza bonariensis* (Compositae). *Revista Latinoamericana de Química*, 19, 141-143.

Ferreira, R. B. G., Vieira, M. C., & Zárete, N. A. H. (2004). Análise de crescimento de *Tropaeolum majus* 'jewel' em função de espaçamentos entre plantas. *Revista Brasileira de plantas medicinais*, 7(1), 57-66. Disponible en: https://www1.ibb.unesp.br/Home/Departamentos/Botanica/RBPMRevistaBrasileiradePlantasMe dicinais/artigo\_11\_v7\_n1.pdf.

Filipov, A. (1994). Medicinal plants of the Pilagá of Central Chaco. *Journal of Ethnopharmacology*, 44(3), 181-193. https://doi.org/10.1016/0378-8741(94)01185-0.

Fillinger, S., & Walker, A. S. (2016). Chemical Control and Resistance Management of *Botrytis* Diseases. En: Fillinger, S., Elad, Y. (eds) *Botrytis – the Fungus, the Pathogen and its Management in Agricultural Systems*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-23371-0\_10.

Fiorini, C., Fouraste, I., David, B., & Bessiere, J. M. (1997). Composition of the Flower, Leaf and Stem Essential Oils from *Laurus nobilis*. *Flavour and Fragrance Journal*, 12(2), 91-93. https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1026(199703)12:2<91:AID-FFJ623>3.0.CO;2-3.

Fontana, D. C., Neto, D. D., Pretto, M. M., Mariotto, A. B., Caron, B. O., Kulczynski, S. M., & Schmidt, D. (2021). Using essential oils to control diseases in strawberries and peaches. *International Journal of Food Microbiology*, 338, 108980. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108980.

Fonmboh, D. J., Abah, E. R., Fokunang, T. E., Herve, B., Teke, G. N., Rose, N. M., & Ntungwen, F. C. (2020). An overview of methods of extraction, isolation and characterization of natural medicinal plant products in improved traditional medicine research. *AJRIMPS*, 9(2), 31-57. https://doi.org/10.9734/ajrimps/2020/v9i230152.

Fraga-Corral, M., Otero, P., Echave, J., Garcia-Oliveira, P., Carpena, M., Jarboui, A., & Prieto, M. A. (2021). By-products of agri-food industry as tannin-rich sources: A review of tannins' biological activities and their potential for valorization. *Foods*, 10(1), 137. https://doi.org/10.3390/foods10010137.

France, A. (2013). *Manejo de enfermedades en frutilla* [en línea]. Chillan: Boletin INIA. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, 262. Disponible en: https://hdl.handle.net/20.500.14001/7623.

Franco, D. (2013). Duraznos en conserva. Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca. Buenos Aires. *Revista Alimentos Argentinos*, *57*, 23-29. Disponible en: http://www.alimentosargentinos.gob.ar/contenido/revista/pdfs/57/57\_05\_DURAZNO.pdf.

Freire, S. E., Urtubey, E., & Giuliano, D. A. (2007). Epidermal characters of *Baccharis* (asteraceae) species used in traditional medicine. *Caldasia*, 29(1), 23-39. Disponible en: https://revistas.unal.edu.co/index.php/cal/article/view/39211.

Fusco, M., Ruiz, R., Sosa, A., & Ruiz, S. (1997). Identificación de flavonoides en *Conyza bonariensis* L. Mendoza, Editorial ISHS, Libro de Resumen de WOCMAP II, 146.

Gad, H. A., Ayoub, I. M., & Wink, M. (2019). Phytochemical profiling and seasonal variation of essential oils of three *Callistemon* species cultivated in Egypt. *PloS one*, 14(7), e0219571. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0219571.

Galletta, G. J. & Bringhurst, R. S. (1990). Strawberry management. En: G. J. Galletta & D. G. Himekick (eds.), *Small fruit management* (Pp. 109–112). Englewood Cliffs, Prentice-Hall.

Gally, T., Victoria Giachino, M., & Craig, E. (2016). Puntos críticos para la acreditación de ensayos en laboratorios de sanidad forestal. *Avances en Investigacion Agropecuaria*, 20(3): 33-41. Disponible en: http://www.ucol.mx/revaia/portal/pdf/2016/sept/3.pdf.

Galus, S., Mikus, M., Ciurzyńska, A., Domian, E., Kowalska, J., Marzec, A., & Kowalska, H. (2021). The effect of whey protein-based edible coatings incorporated with lemon and lemongrass essential oils on the quality attributes of fresh-cut pears during storage. *Coatings*, 11(7), 745. https://doi.org/10.3390/coatings11070745.

Ganjewala, D., Sam, S., & Khan, K. H. (2009). Biochemical compositions and antibacterial activities of *Lantana camara* plants with yellow, lavender, red and white flowers. *EurAsian Journal of BioSciences*, 3(10), 69-77. https://doi.org/10.5053/ejobios.2009.3.0.10.

García, M. (2012). Análisis de las transformaciones de la estructura agraria hortícola platense en los últimos 20 años [Doctoral disertación]. Universidad Nacional de La Plata. https://doi.org/10.35537/10915/18122.

Garcia-Benitez, C., Casals, C., Usall, J., Sánchez-Ramos, I., Melgarejo, P., & De Cal, A. (2020). Impact of postharvest handling on preharvest latent infections caused by *Monilinia* spp. in nectarines. *Journal of Fungi*, 6(4), 266. https://doi.org/10.3390/jof6040266.

Garfinkel, A. R. (2021). The history of *Botrytis* taxonomy, the rise of phylogenetics, and implications for species recognition. *Phytopathology*, 111, 437-454. https://doi.org/10.1094/PHYTO-06-20-0211-IA.

Gariglio, N., & Bouzo, C. (2015). Capítulo 3: El duraznero. En: Gariglio, N.F., Bouzo, C.A, Travadelo, M., (eds.) *Cultivos frutales y ornamentales para zonas templado-cálidas*. *Experiencias en la zona central de Santa Fe*. Santa Fe: Ediciones UNL. Disponible en: hdl.handle.net/11185/5536.

Ghangaonkar, N. M. (2013). Evaluation of phytoextracts for the management of garlic (*Allium sativum* L.) bulbs fungal pathogens. *International Journal of Biological Sciences and Technology*, 5(1), 1. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/256296848.

Ghannadi, A., Bagherinejad, M. R., Abedi, D., Jalali, M., Absalan, B., & Sadeghi, N. (2012). Antibacterial activity and composition of essential oils from *Pelargonium graveolens* L'Her and *Vitex agnus-castus* L. *Iranian Journal of Microbiology*, 4(4), 171. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3507305/.

Giacobone, G., Castronuovo, L., Tiscornia, V., & Allemandi, L. (2018). *Análisis de la cadena de suministro de frutas y verduras en Argentina*. Estudio financiado por IDRC-Canadá. Argentina: Fundación InterAmericana del Corazón-Argentina. Disponible en: https://www.ficargentina.org/wp-content/uploads/2018/03/1812\_CadenaValor.pdf.

Giusti, L. (1997). Chenopodiaceae. *Flora Fanerogama Argentina*, 40, 1-52. Disponible en: http://www.floraargentina.edu.ar/wp-content/uploads/2019/01/40-CHENOPODIACEAE.pdf.

Gligor, O., Mocan, A., Moldovan, C., Locatelli, M., Crişan, G., & Ferreira, I. C. (2019). Enzyme-assisted extractions of polyphenols–A comprehensive review. *Trends in Food Science & Technology*, 88, 302-315. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.03.029.

Gogoi, R., Singh, D. V., & Srivastava, K. D. (2001). Phenols as a biochemical basis of resistance in wheat against Karnal bunt. *Plant Pathology*, 50(4), 470-476. https://doi.org/10.1046/j.1365-3059.2001.00583.x.

Gomber, C., & Saxena, S. (2007). Anti-staphylococcal potential of *Callistemon rigidus*. *Central European Journal of Medicine*, 2(1), 79-88. https://doi.org/10.2478/s11536-007-0004-8.

Gomber, C., & Saxena, S. (2013). *In Vitro* Anti-Staphylococcal Activity of Alkaloids from the Leaves of *Callestimone Rigidus* R. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Technology*, *Research and Management*, 1(1), 31-42. https://doi.org/10.15415/jptrm.2013.11003.

González, M., Loroña, D., Condolo, L., & Almeida, M. (2021). Evaluation of *Cinnamon* Essential Oil as a Preservative Agent in the Postharvest Stage of Strawberries (*Fragaria* sp.). *ESPOCH Congresses*: *The Ecuadorian Journal of STEAM*, 374-396. https://doi.org/10.18502/espoch.v1i1.9572.

Gorzalczany, S., Acevedo, C., Muschietti, L., Martino, V., & Ferraro, G. (1996). Search for antiinflammatory activity in Argentine medicinal plants. *Phytomedicine*, 3(2), 181-184. https://doi.org/10.1016/S0944-7113(96)80033-X.

Grande-Tovar, C. D., Chaves-Lopez, C., Viuda-Martos, M., Serio, A., Delgado-Ospina, J., Perez-Alvarez, J. A., & Paparella, A. (2016). Sub-lethal concentrations of Colombian *Austroeupatorium inulifolium* (HBK) essential oil and its effect on fungal growth and the production of enzymes. *Industrial Crops and Products*, 87, 315-323. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.04.066.

Grayer, R. J., Eckert, M. R., Veitch, N. C., Kite, G. C., Marin, P. D., Kokubun, T., & Paton, A. J. (2003). The chemotaxonomic significance of two bioactive caffeic acid esters, nepetoidins A and B, in the Lamiaceae. *Phytochemistry*, 64(2), 519-528. https://doi.org/10.1016/S0031-9422(03)00192-4.

Griffiths, D. W., Deighton, N., Birch, A. N. E., Patrian, B., Baur, R., & Städler, E. (2001). Identification of glucosinolates on the leaf surface of plants from the Cruciferae and other closely related species. *Phytochemistry*, 57(5), 693-700. https://doi.org/10.1016/S0031-9422(01)00138-8.

Guarrera, P. M., & Savo, V. (2016). Wild food plants used in traditional vegetable mixtures in Italy. *Journal of Ethnopharmacology*, 185, 202-234. https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.02.050.

Gupta, M. P. (1995). 270 plantas medicinales iberamericanas. Santa Fe de Bogotá, Colombia, CYTED-SECAB.

Gupta, M., Mazumder, U. K., Chaudhuri, I., Chaudhuri, R. K., Bose, P., Bhattacharya, S., & Patra, S. (2002). Antimicrobial activity of *Eupatorium ayapana*. *Fitoterapia*, 73(2), 168-170. https://doi.org/10.1016/S0367-326X(02)00007-2.

Gurusaravanan, P., Pandiyarajan, V., & Jayabalan, N. (2010). Effect of the seaweed liquid fertilizer on growth and productivity of *Vigna radiata* (L). Wiliczek. *Green Farming*, 1(2), 138-140. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/215588250.

Gutiérrez-Grijalva, E. P., López-Martínez, L. X., Contreras-Angulo, L. A., Elizalde-Romero, C. A., & Heredia, J. B. (2020). Plant alkaloids: structures and bioactive properties. In *Plant-derived bioactives* (pp. 85-117). Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-15-2361-8 5.

Gwinn, K. D. (2018). Chapter 7: Bioactive natural products in plant disease control. En: Rahman, A. *Studies in Natural Products Chemistry* (Vol. 56, Pp. 229-246). Elsevier Amsterdám, https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64058-1.00007-8.

Han, J. W., Shim, S. H., Jang, K. S., Choi, Y. H., Dang, Q. L., Kim, H., & Choi, G. J. (2018). *In vivo* assessment of plant extracts for control of plant diseases: A sesquiterpene ketolactone isolated from *Curcuma zedoaria* suppresses wheat leaf rust. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 53(2), 135-140. https://doi.org/10.1080/03601234.2017.1397448.

Hancock, J. F., Lavín, A., & Retamales, J. B. (1999). Our southern strawberry heritage: *Fragaria chiloensis* of Chile. *HortScience*, 34(5), 814-816. https://https://doi.org/10.21273/HORTSCI.34.5.814.

Haque, A., Siddiqi, M. M. A., Rahman, A. F. M. M., Chowdhury, A. M. S., & Hasan, C. M. (2013). Antimicrobial and cytotoxic activities of the crude extracts of *Callistemon linearis*. *International Journal of Biosciences*, 3(3), 129-33. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/324029471.

Harvell, C. D., & Tollrian, R. (1999). Why inducible defenses? R. Tollrian, C. D. Harvell (eds.), *The Ecology and Evolution of Inducible Defenses* (pp. 3-9). Princeton University Press, Princeton, New Jersey.

Harvey, J. M. (1978). Reduction of losses in fresh market fruits and vegetables. *Annual Reviews Phytopathology*,16(1): 321-341. https://https://doi.org/10.1146/annurev.py.16.090178.001541.

Hawksworth, D. L., & Lücking, R. (2017). Fungal diversity revisited: 2.2 to 3.8 million species. *Microbiology spectrum*, 5(4), 5-4. https://doi.org/10.1128/microbiolspec.FUNK-0052-2016.

He, Y. H., Shang, X. F., Li, H. X., Li, A. P., Tang, C., Zhang, B. Q., & Liu, Y. Q. (2021). Antifungal activity and action mechanism study of coumarins from *Cnidium monnieri* fruit and

structurally related compounds. *Chemistry & Biodiversity*, 18(12), e2100633. https://doi.org/10.1002/cbdv.202100633.

Heinrich, M. (1996). Ethnobotany of Mexican Compositae: an analysis of historical and modern sources. En: Caligari, P. D. S. y Hind, D. J. N. (eds) Proceedings *of the International Compositae Conference, Kew* (Vol.2, Pp. 475-503). Royal Botanic Gardens, Kew.

Hejazi, M., Grant, J. H., & Peterson, E. (2022). Trade impact of maximum residue limits in fresh fruits and vegetables. *Food Policy*, 106, 102203. https://doi.org/10.1016/j.foodpol.2021.102203.

Hennebelle, T., Sahpaz, S., Joseph, H., & Bailleul, F. (2008). Ethnopharmacology of *Lippia alba. Journal of Ethnopharmacology*, 116(2), 211-222. https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.11.044.

Herkert, P. F., Al-Hatmi, A., de Oliveira Salvador, G. L., Muro, M. D., Pinheiro, R. L., Nucci, M., Queiroz-Telles, F., Sybren de Hoog, G. & Meis, J. F. (2019). Molecular characterization and antifungal susceptibility of clinical *Fusarium* species from Brazil. *Frontiers in Microbiology*, 10, 737. https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00737.

Hernández, I., Alegre, L., Van Breusegem, F., & Munné-Bosch, S. (2009). How relevant are flavonoids as antioxidants in plants? *Trends in plant science*, 14(3), 125-132.

Hernández, N. E., Tereschuk, M. L., & Abdala, L. R. (2000). Antimicrobial activity of flavonoids in medicinal plants from Tafi del Valle (Tucuman, Argentina). *Journal of Ethnopharmacology*, 73(1-2), 317-322. https://doi.org/10.1016/S0378-8741(00)00295-6.

Hernández-Lauzardo, A. N., Bautista-Baños, S., Velázquez-del Valle, M. G., & Trejo-Espino, J. L. (2005). Identification of *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.: Fr.) Vuill. causal agent of *Rhizopus* rot disease of fruits and vegetables. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 24, 65-69. https://www.redalyc.org/pdf/612/61224110.pdf.

Hichri, A. O., Hichri, F., Mastouri, M., Brahmia, A., Flamini, G., & Selmi, B. (2019). Study of chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of *Rapistrum rugosum* L. essential oils from flowers, leaves, and stems. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 22(5), 1416-1426. https://doi.org/10.1080/0972060X.2019.1682682.

Hodges, R. J., Buzby, J. C., & Bennett, B. (2011). Postharvest losses and waste in developed and less developed countries: opportunities to improve resource use. *The Journal of Agricultural Science*, 149(S1), 37-45. https://doi.org/ 10.1017/S0021859610000936.

Holst, B., & Williamson, G. (2004). A critical review of the bioavailability of glucosinolates and related compounds. *Natural Product Reports*, 21(3), 425-447. https://doi.org/10.1039/B204039P.

- Hosch, D. (2010). Competitividad argentina en mercado internacional de frutas frescas. Facultad de Ciencias Agrarias. [Tesis grado]. Universidad de Belgrano. Disponible en: http://repositorio.ub.edu.ar/handle/123456789/56000.
- Hosseini, S., Amini, J., Saba, M. K., Karimi, K., & Pertot, I. (2020). Preharvest and postharvest application of garlic and rosemary essential oils for controlling anthracnose and quality assessment of strawberry fruit during cold storage. *Frontiers in Microbiology*, 11, 1855. https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01855.
- Hou, Y. P., Mao, X. W., Qu, X. P., Wang, J. X., Chen, C. J., & Zhou, M. G. (2018). Molecular and biological characterization of *Sclerotinia sclerotiorum* resistant to the anilinopyrimidine fungicide cyprodinil. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 146, 80-89. https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2018.03.001.
- Howard, C. M., Maas, J. L., Chandler, C. K., & Albregts, E. E. (1992). Anthracnose of strawberry caused by the *Colletrotrichum* complex in Florida. *Plant Disease*, 76(10), 976-981. https://doi.org/10.1094/PD-76-0976.
- Hsouna, A. B., & Hamdi, N. (2012). Phytochemical composition and antimicrobial activities of the essential oils and organic extracts from *Pelargonium graveolens* growing in Tunisia. *Lipids in health and disease*, 11(1), 1-7. https://doi.org/10.1186/1476-511X-11-167.
- Hu, M. J., Cosseboom, S., & Schnabel, G. (2019). AtrB-associated fludioxonil resistance in *Botrytis fragariae* not linked to mutations in transcription factor mrr1. *Phytopathology*, 109(5), 839-846. https://doi.org/10.1094/PHYTO-09-18-0341-R.
- Hu, M., & Chen, S. (2021). Non-target site mechanisms of fungicide resistance in crop pathogens:

  A review. *Microorganisms*, 9(3), 502. https://doi.org/10.3390/microorganisms9030502.
- Huamaní, A. L. H. (2020). Efecto biológico de la saponina de quinua en el control de enfermedades poscosecha en fresas (*Fragaria x ananassa*). *Investigación*, 28(1), 249-256. https://doi.org/10.51440/unsch.revistainvestigacion.28.1.2020.378.
- Hurrell, J. A., Ulibarri, E. A., Delucchi, G., & Pochettino, M. L. (2008). *Plantas aromáticas condimenticias*. Biota Rioplatense XIII. Editorial LOLA, Buenos Aires, Argentina.
- Hurrell, J. A., Ulibarri, E. A., Delucchi, G., Pérez, M. L., & Anglese, N. (2010). Plantas condimenticias utilizadas en la Ciudad de Buenos Aires y en el noreste de la Provincia de Buenos Aires (Argentina). En: Pochettino, M. L., Ladio A. H. & P. M. Arenas (eds.), *Tradiciones y transformaciones en Etnobotànica* (Pp.344-349). San Salvador de Jujuy, CYTED-RISAPRET.
- Iglesias, I., & Echeverría, G. (2009). Differential effect of cultivar and harvest date on nectarine colour, quality and consumer acceptance. *Scientia Horticulturae*, 120(1), 41-50. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2008.09.011.

Inderbitzin, P., Robbertse, B., & Schoch, C. L. (2020). Species identification in plant-associated prokaryotes and fungi using DNA. *Phytobiomes Journal*, 4(2), 103-114. https://doi.org/10.1094/PBIOMES-12-19-0067-RVW.

Ingle, A., & Rai, M. (2011). Genetic diversity among Indian phytopathogenic isolates of *Fusarium semitectum* Berkeley and Ravenel. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 2, 142-148. https://doi.org/10.4236/abb.2011.23023.

Ishii, H., Bryson, P. K., Kayamori, M., Miyamoto, T., Yamaoka, Y., & Schnabel, G. (2021). Cross-resistance to the new fungicide mefentrifluconazole in DMI-resistant fungal pathogens. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 171, 104737. https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2020.104737.

Islam, M. T., Barua, J., Karon, B., & Noor, M. A. (2011). Antimicrobial, cytotoxic and antidiarrhoeal activity of *Fimbristylis aphylla* L. *International Journal of Green Pharmacy*, 5(2). https://doi.org/10.4103/0973-8258.85177.

Islami, F., Goding Sauer, A., Miller, K. D., Siegel, R. L., Fedewa, S. A., Jacobs, E. J., & Jemal, A. (2018). Proportion and number of cancer cases and deaths attributable to potentially modifiable risk factors in the United States. *CA: a cancer journal for clinicians*, 68(1), 31-54. https://doi.org/10.3322/caac.21440.

Ismail, B. S., & Siddique, A. B. (2012). Allelopathic inhibition by *Fimbristylis milia*cea on the growth of the rice plants. *Advances in Environmental Biology*, 2423-2428.

Ivanov, I., Vrancheva, R., Marchev, A., Petkova, N., Aneva, I., Denev, P., & Pavlov, A. (2014). Antioxidant activities and phenolic compounds in Bulgarian *Fumaria* species. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(2), 296-306. https://www.academia.edu/download/46127627/Antioxidant\_activities\_and\_phenolic\_comp201 60601-12306-3u6bxu.pdf.

Ivanović, M., Islamčević Razboršek, M., & Kolar, M. (2020). Innovative extraction techniques using deep eutectic solvents and analytical methods for the isolation and characterization of natural bioactive compounds from plant material. *Plants*, 9(11), 1428. https://doi.org/10.3390/plants9111428.

Izzo, A. A., Di Carlo, G., Biscardi, D., De Fusco, R., Mascolo, N., Borrelli, F., & Autore, G. (1995). Biological screening of Italian medicinal plants for antibacterial activity. *Phytotherapy research*, 9(4), 281-286. https://doi.org/10.1002/ptr.2650090410.

Jahangir, M., Kim, H. K., Choi, Y. H., & Verpoorte, R. (2009). Health-affecting compounds in Brassicaceae. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 8(2), 31-43. https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2008.00065.x.

Jamshidi, R., Afzali, Z., & Afzali, D. (2009). Chemical composition of hydrodistillation essential oil of rosemary in different origins in Iran and comparison with other

- countries. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*, 5(1), 78-81. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/265191924.
- Jan, H., Shah, M., Usman, H., Khan, M. A., Zia, M., Hano, C., & Abbasi, B. H. (2020). Biogenic synthesis and characterization of antimicrobial and antiparasitic zinc oxide (ZnO) nanoparticles using aqueous extracts of the Himalayan Columbine (*Aquilegia pubiflora*). *Frontiers in Materials*, 7, 249. https://doi.org/10.3389/fmats.2020.00249.
- Janisiewicz, W. J., & Korsten, L. (2002). Biological control of postharvest diseases of fruits. *Annual Reviews Phytopathology*, 40(1), 411-441. https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.40.120401.130158.
- Jardim, C. M., Jham, G. N., Dhingra, O. D., & Freire, M. M. (2008). Composition and antifungal activity of the essential oil of the Brazilian *Chenopodium ambrosioides* L. *Journal of Chemical Ecology*, 34(9), 1213-1218. https://doi.org/10.1007/s10886-008-9526-z.
- Jardim, C. M., Jham, G. N., Dhingra, O. D., & Freire, M. M. (2010). Chemical composition and antifungal activity of the hexane extract of the Brazilian *Chenopodium ambrosioides* L. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 21, 1814-1818. https://doi.org/10.1590/S0103-505320100010000004.
- Jarvis, W. R. (1977). *Botryotinia and Botrytis species: taxonomy, physiology and pathogenicity-A guide to the literature*. Monography n°15. Research Branch Canada Department of Agriculture. http://hdl.handle.net/10214/15091.
- Jazet, P. M., Tatsadjieu, L. N., Ndongson, B. D., Kuate, J., Zollo, P. H. A., & Menut, C. (2009). Correlation between chemical composition and antifungal properties of essential oils of *Callistemon rigidus* and *Callistemon citrinus* of Cameroon against *Phaeoramularia angolensis*. *Journal of Medicinal Plants Research*, 3(1), 009-015. https://doi.org/10.5897/JMPR.9000413.
- Ji, X. D., Pu, Q. L., Garraffo, H. M., & Pannell, L. K. (1991). The Essential Oil of the Leaves of *Callistemon rigidus R. Brazilian Journal of Essential Oil Research*, 3(6), 465-466. https://doi.org/10.1080/10412905.1991.9697989.
- Jing, H., Liu, J., Liu, H., & Xin, H. (2014). Histochemical investigation and kinds of alkaloids in leaves of different developmental stages in *Thymus quinquecostatus*. *The Scientific World Journal*, 839548. https://doi.org/10.1155/2014/839548.
- Kadam, S. K., Chandanshive, V. V., Rane, N. R., Patil, S. M., Gholave, A. R., Khandare, R. V., & Govindwar, S. P. (2018). Phytobeds with *Fimbristylis dichotoma* and *Ammannia baccifera* for treatment of real textile effluent: An *in-situ* treatment, anatomical studies and toxicity evaluation. *Environmental Research*, 160, 1-11. https://doi.org/10.1016/j.envres.2017.09.009.

Kahan, A. E., Padín, S. B., Ricci, E. M., Ringuelet, J. A., Cerimele, E., Ré, M. S., & Basso, I. (2008). Actividad tóxica del aceite esencial de laurel y del cineol sobre *Brevicoryne brassicae* L. en repollo. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias* (UNCUYO), 40. Disponible en: http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/29320.

Kahramanoğlu, İ., Panfilova, O., Kesimci, T. G., Bozhüyük, A. U., Gürbüz, R., & Alptekin, H. (2022). Control of Postharvest Gray Mold at Strawberry Fruits Caused by *Botrytis cinerea* and Improving Fruit Storability through *Origanum onites* L. and *Ziziphora clinopodioides* L. Volatile Essential Oils. *Agronomy*, 12(2), 389. https://doi.org/10.3390/agronomy12020389.

Kanchana, D., Kavitha, R., & Saranraj, P. (2015). Microbial spoilage of modified atmosphere packaging on fruits and vegetables. *Advances in Biological Research*, 9(4), 253-256. https://doi.org/10.5829/idosi.abr.2015.9.94124.

Kara, M., Oztas, E., Ramazanoğulları, R., Kouretas, D., Nepka, C., Tsatsakis, A. M., & Veskoukis, A. S. (2020). Benomyl, a benzimidazole fungicide, induces oxidative stress and apoptosis in neural cells. *Toxicology Reports*, 7, 501-509. https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2020.04.001.

Kelly, K., Yagiz, Y., Li, Z., Mahnken, G., Borejsza-Wysocki, W., Marshall, M., & do Nascimento Nunes, M. C. (2021). Sensory and Physicochemical Quality, Residual Fungicide Levels and Microbial Load in 'Florida Radiance' Strawberries from Different Disease Control Treatments Exposed to Simulated Supply Chain Conditions. *Foods*, 10(7), 1442. https://doi.org/10.3390/foods10071442.

Kembro, J. M., Marin, R. H., Zygadlo, J. A., & Gleiser, R. M. (2009). Effects of the essential oils of *Lippia turbinata* and *Lippia polystachya* (Verbenaceae) on the temporal pattern of locomotion of the mosquito *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) larvae. *Parasitology Research*, 104(5), 1119-1127. https://doi.org/10.1007/s00436-008-1296-6.

Khalid, M., Bilal, M., & Huang, D. F. (2019). Role of flavonoids in plant interactions with the environment and against human pathogens—A review. *Journal of Integrative Agriculture*, 18(1), 211-230. https://doi.org/10.1016/S2095-3119(19)62555-4.

Khalid, K. A., El-Gohary, A. E., & Ahmed, A. M. (2020). Raising the efficiency of lemon trees to produce essential oil by exogenous cysteine under various soil structures. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 23(1), 194-203. https://doi.org/10.1080/0972060X.2020.1736646.

Khumalo, K. N., Tinyane, P., Soundy, P., Romanazzi, G., Glowacz, M., & Sivakumar, D. (2017). Effect of thyme oil vapour exposure on the brown rot infection, phenylalanine ammonialyase (PAL) activity, phenolic content and antioxidant activity in red and yellow skin peach cultivars. *Scientia Horticulturae*, 214, 195-199. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.11.044.

Kilic, N., Burgut, A., Gündesli, M. A., Nogay, G., Ercisli, S., Kafkas, N. E., & Szopa, A. (2021). The effect of organic, inorganic fertilizers and their combinations on fruit quality

parameters in strawberry. *Horticulturae*, 7(10), 354. https://doi.org/10.3390/horticulturae7100354.

Kirschbaum, D.S., & Hancock, J.F. (2000). The strawberry industry in South America. *HortScience*, 35(5), 807-811. https://doi.org/10.21273/HORTSCI.35.5.807.

Kishore, N., Chansouria, J. P. N., & Dubey, N. K. (1996). Antidermatophytic action of the essential oil of *Chenopodium ambrosioides* and an ointment prepared from it. *Phytotherapy Research*, 10(5), 453-455. https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1573(199608)10:5<453::AID-PTR874>3.0.CO;2-A.

Klein, N., Gazola, A. C., de Lima, T. C. M., Schenkel, E., Nieber, K., & Butterweck, V. (2014). Assessment of sedative effects of *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* and *Passiflora alata* extracts in mice, measured by telemetry. *Phytotherapy Research*, 28(5), 706-713. https://doi.org/10.1002/ptr.5043.

Kliks, M. M. (1985). Studies on the traditional herbal anthelmintic *Chenopodium ambrosioides* L.: ethnopharmacological evaluation and clinical field trials. *Social Science & Medicine*, 21(8), 879-886. https://doi.org/10.1016/0277-9536(85)90144-3.

Kloucek, P., Smid, J., Frankova, A., Kokoska, L., Valterova, I., & Pavela, R. (2012). Fast screening method for assessment of antimicrobial activity of essential oils in vapor phase. *Food Research International*, 47(2):161-165. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.04.044.

Kong, L. D., Abliz, Z., Zhou, C. X., Li, L. J., Cheng, C. H. K., & Tan, R. X. (2001). Glycosides and xanthine oxidase inhibitors from *Conyza bonariensis*. *Phytochemistry*, 58(4), 645-651. https://doi.org/10.1016/S0031-9422(01)00176-5.

Kosubová, P., Škulcová, L., Poláková, Š., Hofman, J., y Bielská, L. (2020). Spatial and temporal distribution of the currently-used and recently-banned pesticides in arable soils of the Czech Republic. *Chemosphere*, 254, 126902. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126902.

Kotera, S., Hishiike, M., Saito, H., Komatsu, K., & Arie, T. (2022). Differentiation of the Pea Wilt Pathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. pisi from other Isolates of *Fusarium* Species by PCR. *Microbes and environments*, 37(1), ME21061. https://doi.org/10.1264/jsme2.ME21061.

Kubínova, R., Pořízková, R., Navrátilová, A., Farsa, O., Hanáková, Z., Bačinská, A., & Valentová, M. (2014). Antimicrobial and enzyme inhibitory activities of the constituents of *Plectranthus madagascariensis* (Pers.) Benth. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 29(5), 749-752. https://doi.org/10.3109/14756366.2013.848204.

Kuiate, J. R., Tsona, A. A., Foko, J., Bessiere, J. M., Menut, C., & Zollo, P. H. A. (2005). Chemical composition and *in vitro* antifungal properties of essential oils from leaves and flowers of *Erigeron floribundus* (HB et K.) Sch. Bip. from Cameroon. *Journal of Essential Oil Research*, 17(3), 261-264. https://doi.org/10.1080/10412905.2005.9698896.

- Kumar, D., Punetha, A., Verma, P. P., & Padalia, R. C. (2022). Micronutrient based approach to increase yield and quality of essential oil in aromatic crops. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 26, 100361. https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2021.100361.
- Kumar, D., Sukapaka, M., Babu, G. K., & Padwad, Y. (2015). Chemical composition and *in vitro* cytotoxicity of essential oils from leaves and flowers of *Callistemon citrinus* from western Himalayas. *PloS one*, 10(8), e0133823. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0133823.
- Kumar, M. S., & Maneemegalai, S. (2008). Evaluation of larvicidal effect of *Lantana* camara Linn against mosquito species *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. *Advances in Biological Research*, 2(3-4), 39-43. Disponible en: https://www.idosi.org/abr/2(3-4)/1.pdf.
- Lacey, J. (1989). Pre-and post-harvest ecology of fungi causing spoilage of foods and other stored products. *Journal of Applied Bacteriology*, 67, 11s-25s. https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1989.tb03766.x.
- Lahitte, H. B., Hurrell, J. A., Belgrano, M. J., Jankowski, L. S., Haloua, M. P., & Mehltreter, K. (1998). *Plantas medicinales rioplatenses*. Buenos Aires, Editorial LOLA.
- Lai, Q., Sun, X., Li, L., Li, D., Wang, M., & Shi, H. (2021). Toxicity effects of procymidone, iprodione and their metabolite of 3,5-dichloroaniline to zebrafish. *Chemosphere*, 272, 129577. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.129577.
- Lall, N., & Meyer, J. J. M. (1999). *In vitro* inhibition of drug-resistant and drug-sensitive strains of *Mycobacterium tuberculosis* by ethnobotanically selected South African plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 66(3), 347-354. https://doi.org/10.1016/S0378-8741(98)00185-8.
- Lalli, J. Y. Y., Van Zyl, R. L., Van Vuuren, S. F., & Viljoen, A. M. (2008). *In vitro* biological activities of South African *Pelargonium* (Geraniaceae) species. *South African Journal of Botany*, 74(1), 153-157. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2007.08.011.
- Lambaré, D. A., & Pochettino, M. L. (2012). Diversidad local y prácticas agrícolas asociadas al cultivo tradicional de duraznos: *Prunus persica* (Rosaceae), en el Noroeste de Argentina. *Darwiniana*, 50(1/2), 174-186. Disponible en: https://www.jstor.org/stable/41825707.
- Lambrecht, D. M., Lúcio, A. D. C., Diel, M. I., Schmidt, D., de Lima Tartaglia, F., & Tischler, A. L. (2020). Differences between strawberry cultivars based on principal component analysis. *International Journal for Innovation Education and Research*, 8(6), 136-145. https://doi.org/10.31686/ijier.vol8.iss6.2383.
- Lancelle, H. G., Giordano, O. S., Sosa, M. E., & Tonn, C. E. (2009). Chemical composition of four essential oils from *Eupatorium* spp. biological activities toward *Tribolium* castaneum (Coleoptera: Tenebrionidae). *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, 68(3-4), 329-338. Disponibble en: http://hdl.handle.net/11336/24791.

- Larena, I., Torres, R., De Cal, A., Liñán, M., Melgarejo, P., Domenichini, P., & Usall, J. (2005). Biological control of postharvest brown rot (*Monilinia* spp.) of peaches by field applications of *Epicoccum nigrum*. *Biological Control*, 32(2), 305-310. https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2004.10.010.
- Lassak, E. V., & McCarthy, T. (1983). *Australian medicinal plants*. North Ryde, Methuen Australia.
- Lassak, E. V., & Smyth, M. M. (1994). Steam volatile leaf oil of *Callistemon linearis* (Schrader et Wendl.) Sweet. *Journal of Essential Oil Research*, 6(4), 403-406. https://doi.org/10.1080/10412905.1994.9698408.
- Lastochkina, O., Seifikalhor, M., Aliniaeifard, S., Baymiev, A., Pusenkova, L., Garipova, S., & Maksimov, I. (2019). *Bacillus* spp.: efficient biotic strategy to control postharvest diseases of fruits and vegetables. *Plants*, 8(4), 97. https://doi.org/10.3390/plants8040097.
- Lazzeri, L., & Manici, L. M. (2001). Allelopathic effect of glucosinolate-containing plant green manure on *Pythium* sp. and total fungal population in soil. *HortScience*, 36(7), 1283-1289. https://doi.org/10.21273/HORTSCI.36.7.1283.
- Leal, L. E., Alarcón, A., Ortega Baes, F. P., Cayo, F., & Alarcón, R. (2019). Effects of essential oils from two *Lippia* species on growth of phytopathogenic fungi. https://www.blacpma.ms-editions.cl/index.php/blacpma/article/view/11.
- Lefebvre, T., Destandau, E., & Lesellier, E. (2021). Selective extraction of bioactive compounds from plants using recent extraction techniques: A review. *Journal of Chromatography A*, 1635, 461770. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2020.461770.
- Legard, D. E., Xiao, C. L., Mertely, J. C., & Chandler, C. K. (2000). Effects of plant spacing and cultivar on incidence of *Botrytis* fruit rot in annual strawberry. *Plant Disease*, 84(5), 531-538. https://doi.org/10.1094/PDIS.2000.84.5.531.
- Lengai, G. M., Muthomi, J. W., & Mbega, E. R. (2020). Phytochemical activity and role of botanical pesticides in pest management for sustainable agricultural crop production. *Scientific African*, 7, 00239. https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2019.e00239.
- Leslie, J. F., & Summerell, B. A. (2006). *Fusarium* laboratory workshops—a recent history. *Mycotoxin Research*, 22(2), 73-74. https://doi.org/10.1007/BF02956766.
- Li, P., Feng, B., & Sun, N. (2019). Physiological characteristics of boscalid against *Botrytis cinerea* from strawberry. *Journal of Northeast Agricultural University* (English Edition), 26(4), 23-30. Disponible en: https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20203164675.
- Li, Y., Shao, X., Xu, J., Wei, Y., Xu, F., & Wang, H. (2017). Effects and possible mechanism of tea tree oil against *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum in vitro* and *in vivo* test. *Canadian Journal of Microbiology*, 63(3), 219-227. https://doi.org/10.1139/cjm-2016-0553.

- Li, Z., Nie, J., Yan, Z., Cheng, Y., Lan, F., Huang, Y., Qiusheng, C., Xubo, Z., & Li, A. (2018). A monitoring survey and dietary risk assessment for pesticide residues on peaches in China. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 97, 152-162. https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2018.06.007.
- Ligor, M., Ratiu, I. A., Kiełbasa, A., Al-Suod, H., & Buszewski, B. (2018). Extraction approaches used for the determination of biologically active compounds (cyclitols, polyphenols and saponins) isolated from plant material. *Electrophoresis*, 39(15), 1860-1874. https://doi.org/10.1002/elps.201700431.
- Lin, H. J., Lin, Y. L., Huang, B. B., Lin, Y. T., Li, H. K., Lu, W. J., & Lin, H. T. V. (2022). Solid-and vapour-phase antifungal activities of six essential oils and their applications in postharvest fungal control of peach (*Prunus persica* L. Batsch). LWT, 156, 113031. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.113031.
- Lira, M. H. P. D., Andrade Júnior, F. P. D., Moraes, G. F. Q., Macena, G. D. S., Pereira, F. D. O., & Lima, I. O. (2020). Antimicrobial activity of geraniol: An integrative review. *Journal of Essential Oil Research*, 32(3), 187-197. https://doi.org/10.1080/10412905.2020.1745697.
- Liu, S., Fu, L., Tan, H., Jiang, J., Che, Z., Tian, Y., & Chen, G. (2021). Resistance to boscalid in *Botrytis cinerea* from greenhouse-grown tomato. *Plant Disease*, 105(3), 628-635. https://doi.org/10.1094/PDIS-06-20-1191-RE.
- Loi, M., Paciolla, C., Logrieco, A. F., & Mulè, G. (2020). Plant bioactive compounds in pre-and postharvest management for aflatoxins reduction. *Frontiers in microbiology*, 11, 243. https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00243.
- Lord, N. S., Kaplan, C. W., Shank, P., Kitts, C. L., & Elrod, S. L. (2002). Assessment of fungal diversity using terminal restriction fragment (TRF) pattern analysis: comparison of 18S and ITS ribosomal regions. *FEMS Microbiology Ecology*, 42(3), 327-337. https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2002.tb01022.x.
- Lücking, R., Aime, M. C., Robbertse, B., Miller, A. N., Ariyawansa, H. A., Aoki, T., & Schoch, C. L. (2020). Unambiguous identification of fungi: where do we stand and how accurate and precise is fungal DNA barcoding? *IMA fungus*, 11(1), 1-32. https://doi.org/10.1186/s43008-020-00033-z.
- Lukhoba, C. W., Simmonds, M. S., & Paton, A. J. (2006). *Plectranthus*: A review of ethnobotanical uses. *Journal of Ethnopharmacology*, 103(1), 1-24. https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.09.011.
- Lykkesfeldt, J., & Moller, B. L. (1993). Synthesis of benzylglucosinolate in *Tropaeolum majus* L. (isothiocyanates as potent enzyme inhibitors). *Plant Physiology*, 102(2), 609-613. https://doi.org/10.1104/pp.102.2.609.

Lyzhin, A., & Luk'yanchuk, I. (2021). Assessment of strawberry varieties by anthracnose resistance gene. EDP Sciences. *BIO Web of Conferences*, 34, 02007. https://doi.org/10.1051/bioconf/20213402007.

Maas, J. L. (1998). *Compendium of strawberry diseases*. The American Phytopathological Society. St. Paul, USA: APS press. https://doi.org/10.1094/9780890546178.

Mabrouk, S., Elaissi, A., Ben Jannet, H., & Harzallah-Skhiri, F. (2011). Chemical composition of essential oils from leaves, stems, flower heads and roots of *Conyza bonariensis* L. from Tunisia. *Natural Product Research*, 25(1), 77-84. https://doi.org/10.1080/14786419.2010.513685.

Mabrouk, S., Salah, K. B. H., Elaissi, A., Jlaiel, L., Jannet, H. B., Aouni, M., & Harzallah-Skhiri, F. (2013). Chemical composition and antimicrobial and allelopathic activity of Tunisian *Conyza sumatrensis* (Retz.) E. walker essential oils. *Chemistry & Biodiversity*, 10(2), 209-223. https://doi.org/10.1002/cbdv.201200117.

Mac Loughlin, T. M., Peluso, L., & Marino, D. J. (2017). Pesticide impact study in the peri-urban horticultural area of Gran La Plata, Argentina. *Science of the Total Environment*, 598, 572-580. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.04.116.

Mac Loughlin, T. M., Peluso, M. L., Etchegoyen, M. A., Alonso, L. L., de Castro, M. C., Percudani, M. C., & Marino, D. J. (2018). Pesticide residues in fruits and vegetables of the argentine domestic market: Occurrence and quality. *Food Control*, 93, 129-138. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.05.041.

Machado, S. M., Militão, J. S., Facundo, V. A., Ribeiro, A., de Morais, S. M., de Alencar, J. W., & Filho, R. B. (1995). Essential oil of *Conyza sumatrensis* (Retz) Walk. *Journal of Essential Oil Research*, 7(1), 83-84. https://doi.org/10.1080/10412905.1995.9698470.

Madureira, J., Barros, L., Cabo Verde, S., Margaça, F. M., Santos-Buelga, C., & Ferreira, I. C. (2020). Ionizing radiation technologies to increase the extraction of bioactive compounds from agro-industrial residues: a review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(40), 11054-11067. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c04984.

Magaldi, S., Mata-Essayag, S., De Capriles, C. H., Pérez, C., Colella, M. T., Olaizola, C., & Ontiveros, Y. (2004). Well diffusion for antifungal susceptibility testing. *International journal of infectious diseases*, 8(1), 39-45. https://doi.org/10.1016/j.ijid.2003.03.002.

Magdum, S., & Kumar, S. (2013). Organogenesis of *Ammi majus* via callus culture from leaf. *Plant Tissue Culture and Biotechnology*, 23(1), 101-106. Disponible en: https://ssrn.com/abstract=2306502.

Maguiña, A. A., & Iannacone, J. A. (2000). *Artemia fransciscana* Kellog 1906" Camaron salino" como agente de bioensayo para evaluar cinco extractos crudos de plantas con propiedades antiparasitarias. *Boletin-Sociedad Quimica del Peru*, 66(3), 154-169.

MAGyP, Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca. (2019). Cadena de Frutillas-Resumen. Secretaría de Alimentos y Bioeconomía, Dirección Nacional de Alimentos y Bebidas, Dirección de Cadenas Alimentarias. Disponible en: http://www.alimentosargentinos.gob.ar/HomeAlimentos/Cadenas%20de%20Valor%20de%20A limentos%20y%20Bebidas/informes/Resumen\_Cadena\_frutillas\_NOVIEMBRE\_2019.pdf.

Maheswari, N. U., & Komalavalli, R. (2013). Diversity of soil fungi from Thiruvarur district, Tamil Nadu, India. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 2, 135-141. Disponible en: https://www.academia.edu/download/37187291/R.\_Komalavalli.pdf.

Malizia, R. A., Cardell, D. A., Molli, J. S., González, S., Guerra, P. E., & Grau, R. J. (2005). Volatile constituents of leaf oils from the genus *Baccharis*. Part II: *Baccharis obovata* Hooker et Arnott and *B. salicifolia* (Ruiz et Pav.) Pers. species from Argentina. *Journal of Essential Oil Research*, 17(2), 194-197. https://doi.org/10.1080/10412905.2005.9698845.

Marcolini, S. B., Verón, C. S., Goytia, M. D., Di Paolo, H., Mancini, C. M., Radi, D. M., & Zuliani, S. B. (2014). Implicancias fiscales de la exportación de duraznos en argentina. Decimonovenas Jornadas Investigaciones en la Facultad de Ciencias Económicas y Estadística. http://hdl.handle.net/2133/7469.

Mari, M., Martini, C., Guidarelli, M., & Neri, F. (2012). Postharvest biocontrol of *Monilinia laxa*, *Monilinia fructicola* and *Monilinia fructigena* on stone fruit by two *Aureobasidium pullulans* strains. *Biological Control*, 60(2), 132-140. https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2011.10.013.

Mari, M., Spadaro, D., Casals, C., Collina, M., De Cal, A., & Usall, J. (2019). Stone fruits. En Lluís Palou, L. & Smilanick J. (eds) Postharvest pathology of fresh horticultural produce (Pp. 111-140). Boca Raton, CRC Press. https://doi.org/10.1201/9781315209180.

Marin-Felix, Y., Groenewald, J. Z., Cai, L., Chen, Q., Marincowitz, S., Barnes, I., & Crous, P. W. (2017). Genera of phytopathogenic fungi: GOPHY 1. *Studies in Mycology*, 86, 99-216. https://doi.org/10.1016/j.simyco.2017.04.002.

Marin-Felix, Y., Hernández-Restrepo, M., Iturrieta-González, I., García, D., Gené, J., Groenewald, J. Z., & Crous, P. W. (2019). Genera of phytopathogenic fungi: GOPHY 3. *Studies in Mycology*, 94, 1-124. https://doi.org/10.1016/j.simyco.2019.05.001.

Martínez Crovetto, R. (1981). Las plantas utilizadas en medicina popular en el noroeste de Corrientes (República Argentina). Instituto Miguel Lillo. *Miscelánea*, 69: 29.

Martinez, M. J. A., Bessa, A. L., & Benito, P. B. (2005). Biologically active substances from the genus *Baccharis* L. (Compositae). *Studies in Natural Products Chemistry*, 30, 703-759. https://doi.org/10.1016/S1572-5995(05)80045-6.

Martinez-Crovetto, R. (1981). Fertility-regulating plants used in popular medicine in Northeastern Argentina. *Parodiana*, 1(1), 97-117.

Martino, V. S., Ferraro, G. E., Debenedetti, S. L., & Coussio, J. D. (1989). Determinación espectrofotométrica del contenido de acidos cafeoilquínicos en especies Argentinas de compuestas usadas en medicina popular. *Acta Farmaceutica Bonaerense*, 8(1), 3-9. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/280016755.

Martins J., Santi-Gadelha, T., Gadelha, C., & Marinho, E. (2003) Isolamento e purificação de lectina presente em sementes de *Acacia caven*. Pós-graduandos Depto. de Bioquímica e Biologia Molecular. 54º Congresso Nacional de Botânica. 3ª Reuinão Amazónica de Botânica. Belém. Disponible en: https://dtihost.sfo2.digitaloceanspaces.com/sbotanicab/54CNBot/R0933-1.pdf.

Mason-D'Croz, D., Bogard, J. R., Sulser, T. B., Cenacchi, N., Dunston, S., Herrero, M., & Wiebe, K. (2019). Gaps between fruit and vegetable production, demand, and recommended consumption at global and national levels: an integrated modelling study. *The Lancet Planetary Health*, 3(7), e318-e329. https://doi.org/10.1016/S2542-5196(19)30095-6.

Mata, R., Rojas, A., Acevedo, L., Estrada, S., Calzada, F., Rojas, I., & Linares, E. (1997). Smooth muscle relaxing flavonoids and terpenoids from *Conyza filaginoides*. *Planta Medica*, 63(01), 31-35. https://doi.org/10.1055/s-2006-957598.

Matar, C., Guillard, V., Gauche, K., Costa, S., Gontard, N., Guilbert, S., & Gaucel, S. (2020). Consumer behaviour in the prediction of postharvest losses reduction for fresh strawberries packed in modified atmosphere packaging. *Postharvest Biology and Technology*, 163, 111119. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2020.111119.

Matias, D., Pereira, F., Pereira, M., Simões, M. F., Diaz-Lanza, A. M., Reis, C. P., & Rijo, P. (2014). Antimicrobial screening of *Plectranthus madagascariensis* Benth. extracts. *Planta Medica*, 80(16), P1L102. https://doi.org/10.1055/s-0034-1394759.

Matrose, N. A., Obikeze, K., Belay, Z. A., & Caleb, O. J. (2021). Plant extracts and other natural compounds as alternatives for post-harvest management of fruit fungal pathogens: A review. *Food Bioscience*, 41, 100840. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100840.

Mazaro, S. M., Deschamps, C., May de Mio, L. L., Biasi, L. A., Gouvea, A. D., & Sautter, C. K. (2008). Post harvest behavior of strawberry fruits after pre harvest treatment with chitosan and acibenzolar-S-methyl. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 30, 185-190. https://doi.org/10.1590/S0100-29452008000100034.

McGrath, M.T. (2004). What are Fungicides? *The Plant Health Instrument*, 10, 109-115. https://doi.org/10.1094/PHI-I-2004-0825-01.

McKinney, H. (1923). Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativus*. *Journal of Agricultural Research*, 26, 195.

Mehalaine, S., & Chenchouni, H. (2020). Plants of the same place do not have the same metabolic pace: soil properties affect differently essential oil yields of plants growing wild in

semiarid Mediterranean lands. *Arabian Journal of Geosciences*, 13(23), 1-11. https://doi.org/10.1007/s12517-020-06219-4.

Melo, N. F. C., de Lima, M. A. B., Stamford, T. L. M., Galembeck, A., Flores, M. A., de Campos Takaki, G. M., & Montenegro Stamford, T. C. (2020). *In vivo* and *in vitro* antifungal effect of fungal chitosan nanocomposite edible coating against strawberry phytopathogenic fungi. *International Journal of Food Science & Technology*, 55(11), 3381-3391. https://doi.org/10.1111/ijfs.14669.

Menzel, C. (2021). Higher Temperatures Decrease Fruit Size in Strawberry Growing in the Subtropics. *Horticulturae*, 7(2), 34. https://doi.org/10.3390/horticulturae7020034.

Menzel, C. M. (2019). Temperature has a greater effect on fruit growth than defoliation or fruit thinning in strawberries in the subtropics. *Agriculture*, 9(6), 127. https://doi.org/10.3390/agriculture9060127.

Mercado Central de Buenos Aires (MCBA). (2019). Boletín de Frutas y Hortalizas del Convenio INTA n°99. Disponible en: http://www.mercadocentral.gob.ar/publicaciones/bolet%C3%ADn-de-frutas-y-hortalizas-del-convenio-inta-cmcba-n%C2%BA-99-frutillas.

Mesa, V. A. M., Marín, P., Ocampo, O., Calle, J., & Monsalve, Z. (2019). Fungicidas a partir de extractos vegetales: una alternativa en el manejo integrado de hongos fitopatógenos. RIA. *Revista de Investigaciones Agropecuarias*, 45(1), 23-30. Disponible en: http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=86458941001.

Miller, N. J., Rice-Evans, C., Davies, M. J., Gopinathan, V., & Milner, A. (1993). A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clinical Science*, 84(4), 407-412. https://doi.org/10.1042/cs0840407.

Miller-Butler, M. A., Smith, B. J., Babiker, E. M., Kreiser, B. R., & Blythe, E. K. (2018). Comparison of whole plant and detached leaf screening techniques for identifying anthracnose resistance in strawberry plants. *Plant Disease*, 102(11), 2112-2119. https://doi.org/10.1094/PDIS-08-17-1138-RE.

Ministerio de Agroindustria. (2017). Cadena de Frutillas Informe Ejecutivo. Subsecretaría de Alimentos y Bebidas. Secretaría de Agregado de Valor. Disponible en: http://www.alimentosargentinos.gob.ar/HomeAlimentos/Cadenas%20de%20Valor%20de%20A limentos%20y%20Bebidas/informes/Ficha\_cadena\_FRUTILLAS%20\_Mayo%20\_2017.pdf.

Ministerio de Hacienda y Finanzas Públicas. (2016). Frutícola – Fruta de carozo. Informes de cadenas de valor año. Disponible en: https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/sspe\_cadena\_de\_valor\_fruta\_de\_carozo.pdf.

Mo, E. K., & Sung, C. K. (2007). Phenylethyl alcohol (PEA) application slows fungal growth and maintains aroma in strawberry. *Postharvest Biology and Technology*, 45(2), 234-239. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.02.005.

Mody, N. V., Parish, E. J., Bhattacharyya, J., Miles, D. H., & Hedin, P. A. (1974). The essential oil in *Scirpus americanus*. *Phytochemistry*, 13(9), 2027-2029. https://doi.org/10.1016/0031-9422(74)85162-9.

Mohamed, A. A., Salah, M. M., El-Dein, M. M. Z., EL-Hefny, M., Ali, H. M., Farraj, D. A. A., & Ashmawy, N. A. (2021). Ecofriendly bioagents, *Parthenocissus quinquefolia*, and *Plectranthus neochilus* extracts to control the early blight pathogen (*Alternaria solani*) in tomato. *Agronomy*, 11(5), 911. https://doi.org/10.3390/agronomy11050911.

Mohammadi, L., Ramezanian, A., Tanaka, F., & Tanaka, F. (2021). Impact of *Aloe vera* gel coating enriched with basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oil on postharvest quality of strawberry fruit. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15(1), 353-362. https://doi.org/10.1007/s11694-020-00634-7.

Molina, N., Giménez, L., & Richieri, C. (2007). Economía del Sector Hortícola de Corrientes Producción frutillera regional y su relación con la oferta nacional y del MERCOSUR. Estación Experimental Agropecuaria Bella Vista. Centro Regional Corrientes. INTA. Publicación Técnica Nº 22. Disponible en: https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta\_economa\_del\_sector\_hortcola\_de\_corrientes.pdf.

Montenegro, I., Madrid, A., Cuellar, M., Seeger, M., Alfaro, J., Besoain, X., & Valenzuela, M. (2018). Biopesticide activity from drimanic compounds to control tomato pathogens. *Molecules*, 23(8), 2053. https://doi.org/10.3390/molecules23082053.

Monti, C., Novoa, M. C., & Vizcaíno, C. E. (2003). Anatomía y Etnobotánica de dos especies de Boraginaceae de la provincia pampeana (Argentina) usadas en medicina popular. *Acta Farmacéutica Bonaerense*, 22(3), 197-202. Disponible en: http://www.latamjpharm.org/trabajos/22/3/LAJOP\_22\_3\_1\_1\_SU803762T2.pdf.

Mosquera, A., Rivera, A. V., Rodulfo de Gil, E., & Bahsas, A. (1985). Structure of a diterpene from the *Austroeupatorium inulaefolia* (HBK) K et R: 2, 18-diacetoxy-15, 16-epoxy-3-hydroxy-12-oxo-19-norlabdane-8 (17), 13 (16), 14-triene monohydrate, C<sub>23</sub>H<sub>30</sub>O<sub>7</sub>. H<sub>2</sub>O. *Acta Crystallographica Section C: Crystal Structure Communications*, 41(3), 433-436. https://doi.org/10.1107/S0108270185004176.

Muggia, L., Ametrano, C. G., Sterflinger, K., & Tesei, D. (2020). An overview of genomics, phylogenomics and proteomics approaches in Ascomycota. *Life*, 10(12), 356. https://doi.org/10.3390/life10120356.

Mulat, M., Khan, F., Muluneh, G., & Pandita, A. (2020). Phytochemical profile and antimicrobial effects of different medicinal plant: current knowledge and future perspectives.

*Current Traditional Medicine*, 6(1), 24-42. https://doi.org/10.2174/2215083805666190730151118.

Nario, A., Pino, I., Zapata, F., Albornoz, M. P., & Baherle, P. (2003). Nitrogen (15N) fertiliser use efficiency in peach (*Prunus persica* L.) cv. Goldencrest trees in Chile. *Scientia Horticulturae*, 97(3-4), 279-287. https://doi.org/10.1016/S0304-4238(02)00211-X.

National Cancer Institute. (2001). 5a day for better health program (NIH publication 01-5019) Washington, DC: US Government Printing Office. Disponible en: https://grants.nih.gov/grants/guide/rfa-files/rfa-ca-92-017.html.

National Germplasm Resources Laboratory, Beltsville, Maryland. Disponible en: https://npgsweb.ars-grin.gov/gringlobal.

Navone, G. T., Zonta, M., & Gamboa, M. (2014). Fitoterapia Mbyá-Guaraní en el control de las parasitosis intestinales: Un estudio exploratorio con *Chenopodium ambrosioides* L. var *anthelminticum* en cinco comunidades de Misiones, Argentina. *Polibotánica*, 37, 135-151. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\_arttext&pid=S1405-27682014000100008&lng=es&tlng=es.

Naz, R., & Bano, A. (2013). Phytochemical screening, antioxidants and antimicrobial potential of *Lantana camara* in different solvents. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 3(6), 480-486. https://doi.org/10.1016/S2222-1808(13)60104-8.

Nehir El, S., & Simsek, S. (2012). Food technological applications for optimal nutrition: an overview of opportunities for the food industry. Comprehensive Reviews in Food Science and *Food Safety*, 11(1), 2-12. https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2011.00167.x.

Newbold, C. L. (2021). Is Resistance Futile: Examining Fitness Costs Associated with QoI Resistance in *E. necator*. [Thesis Dissertation], Oregon State University, USA. Disponible en: https://ir.library.oregonstate.edu/concern/graduate\_thesis\_or\_dissertations/br86bb590.

Nguyen, D. T. C., Nguyen, T. T., Le, H. T., Nguyen, T. T. T., Bach, L. G., Nguyen, T. D., & Van Tran, T. (2021). The sunflower plant family for bioenergy, environmental remediation, nanotechnology, medicine, food and agriculture: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 19(5), 3701-3726. https://doi.org/10.1007/s10311-021-01266-z.

Nguyen, T. T., Rosello, C., Bélanger, R., & Ratti, C. (2020). Fate of residual pesticides in fruit and vegetable waste (FVW) processing. *Foods*, 9(10), 1468. https://doi.org/10.3390/foods9101468.

Ngo, M. T., Han, J. W., Yoon, S., Bae, S., Kim, S. Y., Kim, H., & Choi, G. J. (2019). Discovery of new triterpenoid saponins isolated from *Maesa japonica* with antifungal activity against rice blast fungus *Magnaporthe oryzae*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 67(27), 7706-7715. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b02236.

Nielsen, B. J., Jensen, N. L., Hartvig, P., Hjelmroth, L., & Weber, R. W. (2021). Fungicide Resistance in *Botrytis* in Danish Strawberry Production. *Erwerbs-Obstbau*, 63(1), 1-6. https://doi.org/10.1007/s10341-021-00541-1.

Ninkuu, V., Zhang, L., Yan, J., Fu, Z., Yang, T., & Zeng, H. (2021). Biochemistry of terpenes and recent advances in plant protection. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(11), 5710. https://doi.org/10.3390/ijms22115710.

Nowicka, A., Kucharska, A. Z., Sokół-Łętowska, A., & Fecka, I. (2019). Comparison of polyphenol content and antioxidant capacity of strawberry fruit from 90 cultivars of *Fragaria*× ananassa Duch. Food Chemistry, 270, 32-46. doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.015.

Nunes, C. A. (2012). Biological control of postharvest diseases of fruit. *European Journal of Plant Pathology*, 133(1), 181-196. https://doi.org/10.1007/s10658-011-9919-7.

O'Donnell, K., Ward, T. J., Robert, V. A., Crous, P. W., Geiser, D. M., & Kang, S. (2015). DNA sequence-based identification of *Fusarium*: current status and future directions. *Phytoparasitica*, 43(5), 583-595. https://doi.org/10.1007/s12600-015-0484-z.

Obi, V. I., Barriuso, J. J., & Gogorcena, Y. (2018a). Effects of pH and titratable acidity on the growth and development of *Monilinia laxa* (Aderh. y Ruhl.) *in vitro* and *in vivo*. *European Journal of Plant Pathology*, 151(3), 781-790. https://doi.org/10.1007/s10658-017-1413-4.

Obi, V. I., Barriuso, J. J., & Gogorcena, Y. (2018b). Peach brown rot: still in search of an ideal management option. *Agriculture*, 8(8), 125. https://doi.org/10.3390/agriculture8080125.

Ojer, M. (2020). Frutales de carozo en la argentina: situación actual y principales variedades. Experticia. *Revista de divulgación científica, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Cuyo*, 11. Disponible en: experticia.fca.uncu.edu.ar/images/pdfs/2017-08/Frutales\_de\_carozo\_en\_la\_argentina\_low.pdf.

Okunowo, W. O., Oyedeji, O., Afolabi, L. O., & Matanmi, E. (2013). Essential oil of grape fruit (*Citrus paradisi*) peels and its antimicrobial activities. *American Journal of Plant Sciences*, 4(7B), 1-7. https://doi.org/10.4236/ajps.2013.47A2001.

Oliveira, D. R., Leitao, G. G., Santos, S. S., Bizzo, H. R., Lopes, D., Alviano, C. S., & Leitao, S. G. (2006). Ethnopharmacological study of two *Lippia* species from Oriximiná, Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*, 108(1), 103-108. https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.04.018.

Oliveira, J., Parisi, M. C. M., Baggio, J. S., Silva, P. P. M., Paviani, B., Spoto, M. H. F., & Gloria, E. M. (2019). Control of *Rhizopus stolonifer* in strawberries by the combination of essential oil with carboxymethylcellulose. *International Journal of Food Microbiology*, 292, 150-158. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.12.014.

Omar, N. H., Mohd, M., Nor, N. M. I. M., & Zakaria, L. (2018). Characterization and pathogenicity of *Fusarium* species associated with leaf spot of mango (*Mangifera indica* L.). *Microbial pathogenesis*, 114, 362-368. https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.12.026.

Opara, U.L., & Pathare, P.B. (2014). Bruise damage measurement and analysis of fresh horticultural produce-A review. *Postharvest Biology and Technology*, 91, 9-24. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.12.009.

Orde, K. M., & Sideman, R. G. (2019). Low tunnel and cultivar effects on day-neutral strawberry yield and characteristics in New Hampshire. *HortTechnology*, 29(6), 795-810. https://doi.org/10.21273/HORTTECH04317-19.

OMS, Organización Mundial de la Salud. (2002). Informe sobre la salud en el mundo. *Reducir los riesgos y promover una vida sana*. Disponible en: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/42557/WHR\_2002\_spa.pdf.

OMS, Organización Mundial de la Salud. (2003). Dieta, nutrición y prevención de enfermedades crónicas. Informe de un grupo de estudio de la OMS Serie de Informes Técnicos n°916. Ginebra, Organización Mundial de la Salud. Disponible en: http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/42665/WHO\_TRS\_916.pdf?sequence=1.

OPS, Organización Panamericana de la Salud. (2002). Organización Mundial de la Salud. La respuesta de Salud pública a las enfermedades crónicas. Washington: 130ª Sesión del comité ejecutivo. Disponible en: https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/21463/ce130-12-s.pdf?sequence=1.

Ospina Meneses, S. M., & Cartagena Valenzuela, J. R. (2008). Modified atmosphere: an alternative for food preservation. *Revista Lasallista de Investigación*, 5(2), 112-123. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\_arttext&pid=S1794-44492008000200014.

Oviedo, V. R. S., Enciso-Garay, C. R., & Figueredo, E. I. G. (2020). Vernalizing pre-transplants improved the agronomic characteristics of strawberry genotypes under tropical conditions. *Revista Caatinga*, 33, 653-659. https://doi.org/10.1590/1983-21252020v33n308rc.

Pagani, M. J. (2011). Análisis de factibilidad de Exportación de Frutillas frescas de la región Centro Este de la provincia de Santa Fe hacia nuevos mercados internacionales. [Tesina de grado]. Universidad Abierta Interamericana. Disponible en: http://imgbiblio.vaneduc.edu.ar/fulltext/files/TC108167.pdf.

Palou, L. (2018). Postharvest treatments with GRAS salts to control fresh fruit decay. *Horticulturae*, 4(4), 46. https://doi.org/10.3390/horticulturae4040046.

Pan, L., Zhang, W., Zhu, N., Mao, S., & Tu, K. (2014). Early detection and classification of pathogenic fungal disease in post-harvest strawberry fruit by electronic nose and gas chromatography–mass spectrometry. *Food Research International*, 62, 162-168. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.02.020.

- Pande, D., Purohit, M., & Srivastava, P. S. (2002). Variation in xanthotoxin content in *Ammi majus* L. cultures during in vitro flowering and fruiting. *Plant Science*, 162(4), 583-587. https://doi.org/10.1016/S0168-9452(01)00597-0.
- Pandey, S. C., Pandey, A., Joshi, T., Pande, V., Sati, D., & Samant, M. (2019). Chapter 7: Microbiological monitoring in the biodegradation of food waste. En: Gunjal, A.P., Waghmode, M. S., Pathil., N. N., y Bhatt, P., *Global Initiatives for Waste Reduction and Cutting Food Loss* (pp. 116-140). IGI Global. https://doi.org/10.4018/978-1-5225-7706-5.ch007.
- Parajuli, R., Thoma, G., & Matlock, M. D. (2019). Environmental sustainability of fruit and vegetable production supply chains in the face of climate change: A review. *Science of the Total Environment*, 650, 2863-2879. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.10.019.
- Parveen, S., Wani, A. H., Bhat, M. Y., & Koka, J. A. (2016). Biological control of postharvest fungal rots of rosaceous fruits using microbial antagonists and plant extracts-a review. *Czech Mycology*, 68(1). Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/299338719.
- Passone, M. A., & Etcheverry, M. (2014). Antifungal impact of volatile fractions of *Peumus boldus* and *Lippia turbinata* on *Aspergillus* section Flavi and residual levels of these oils in irradiated peanut. *International Journal of Food Microbiology*, 168, 17-23. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.10.009.
- Pastrana, A. M., Watson, D. C., & Gordon, T. R. (2019). Transmission of *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* Through Stolons in Strawberry Plants. *Plant disease*, 103(6), 1249-1251. https://doi.org/10.1094/PDIS-08-18-1353-RE.
- Patial, P. K., Sharma, A., Kaur, I., & Cannoo, D. S. (2019). Correlation study among the extraction techniques, phytochemicals, and antioxidant activity of *Nepeta spicata* aerial part. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 20, 101275. https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101275.
- Patra, J. K., Das, G., Lee, S., Kang, S. S., & Shin, H. S. (2018). Selected commercial plants: A review of extraction and isolation of bioactive compounds and their pharmacological market value. *Trends in Food Science* & *Technology*, 82, 89-109. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.10.001.
- Pawar, B. T. (2011). Antifungal activity of some stem extracts against seed-borne pathogenic fungi. *Journal of Phytology*, 3(12): 49-51. Disponible en: https://updatepublishing.com/journal/index.php/jp/article/download/2744/2723.
- Peerzada, A. M., Ali, H. H., Naeem, M., Latif, M., Bukhari, A. H., & Tanveer, A. (2015). *Cyperus rotundus* L.: Traditional uses, phytochemistry, and pharmacological activities. *Journal of Ethnopharmacology*, 174, 540-560. https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.08.012.

Peixoto, L. R., Rosalen, P. L., Ferreira, G. L. S., Freires, I. A., de Carvalho, F. G., Castellano, L. R., & de Castro, R. D. (2017). Antifungal activity, mode of action and anti-biofilm effects of *Laurus nobilis* Linnaeus essential oil against *Candida* spp. *Archives of oral biology*, 73, 179-185. https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2016.10.013.

Penso, G. A., Citadin, I., Scariotto, S., Santos, C. E. M. D., Junior, A. W., Bruckner, C. H., & Rodrigo, J. (2020). Development of peach flower buds under low winter chilling conditions. *Agronomy*, 10(3), 428. https://doi.org/10.3390/agronomy10030428.

Pereira, F. D. O., Mendes, J. M., Lima, I. O., Mota, K. S. D. L., Oliveira, W. A. D., & Lima, E. D. O. (2015). Antifungal activity of geraniol and citronellol, two monoterpenes alcohols, against *Trichophyton rubrum* involves inhibition of ergosterol biosynthesis. *Pharmaceutical biology*, 53(2), 228-234. https://doi.org/10.3109/13880209.2014.913299.

Peres de Carvalho, M., Weich, H., & Abraham, W. R. (2016). Macrocyclic trichothecenes as antifungal and anticancer compounds. *Current Medicinal Chemistry*, 23(1), 23-35.

Pérez Trujillo, M. M. Respuesta ecofisiológica de la fresa cultivada en condiciones protegidas y en campo abierto [Doctoral dissertation]. Universidad Nacional de Colombia. https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/82177.

Perez, B., & Apóstolo, N. M. (2022). Morfoanatomía comparada del vástago adulto de *Conyza bonariensis* var. *bonariensis* y *C. bonariensis* var. *angustifolia* (Asteraceae). *Bonplandia*, 31(1), 27-46. https://doi.org/10.30972/bon.3115805.

Perkins-Veazie, P., Collins, J. K., Pair, S. D., & Roberts, W. (2001). Lycopene content differs among red-fleshed watermelon cultivars. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(10), 983-987. https://doi.org/10.1002/jsfa.880.

Pernuzzi, C., Sordo, M. H., Travadelo, M., Maina, M., & Acetta, P. (2017). Evaluación de la conveniencia de los macrotúneles en comparación con microtúneles para el cultivo de frutilla en Coronda. *FAVE*, *Sección Ciencias Agrarias*, 16(1), 163-175. https://doi.org/10.14409/fa.v16i1.6757.

Petenatti, E., Gette, M., Derita, M., Petenatti, M., Solís, C., Zuljan, F., & Zacchino, S. (2008). Importance of the ethnomedical information for the detection of antifungal properties in plant extracts from the Argentine flora. South American medicinal plants as potential source of bioactive compounds. *Transworld Research Network*, Kerala, 15-38.

Petit, A. N., Fontaine, F., Vatsa, P., Clément, C., & Vaillant-Gaveau, N. (2012). Fungicide impacts on photosynthesis in crop plants. *Photosynthesis Research*, 111(3), 315-326. https://doi.org/10.1007/s11120-012-9719-8.

Petriccione, M., Mastrobuoni, F., Pasquariello, M. S., Zampella, L., Nobis, E., Capriolo, G., & Scortichini, M. (2015). Effect of chitosan coating on the postharvest quality and antioxidant

enzyme system response of strawberry fruit during cold storage. *Foods*, 4(4), 501-523. https://doi.org/10.3390/foods4040501.

Pincot, D. D., Poorten, T. J., Hardigan, M. A., Harshman, J. M., Acharya, C. B., Cole, G. S., & Knapp, S. J. (2018). Genome-wide association mapping uncovers Fw1, a dominant gene conferring resistance to *Fusarium* wilt in strawberry. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 8(5), 1817-1828. https://doi.org/10.1534/g3.118.200129.

Poach, M. E., Hunt, P. G., Vanotti, M. B., Stone, K. C., Matheny, T. A., Johnson, M. H., & Sadler, E. J. (2003). Improved nitrogen treatment by constructed wetlands receiving partially nitrified liquid swine manure. *Ecological Engineering*, 20(2), 183-197. https://doi.org/10.1016/S0925-8574(03)00024-7.

Pochettino, M. L., Ladio, A. H., & Arenas, P. (2010). Tradiciones y transformaciones en etnobotánica. San Salvador de Jujuy, CYTED-RISAPRET.

Porat, R., Lichter, A., Terry, L.A., Harker, R., & Buzby, J. (2018). Postharvest losses of fruit and vegetables during retail and in consumers' homes: Quantifications, causes, and means of prevention. *Postharvest biology and technology*, 139, 135-149. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.11.019.

Prasad, C. S., Shukla, R., Kumar, A., & Dubey, N. K. (2010). *In vitro* and *in vivo* antifungal activity of essential oils of *Cymbopogon martini* and *Chenopodium ambrosioides* and their synergism against dermatophytes. *Mycoses*, 53(2), 123-129. https://doi.org/10.1111/j.1439-0507.2008.01676.x.

Pritts, M., & McDermott, L. (2017). *Protected culture for strawberries using low tunnels*. NY Farm Viability Institute, Syracuse. Disponible en: http://www.hort.cornell.edu/fruit/pdfs/low-tunnel-strawberries.pdf.

Priyadarshi, R., Routroy, S., & Garg, G. K. (2020). Postharvest supply chain losses: A state-of-the-art literature review and bibliometric analysis. *Journal of Advances in Management Research*, 18(3), 443-467. https://doi.org/10.1108/JAMR-03-2020-0040.

Prusky, D. (2011). Reduction of the incidence of postharvest quality losses, and future prospects. *Food Security*, 3(4), 463-474. https://doi.org/10.1007/s12571-011-0147-y.

Quinn, J. C., Kessell, A., & Weston, L. A. (2014). Secondary plant products causing photosensitization in grazing herbivores: Their structure, activity and regulation. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(1), 1441-1465. https://doi.org/10.3390/ijms15011441.

Quiroga, E. N., Sampietro, A. R., & Vattuone, M. A. (2001). Screening antifungal activities of selected medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 74(1), 89-96. https://doi.org/10.1016/S0378-8741(00)00350-0.

R Core Team. 2020. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL https://www.R-project.org/.

- Rabe, T., & Van Staden, J. (1998). Screening of *Plectranthus* species for antibacterial activity. *South African Journal of Botany*, 64(1), 62-65. https://doi.org/10.1016/S0254-6299(15)30834-6.
- Raja, H. A., Miller, A. N., Pearce, C. J., & Oberlies, N. H. (2017). Fungal identification using molecular tools: a primer for the natural products research community. *Journal of Natural Products*, 80(3), 756-770. https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.6b01085.
- Rajagopal, R., Kuppusamy, P., Sathya, R., Nandhakumari, P., Bensy, A. D., & Biji, G. D. (2022). Antifungal phytochemicals from the methanol and aqueous extract of *Acacia concinna* and *Lantana camara* and synergistic biological control of the Hibiscus mealybug (*Maconellicoccus hirsutus*). *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 119, 101813. https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2022.101813.
- Rajakaruna, N., Harris, C. S., & Towers, G. H. N. (2002). Antimicrobial activity of plants collected from serpentine outcrops in Sri Lanka. *Pharmaceutical Biology*, 40(3), 235-244. https://doi.org/10.1076/phbi.40.3.235.5825.
- Rana, V. S., Juyal, J. P., & Blazquez, M. A. (2002). Chemical constituents of essential oil of *Pelargonium graveolens* leaves. *International Journal of Aromatherapy*, 12(4), 216-218. https://doi.org/10.1016/S0962-4562(03)00003-1.
- Rao, G. P., Singh, M., Singh, P., Singh, S. P., Catalan, C., Kapoor, I. P. S., & Singh, G. (2000). Studies on chemical constituents and antifungal activity of leaf essential oil of *Lippia alba* (Mill). *Indian Journal of Chemical Technology*, 7, 332-335. Disponible en: http://nopr.niscpr.res.in/handle/123456789/22985.
- Raseira, M. D. C. B., Fortes, J. F., Pierobom, C. R., & Da Silva, J. B. (2005). Non-correlation of flower and fruit resistance to brown rot (*Monilinia fructicola* (Wint.) Honey) among 27 peach cultivars and selections. *Journal of the American Pomological Society*, 59(3), 148.
- Rasul, M. G. (2018). Conventional extraction methods use in medicinal plants, their advantages and disadvantages. *International Journal Basic Science Applied Computacional*, 2, 10-14. Disponible en: https://www.ijbsac.org/wp-content/uploads/papers/v2i6/F0082122618.pdf.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9-10), 1231-1237. https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3.
  - Red de Información Agropecuaria Nacional (RIAN). 2019. http://rian.inta.gov.ar/
- Retamar, J. (1988). Química y tecnología de los aromas naturales y sintéticos. *Anales de la Academia Nacional de Ciencias Exactas Físicas y Naturales*, 3, 55-69.
- Richards, J. K., Xiao, C. L., & Jurick, W. M. (2021). *Botrytis* spp.: a contemporary perspective and synthesis of recent scientific developments of a widespread genus that threatens

global food security. *Phytopathology*, 111(3), 432-436. https://doi.org/10.1094/PHYTO-10-20-0475-IA.

Rioba, N. B., Itulya, F. M., Saidi, M., Dudai, N., & Bernstein, N. (2015). Effects of nitrogen, phosphorus and irrigation frequency on essential oil content and composition of sage (*Salvia officinalis* L.). *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 2(1), 21-29. https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2015.01.003.

Rivera Núñez, D., de Castro, C. O., Ruiz, S. R., Fernández, C. S., Colmenero, F. M., López, A. V., & Trigueros, F. C. (1997). Las variedades tradicionales de frutales de la Cuenca del Río Segura. Catálogo Etnobotánico (1): Frutos secos, oleaginosos, frutales de hueso, almendros y frutales de pepita. Murcia: Servicio de Publicaciones, Universidad de Murcia. https://doi.org/10.15304/rr.id5340.

Rodríguez Tacón, Á. (2021). Ensayo en plantas y organismos fitopatógenos de complejos con potencial actividad fitosanitaria. [Tesina de Grado]. Universidade da Coruña. Facultade de Ciencias. España. http://hdl.handle.net/2183/29257.

Rodríguez, G., Pérez, D., & Paredes, V. (2010). Cultivo de frutilla: dinámica comercial de la Argentina y Tucumán (2005-2009) y gastos de producción estimados para Tucumán, Reporte Agroindustrial. Estadísticas y márgenes de cultivos tucumanos. Disponible en: https://www.eeaoc.gob.ar/wp-content/uploads/2018/10/RA48.pdf.

Rodríguez, G., Pérez, D., Paredes, V., & Lobo, R. (2019). Reporte Agroindustrial. Estadísticas y márgenes de cultivos tucumanos EEAOC. Nº 168. ISSN 2346-9102. Disponible en: https://www.eeaoc.gob.ar/wp-content/uploads/2020/01/RA168.pdf.

Roig, F. A. (2001). Flora medicinal mendocina: las plantas medicinales y aromáticas, de la provincia de Mendoza (Argentina): aborígenes, exóticas espontáneas o naturalizadas y cultivadas. En: Flora medicinal mendocina: las plantas medicinales y aromáticas, de la provincia de Mendoza (Argentina): aborígenes, exóticas espontáneas o naturalizadas y cultivadas (pp. 303-303). Mendoza; EDIUNC.

Rolnik, A., & Olas, B. (2021). The plants of the Asteraceae family as agents in the protection of human health. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(6), 3009. https://doi.org/10.3390/ijms22063009.

Romanazzi, G., & Feliziani, E. (2014). Chapter 4: *Botrytis cinerea* (gray mold). En: Bautista-Baños S. (ed.) *Postharvest decay* (pp. 131-146). Academic Press. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-411552-1.00004-1.

Romanazzi, G., Nigro, F., Ippolito, A., & Salerno, M. (2001). Effect of short hypobaric treatments on postharvest rots of sweet cherries, strawberries and table grapes. *Postharvest Biology and Technology*, 22(1), 1-6. https://doi.org/10.1016/S0925-5214(00)00188-5.

- Rondina, R. V., Bandoni, A. L., & Coussio, J. D. (2008). Especies medicinales argentinas con potencial actividad analgésica. *Dominguezia*, 24(1), 47-69. Disponible en: http://www.dominguezia.org/volumen/articulos/2414.pdf.
- Rosa, H. T., Streck, N. A., Walter, L. C., Andriolo, J. L., & Silva, M. R. D. (2013). Crescimento vegetativo e produtivo de duas cultivares de morango sob épocas de plantio em ambiente subtropical. *Revista Ciência Agronômica*, 44, 604-613. https://doi.org/10.1590/S1806-66902013000300024.
- Rosato, A., Vitali, C., Gallo, D., Balenzano, L., & Mallamaci, R. (2008). The inhibition of *Candida* species by selected essential oils and their synergism with amphotericin B. *Phytomedicine*, 15(8), 635-638. https://doi.org/10.1016/j.phymed.2008.05.001.
- Ross, S. A., El-Keltawi, N. E., & Megalla, S. E. (1980). Antimicrobial activity of some Egyptian aromatic plants. *Fitoterapia*, 51(4), 201-205.
- Ruffinengo, S., Eguaras, M., Floris, I., Faverin, C., Bailac, P., & Ponzi, M. (2005). LD<sub>50</sub> and repellent effects of essential oils from Argentinian wild plant species on *Varroa destructor*. *Journal of Economic Entomology*, 98(3), 651-655. https://doi.org/10.1603/0022-0493-98.3.651.
- Saad, D. S., Kinsey, G. C., Kim, S., & Gaylarde, C. C. (2004). Extraction of genomic DNA from filamentous fungi in biofilms on water-based paint coatings. *International biodeterioration y biodegradation*, 54(2-3), 99-103. https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2004.05.003.
- Saito, S., Michailides, T. J., & Xiao, C. L. (2016). Fungicide resistance profiling in *Botrytis cinerea* populations from blueberry in California and Washington and their impact on control of gray mold. *Plant disease*, 100(10), 2087-2093. https://doi.org/10.1094/PDIS-02-16-0229-RE.
- Sajeena, A., John, J., Sudha, B., Meera, A. V., & Karthika, S. R. (2019). Significance of botanicals for the management of plant diseases. En: Ansari, R. A., & Mahmood, I. (eds.), *Plant Health Under Biotic Stress* (pp. 231-243). Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-13-6043-5\_12.
- Sajjad, S., Aghajanshakeri, S., Anousheh, D., & Mikaili, P. (2015). Ethno-botanical, Bioactivities and Medicinal Mysteries of *Fumaria officinalis* (Common Fumitory). *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 5(11). Disponible en: http://lawarencepress.com/ojs/index.php/JPBMS/article/view/158/html\_65.
- Salem, E. A., Youssef, K., & Sanzani, S. M. (2016). Evaluation of alternative means to control postharvest *Rhizopus* rot of peaches. *Scientia Horticulturae*, 198, 86-90. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.11.013.

Sallato, B. V., Torres, R., Zoffoli, J. P., & Latorre, B. A. (2007). Effect of boscalid on postharvest decay of strawberry caused by *Botrytis cinerea* and *Rhizopus stolonifer*. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 5(1), 67-78. https://doi.org/10.5424/sjar/2007051-224.

Sameza, M. L., Tchameni, S. N., Ekouac J. D. A., Jazet, P. M. D., & Tchoumbougnang, F. (2016). Growth inhibition of the stored fish (*Ethmalosa fimbriata*) fungus *Aspergillus flavus*, exposed to extracted essential oils from *Callistemon citrinus* and *Ocimum canum*. *African Journal of Microbiology Research*, 10(30), 1164-1172. https://doi.org/10.5897/AJMR2016.8028.

Samtani, J. B., Rom, C. R., Friedrich, H., Fennimore, S. A., Finn, C. E., Petran, A., & Bergefurd, B. (2019). The status and future of the strawberry industry in the United States. *HortTechnology*, 29(1), 11-24. https://doi.org/10.21273/HORTTECH04135-18.

Sanabria-Galindo, A., Mendoza-Ruiz, A., & Moreno, A. L. (1998). Actividad antimicrobiana *in vitro* de angiospermas colombianas. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*, 27(1), 47-51. Disponible en: https://revistas.unal.edu.co/index.php/rccquifa/article/view/56444.

Sánchez-González, L., Vargas, M., González-Martínez, C., Chiralt, A., & Chafer, M. (2011). Use of essential oils in bioactive edible coatings: a review. *Food Engineering Reviews*, 3(1), 1-16. https://doi.org/10.1007/s12393-010-9031-3.

Santafesina, Cadena Frutihortícola. (2008). Una nueva visión para la producción y el desarrollo. Ministerio de la Producción. Gobierno de Santa Fe. Disponible en: https://www.santafe.gov.ar/index.php/web/content/download/66061/320661/file/descargar.pdf.

Santos, L., Alves, A., & Alves, R. (2017). Evaluating multi-locus phylogenies for species boundaries determination in the genus *Diaporthe*. *PeerJ*, 5, e3120. https://doi.org/10.7717/peerj.3120.

Santra, H. K., & Banerjee, D. (2020). Natural products as fungicide and their role in crop protection. En: Singh, J., & Yadav, A. N. (eds.), *Natural bioactive products in sustainable agriculture* (pp. 131-219). Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-15-3024-1\_9.

Sardari, S., Nishibe, S., & Daneshtalab, M. (2000). Coumarins, the bioactive structures with antifungal property. *Studies in Natural Products Chemistry*, 23, 335-393. https://doi.org/10.1016/S1572-5995(00)80133-7.

Sasidharan, S., Chen, Y., Saravanan, D., Sundram, K. M., & Latha, L. Y. (2011). Extraction, isolation and characterization of bioactive compounds from plants' extracts. *African journal of traditional, complementary and alternative medicines*, 8(1). https://doi.org/10.4314/ajtcam.v8i1.60483.

Satoh, M., Satoh, Y., Isobe, K., & Fujimoto, Y. (2003). Studies on the Constituents of *Leonurus sibiricus* L. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 51(3), 341-342. https://doi.org/10.1248/cpb.51.341.

- Saxena, S., & Gomber, C. (2006). Antimicrobial Potential of *Callistemon rigidus*. *Pharmaceutical Biology*, 44(3), 194-201. https://doi.org/10.1080/13880200600685899.
- Scarpa, G. F. (2004). Medicinal plants used by the Criollos of Northwestern Argentine Chaco. *Journal of Ethnopharmacology*, 91(1), 115-135. https://doi.org/10.1016/j.jep.2003.12.003.
- Schmit, J. P., & Mueller, G. M. (2007). An estimate of the lower limit of global fungal diversity. *Biodiversity and conservation*, 16(1), 99-111. https://doi.org/10.1007/s10531-006-9129-3.
- Schmitt, I., & Barker, F. K. (2009). Phylogenetic methods in natural product research. *Natural Product Reports*, 26(12), 1585-1602. https://doi.org/10.1039/B910458P.
- Schnabel, G., & Brannen, P. M. (2022). Biology, epidemiology, and management of diseases of peach driving the spray program in the southeastern United States. *Scientia Horticulturae*, 295, 110818. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110818.
- Seidel, V. (2012). Initial and bulk extraction of natural products isolation. En: Sarker, S., Nahar, L. (eds) Natural Products Isolation. Methods in Molecular Biology, vol 864. Humana Press. https://doi.org/10.1007/978-1-61779-624-1\_2.
- Seidl, R., Thom, D., Kautz, M., Martin-Benito, D., Peltoniemi, M., Vacchiano, G., & Reyer, C. P. (2017). Forest disturbances under climate change. *Nature climate change*, 7(6), 395-402. https://doi.org/10.1038/nclimate3303.
- Seigler, D. S. (2003). Phytochemistry of *Acacia-sensu lato*. *Biochemical systematics and ecology*, 31(8), 845-873. https://doi.org/10.1016/S0305-1978(03)00082-6.
- Seimandi, G., Butassi, E., Liberto, M. D., Cordisco, E., Blanc, A., Sortino, M., & Derita, M. (2022). Natural Antifungal Agents Isolated from Argentine Plants. A Summary of Studies Developed in the Period 2000–2020. En: Rai, M., & Kosalec, I (eds.) *Promising Antimicrobials from Natural Products* (pp. 281-320). Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-83504-0\_12.
- Senadeera, S. P. D. (2017). Investigation of Anti-infective Compounds within the Flowers of Myrtaceae [Doctoral dissertation, Griffith University], Australia. Disponible en: https://core.ac.uk/download/pdf/151740896.pdf.
- SENASA, Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria. (2020). Resolución 934-2010. Disponible en: http://www.senasa.gob.ar/normativas/resolucion-934-2010-senasa-servicio-nacional-de-sanidad-y-calidad-agroalimentaria base de datos Excel feb 2020.
- Sengul, M., Yildiz, H., Gungor, N., Cetin, B., Eser, Z., & Ercisli, S. (2009). Total phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities of some medicinal plants. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 22(1). Disponible en:

https://www.academia.edu/download/44807848/Total\_phenolic\_content\_antioxidant\_and\_a201 60416-12446-jgf8u4.pdf.

Shah, Z., Ilyasa, M., Khana, M., Ahmada, A., Khanb, M., & Khanc, N. (2012). Antimicrobial activities of selected medicinal plants collected from Northern districts of Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan. *Journal of Pharmacy Research*, 5(3), 1729-1733. Disponible en: https://www.academia.edu/download/46603971/Zahir\_Shah\_\_JPR\_12\_633.pdf.

Shankar, S., Prasad, S., Owaiz, M., Yadav, S., Manhas, S., & Yaqoob, M. (2021). Essential oils, components and their applications: A review. *Plant Archives*, 21, 2027-2033. https://doi.org/10.51470/PLANTARCHIVES.2021.v21.S1.331.

Sharifi-Rad, J., Salehi, B., Varoni, E. M., Sharopov, F., Yousaf, Z., Ayatollahi, S. A., & Iriti, M. (2017). Plants of the *Melaleuca* genus as antimicrobial agents: From farm to pharmacy. *Phytotherapy Research*, 31(10), 1475-1494. https://doi.org/10.1002/ptr.5880.

Sharma, R. K., Kotoky, R., & Bhattacharyya, P. R. (2006). Volatile oil from the leaves of *Callistemon lanceolatus* DC grown in north-eastern India. *Flavour and Fragrance Journal*, 21(2), 239-240. https://doi.org/10.1002/ffj.1564.

Sharma, R. R., & Pongener, A. (2010). Natural products for postharvest decay control in horticultural produce: a review. *Stewart Postharvest Review*, 6(4), 1-9. https://doi.org/10.2212/spr.2010.4.1.

Shehata, S. A., Abdeldaym, E. A., Ali, M. R., Mohamed, R. M., Bob, R. I., & Abdelgawad, K. F. (2020). Effect of some citrus essential oils on post-harvest shelf life and physicochemical quality of strawberries during cold storage. *Agronomy*, 10(10), 1466. https://doi.org/10.3390/agronomy10101466.

Shen, Y., Yang, H., Chen, J., Liu, D., & Ye, X. (2013). Effect of waxing and wrapping on phenolic content and antioxidant activity of citrus during storage. *Journal of Food Processing and Preservation*, 37(3), 222-231. https://doi.org/10.1111/j.1745-4549.2011.00639.x.

Shin, H. Y., Kim, S. H., Kang, S. M., Chang, I. J., Kim, S. Y., Jeon, H., & Shin, T. Y. (2009). Anti-inflammatory activity of Motherwort (*Leonurus sibiricus* L.). *Immunopharmacology and immunotoxicology*, 31(2), 209-213. https://doi.org/10.1080/08923970802135443.

Shukla, R., Kumar, A., Singh, P., & Dubey, N. K. (2009). Efficacy of *Lippia alba* (Mill.) NE Brown essential oil and its monoterpene aldehyde constituents against fungi isolated from some edible legume seeds and aflatoxin B1 production. *International Journal of Food Microbiology*, 135(2), 165-170. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.08.002.

Shukla, R., Singh, P., Prakash, B., & Dubey, N. K. (2012). Antifungal, aflatoxin inhibition and antioxidant activity of *Callistemon lanceolatus* (Sm.) Sweet essential oil and its major

component 1,8-cineole against fungal isolates from chickpea seeds. *Food Control*, 25(1), 27-33. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.10.010.

Shuping, D. S. S., & Eloff, J. N. (2017). The use of plants to protect plants and food against fungal pathogens: A review. *African Journal of Traditional*, *Complementary and Alternative Medicines*, 14(4), 120-127. https://doi.org/10.21010/ajtcam.v14i4.14.

Siddiqui, Y., & Ali, A. (2014). Chapter 11: *Colletotrichum gloeosporioides* (Anthracnose). En: Bautista-Baños, S. (ed.) *Postharvest Decay* (pp. 337-371). Academic Press. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-411552-1.00011-9.

Siegel, R. L., Miller, K. D., Fuchs, H. E., & Jemal, A. (2021). Cancer statistics, 2021. *Caa Cancer Journal for Clinicians*, 71(4), 359-359. https://doi.org/10.3322/caac.21708.

Silva, C. J., Barbosa, L. C., Demuner, A. J., Montanari, R. M., Pinheiro, A. L., Dias, I., & Andrade, N. J. (2010). Chemical composition and antibacterial activities from the essential oils of Myrtaceae species planted in Brazil. *Química Nova*, 33, 104-108. https://doi.org/10.1590/S0100-40422010000100019.

Silva, N. C. C., & Fernandes Júnior, A. J. J. O. V. A. (2010). Biological properties of medicinal plants: a review of their antimicrobial activity. *Journal of venomous animals and toxins including tropical diseases*, 16, 402-413. https://doi.org/10.1590/S1678-91992010000300006.

Simić, A., Soković, M. D., Ristić, M., Grujić-Jovanović, S., Vukojević, J., & Marin, P. D. (2004). The chemical composition of some Lauraceae essential oils and their antifungal activities. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 18(9), 713-717. https://doi.org/10.1002/ptr.1516.

Simpson, D. (2018). The economic importance of strawberry crops. En: Hytönen, T., Graham, J., & Harrison, R. (eds.) *The genomes of rosaceous berries and their wild relatives* (pp. 1-7). Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-76020-9 1.

Simpson, D. A., & Inglis, C. A. (2001). Cyperaceae of economic, ethnobotanical and horticultural importance: a checklist. *Kew Bulletin*, 56, 257-360. https://doi.org/10.2307/4110962.

Singh, A., Mauryab, S., Singhc, R., & Singh, U.P. (2011). Antifungal efficacy of some ethyl acetate extract fractions of *Cyperus rotundus* rhizomes against spore germination of some fungi. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 44(20), 2004-2011. https://doi.org/10.1080/03235408.2011.559040.

Singh, D., & Sharma, R. R. (2018). Postharvest diseases of fruits and vegetables and their management. En: Siddiqui, M. (ed.) *Postharvest Disinfection of Fruits and Vegetables* (pp. 1-52). Academic Press. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812698-1.00001-7.

- Singh, M., & Guleria, N. (2013). Influence of harvesting stage and inorganic and organic fertilizers on yield and oil composition of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) in a semi-arid tropical climate. *Industrial Crops and Products*, 42, 37-40. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.04.054.
- Singh, S., Dube, N. K., Tripathi, S. C., & Singh, S. K. (1984). Fungitoxicity of some essential oils against *Aspergillus flavus*. *Indian perfumer*, 28(3-4): 164-166.
- Singh, S., Singh, N., Kumar, V., Datta, S., Wani, A. B., Singh, D., & Singh, J. (2016). Toxicity, monitoring and biodegradation of the fungicide carbendazim. *Environmental Chemistry Letters*, 14(3), 317-329. https://doi.org/10.1007/s10311-016-0566-2.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in enzymology*, 299, 152-178. https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1.
- Siqueira, N. C. S., Silva, G. A. A. B., Alice, C. B., & Thiesen, F. V. (1987). Essential Oil of *Callistemon rigidus* R. Br. Fruit Grown in the Rio Grande do Sul. *Revista Brasileira Farmacologia*, 68(4), 78-81.
- Snowdon, A. L. (1990). A colour atlas of post-harvest diseases and disorders of fruits and vegetables. *Volume 1: General introduction and fruits*. Wolfe Scientific Ltd. CRC Press.
- Soquetta, M. B., Terra, L. D. M., & Bastos, C. P. (2018). Green technologies for the extraction of bioactive compounds in fruits and vegetables. *CyTA-Journal of Food*, 16(1), 400-412. https://doi.org/10.1080/19476337.2017.1411978.
- Soraru, S. B., & Bandoni, A. L. (1978). Plantas de la medicina popular argentina. *Guía ilustrada de las cincuenta plantas indígenas más empleadas* (Vol. 1). Editorial Albatros, Buenos Aires.
- Sordo, M. D. H., Travadelo, M., & Pernuzzi, C. (2017). Evolución del cultivo de frutilla en la provincia de Santa Fe (Argentina) en los últimos 50 años, Strawberry crop evolution in province of Santa Fe (Argentina) in the last 50 years. *Asociación Argentina de Horticultura*. Disponible en: http://www.horticulturaar.com.ar/es/publicacion/90/.
- Spadaro, D., Garibaldi, A., & Gullino, M. L. (2004). Control of *Penicillium expansum* and *Botrytis cinerea* on apple combining a biocontrol agent with hot water dipping and acibenzolar-S-methyl, baking soda, or ethanol application. *Postharvest Biology and Technology*, 33(2), 141-151. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2004.02.002.
- Sparks, T. C., & Bryant, R. J. (2022). Impact of natural products on discovery of, and innovation in, crop protection compounds. *Pest Management Science*, 78(2), 399-408. https://doi.org/10.1002/ps.6653.
- Spychalski, M., Kukawka, R., Krzesiński, W., Spiżewski, T., Michalecka, M., Poniatowska, A., & Smiglak, M. (2021). Use of New BTH Derivative as Supplement or Substitute

of Standard Fungicidal Program in Strawberry Cultivation. *Agronomy*, 11(6), 1031. https://doi.org/10.3390/agronomy11061031.

Staats, M., Van Baarlen, P., & Van Kan, J. A. (2005). Molecular phylogeny of the plant pathogenic genus *Botrytis* and the evolution of host specificity. *Molecular biology and Evolution*, 22(2), 333-346. https://doi.org/10.1093/molbev/msi020.

Stanojević, L., Zvezdanović, J., Danilović, B., Cvetković, D., Stanojević, J., Ilić, D., & Cakić, M. (2018). The antioxidative and antimicrobial activity of the aqueous earth smoke (*Fumaria officinalis* L.): Extract. *Advanced technologies*, 7(2), 31-40. https://doi.org/10.5937/SavTeh1802031S.

Stegmayer, M. I., Álvarez, N. H., Sager, N. G., Buyatti, M. A., & Derita, M. G. (2022a). Evaluation of *Pelargonium graveolens* essential oil to prevent gray mold in rose flowers. *Journal of Plant Protection Research*, 62(2), 2. https://doi.org/10.24425/jppr.2022.141353.

Stegmayer, M. I., Fernández, L. N., Álvarez, N. H., Seimandi, G. M., Reutemann, A. G., & Derita, M. G. (2022b). *In Vitro* Antifungal Screening of Argentine Native or Naturalized Plants against the Phytopathogen *Monilinia fructicola*. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, 25(7), 1158-1166. https://doi.org/10.2174/1386207324666210121113648.

Stegmayer, M. I., Fernández, N. L., Alvarez, N., Olivella, L., Gutiérrez, H. F., Favaro, M. A., & Derita, M. G. (2021). Aceites esenciales provenientes de plantas nativas para el control de hongos fitopatógenos que afectan a frutales. *FAVE*: *Sección Ciencias Agrarias*, 20(1), 317-329. https://doi.org/10.14409/fa.v20i1.10273.

Stępień, Ł., Lalak-Kańczugowska, J., Witaszak, N., & Urbaniak, M. (2020). *Fusarium* secondary metabolism biosynthetic pathways: so close but so far away. *Co-Evolution of Secondary Metabolites*, 211-247. https://doi.org/10.1007/978-3-319-96397-6\_28.

Subsecretaria de programación Microeconomica. (2019). Informe de cadena de valor Fruta de Carozo secretaria de Política Económica. Ministerio de Hacienda, Presidencia de la Nación.

Disponible en:

https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/sspmicro\_cadenas\_de\_valor\_fruta\_de\_carozo\_0.

pdf.

Sudhakar, T., Dash, S. K., Rao, R. R., Srinivasan, R., Zacharia, S., Atmanand, M., & Nayak, S. (2013). Do endophytic fungi possess pathway genes for plant secondary metabolites *Current Science*, 104(2), 178. Disponible en: http://www.rkmvc.ac.in/vins/articles/2-2013-%20Current%20Science%20-endophytic%20fungi%20pathway%20genes.pdf.

Sudheeran, P. K., Ovadia, R., Galsarker, O., Maoz, I., Sela, N., Maurer, D., & Alkan, N. (2020). Glycosylated flavonoids: fruit's concealed antifungal arsenal. *New Phytologist*, 225(4), 1788-1798. https://doi.org/10.1111/nph.16251.

- Summerell, B. A., & Leslie, J. F. (2011). Fifty years of Fusarium: how could nine species have ever been enough? *Fungal Diversity*, 50(1), 135-144. https://doi.org/10.1007/s13225-011-0132-y.
- Talalaj, S., & African, W. (1965). Essential oil of some *Callistemon* species grown in Ghana. *West African Pharmacist Tj*, 24-25.
- Tedersoo, L., Drenkhan, R., Anslan, S., Morales-Rodriguez, C., & Cleary, M. (2019). High-throughput identification and diagnostics of pathogens and pests: overview and practical recommendations. *Molecular Ecology Resources*, 19(1), 47-76. https://doi.org/10.1111/1755-0998.12959.
- Tempone, A. G., Sartorelli, P., Teixeira, D., Prado, F. O., Calixto, I. A., Lorenzi, H., & Melhem, M. S. (2008). Brazilian flora extracts as source of novel antileishmanial and antifungal compounds. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 103(5), 443-449. https://doi.org/10.1590/S0074-02762008000500006.
- Terblanché, F. C., & Kornelius, G. (1996). Essential oil constituents of the genus *Lippia* (Verbenaceae)-a literature review. *Journal of Essential Oil Research*, 8(5), 471-485. https://doi.org/10.1080/10412905.1996.9700673.
- Thabit, R. A., Cheng, X. R., Al-Hajj, N., Rahman, M. R. T., & Lei, G. (2014). Antioxidant and *Conyza bonariensis*: a review. *European Academic Research*, 2, 8454-8474. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/269098692.
- Than, P. P., Prihastuti, H., Phoulivong, S., Taylor, P. W., & Hyde, K. D. (2008). Chilli anthracnose disease caused by *Colletotrichum* species. *Journal of Zhejiang University Science B*, 9(10), 764-778. https://doi.org/10.1631/jzus.B0860007.
- Thomidis, T., & Michailides, T. J. (2010). Development and implementation of cost-effective strategies to manage brown rot of peach trees in Imathia, Greece. *European Journal of Plant Pathology*, 126(4), 575-582. https://doi.org/10.1007/s10658-009-9565-5.
- Thrane, U. (2014). *Fusarium*. En: Batt, C. & Tortorello, M. L. (eds.) *Encyclopedia of Food microbiology* (pp. 76-81). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00141-5.
- Thullen, J. S., Nelson, S. M., Cade, B. S., & Sartoris, J. J. (2008). Macrophyte decomposition in a surface-flow ammonia-dominated constructed wetland: rates associated with environmental and biotic variables. *Ecological Engineering*, 32(3), 281-290. https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2007.12.003.
- Toribio, M. S., Oriani, S. D., Toso, R. E., Tortone, C. A., & Fernández, J. G. (2007). Suceptibilidad de *Staphylococcus aureus* a extractos vegetales obtenidos de plantas nativas y naturalizadas de la provincia de La Pampa, Argentina. *Boletín Latinoamericano y del caribe de Plantas Medicinales y aromáticas*, 6(6), 367-368. Disponible en: https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85617472027.

Torres, A., Ricciardi, G., Agrelo de Nasiff, A., & Riciardi, A. (2008). Aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* (paico macho). Facultad de Cs. Exactas y Naturales y Agrimensura, UNNE.

Disponible en: https://www.academia.edu/36917716/Aceite\_esencial\_de\_Chenopodium\_ambrosioides\_L.\_paic o\_macho.

Triana, J., Bahsas, A., Delgado, P., Jaimes, R., & Trejo, C. O. (1995). Ent-Norlabdanes and other constituents of four Venezuelan species previously classified in the genus *Eupatorium. Journal of Natural Products*, 58(5), 744-747. Disponible en: https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/np50119a014.

Tripathi, P., & Dubey, N. K. (2004). Exploitation of natural products as an alternative strategy to control postharvest fungal rotting of fruit and vegetables. *Postharvest biology and Technology*, 32(3), 235-245. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2003.11.005.

Trytek, M. & Fiedurek, J. (2002). Biotransformation of d-limonene to carvone by means of glucose oxidase and peroxidase. *Acta Microbiologica Polonica*, 51(1), 57-62. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/11203916.

Tuomisto, H. L., Scheelbeek, P. F., Chalabi, Z., Green, R., Smith, R. D., Haines, A., & Dangour, A. D. (2017). Effects of environmental change on agriculture, nutrition and health: A framework with a focus on fruits and vegetables. *Wellcome Open Research*, 2. https://doi.org/10.12688/wellcomeopenres.11190.2.

Turcios, A. E., Miglio, R., Vela, R., Sánchez, G., Bergier, T., Włodyka-Bergier, A., & Papenbrock, J. (2021). From natural habitats to successful application-Role of halophytes in the treatment of saline wastewater in constructed wetlands with a focus on Latin America. *Environmental and Experimental Botany*, 190, 104583. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2021.104583.

Tursun, A. O. (2022). Impact of Soil Types on Chemical Composition of Essential Oil of Purple Basil. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 103314. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2022.103314.

UN COMTRADE. (2019). Base de datos de comercio internacional de las Naciones Unidas. Disponible en: https://comtrade.un.org/data Acceso: 18/05/2019.

USDA, Agricultural Research Service, National Plant Germplasm System. (2019). Germplasm Resources Information Network (GRIN-Taxonomy).

Vallesi, A., Pucciarelli, S., Buonanno, F., Fontana, A., & Mangiagalli, M. (2020). Bioactive molecules from protists: Perspectives in biotechnology. *European Journal of Protistology*, 75, 125720. https://doi.org/10.1016/j.ejop.2020.125720.

Valsalam, S., Agastian, P., Arasu, M. V., Al-Dhabi, N. A., Ghilan, A. K. M., Kaviyarasu, K., & Arokiyaraj, S. (2019). Rapid biosynthesis and characterization of silver nanoparticles from

the leaf extract of *Tropaeolum majus* L. and its enhanced *in vitro* antibacterial, antifungal, antioxidant and anticancer properties. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 191, 65-74. https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.12.010.

Vela-Corcía, D., Romero, D., de Vicente, A., & Pérez-García, A. (2018). Analysis of β-tubulin-carbendazim interaction reveals that binding site for MBC fungicides does not include residues involved in fungicide resistance. *Scientific Reports*, 8(1), 1-12. https://doi.org/10.1038/s41598-018-25336-5.

Vinholes, J., Gelain, D.P., & Vizzotto, M. (2016). Stone fruits as a source of bioactive compounds. En: Silva, LR, Silva B, (eds.) *Natural Bioactive Compounds from Fruits and Vegetables*. Bentham Science Publishers, Sharjah, UAE. Disponible en: https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/1067684/1/MarciaVizzottochapterjuliana.pdf

Viteri, M. L., & Belé, G. (2013). Conducta, dinámica y patrones tecnológicos de la cadena de frutas finas. Proyecto MINCyT-BIRF: Estudios del sector Agroindustria. Servicio de Consultoría Préstamos BIRF N 7599/AR - Licitación N\* 02/09. Serie documentos de trabajo N° 10. Disponible en: https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta\_viteri\_benes\_mincyt-10-frfinas.pdf.

Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernández-López, J., & Pérez-Álvarez, J. (2008). Antifungal activity of lemon (*Citrus lemon* L.), mandarin (*Citrus reticulata* L.), grapefruit (*Citrus paradisi* L.) and orange (*Citrus sinensis* L.) essential oils. *Food Control*, 19(12), 1130-1138. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2007.12.003.

Viuda-Martos, M., Ruíz-Navajas, Y., Fernández-López, J., & Pérez-Álvarez, J. A. (2007). Chemical composition of the essential oils obtained from some spices widely used in Mediterranean region. *Acta Chimica Slovenica*, 54(4), 921. https://citeseerx.ist.psu.edu/document?repid=rep1&type=pdf&doi=f33f4573e4ca0d9093935cf0 0d1f9042c99cd4f8.

Vryzas, Z., Ramwell, C., & Sans, C. (2020). Pesticide prioritization approaches and limitations in environmental monitoring studies: from Europe to Latin America and the Caribbean. *Environment*International, 143, 105917. https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.105917.

Vu, D., Groenewald, M., Szöke, S., Cardinali, G., Eberhardt, U., Stielow, B., & Robert, V. (2016). DNA barcoding analysis of more than 9000 yeast isolates contributes to quantitative thresholds for yeast species and genera delimitation. *Studies in Mycology*, 85(1), 91-105. https://doi.org/10.1016/j.simyco.2016.11.007.

Vuolo, M. M., Lima, V. S., & Junior, M. R. M. (2019). Phenolic compounds: Structure, classification, and antioxidant power. En: *Bioactive compounds* (pp. 33-50). Woodhead Publishing. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814774-0.00002-5.

- Wakeel, A., Jan, S. A., Ullah, I., Shinwari, Z. K., & Xu, M. (2019). Solvent polarity mediates phytochemical yield and antioxidant capacity of Isatis tinctoria. *PeerJ*, 7, e7857. https://doi.org/10.7717/peerj.7857.
- Wagner, H., Bauer, R., Melchart, D., Xiao, P. G., & Staudinger, A. (2011). *Chromatographic fingerprint analysis of herbal medicines*. Berlin, Germany: Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-642-00574-9.
- Wang, S. Y., & Gao, H. (2013). Effect of chitosan-based edible coating on antioxidants, antioxidant enzyme system, and postharvest fruit quality of strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch.). *LWT-Food Science and Technology*, 52(2), 71-79. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.05.003.
- Wang, W., Jin, J., Xu, H., Shi, Y., Boersch, M., & Yin, Y. (2022). Comparative analysis of the main medicinal substances and applications of *Echium vulgare* L. and *Echium plantagineum* L.: A review. *Journal of Ethnopharmacology*, 285, 114894. https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114894.
- Weber, R. W. (2020). Zehn Jahre Fungizidresistenztests bei *Botrytis* im norddeutschen Erdbeeranbau. *Erwerbs-Obstbau*, 62, 155-161. https://doi.org/10.1007/s10341-020-00484-z.
- Wechsler, A., Molina, J., Cayumil, R., Decap, M. N., & Ballerini-Arroyo, A. (2019). Some properties of composite panels manufactured from peach (*Prunus persica*) pits and polypropylene. *Composites Part B: Engineering*, 175, 107152. https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2019.107152.
- Wei, Y., Shao, X., Wei, Y., Xu, F., & Wang, H. (2018). Effect of preharvest application of tea tree oil on strawberry fruit quality parameters and possible disease resistance mechanisms. *Scientia Horticulturae*, 241, 18-28. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.06.077.
- Wellsow, J., Grayer, R. J., Veitch, N. C., Kokubun, T., Lelli, R., Kite, G. C., & Simmonds, M. S. (2006). Insect-antifeedant and antibacterial activity of diterpenoids from species of *Plectranthus*. *Phytochemistry*, 67(16), 1818-1825. https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2006.02.018.
- Weston, P. A., Weston, L. A., & Hildebrand, S. (2013). Metabolic profiling in *Echium plantagineum*: presence of bioactive pyrrolizidine alkaloids and napthoquinones from accessions across southeastern Australia. *Phytochemistry Reviews*, 12(4), 831-837. https://doi.org/10.1007/s11101-013-9306-4.
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S. J. W. T., & Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR protocols: a guide to methods and applications*, 18(1), 315-322.
- Wisniewski, M., Droby, S., Norelli, J., Liu, J., & Schena, L. (2016). Alternative management technologies for postharvest disease control: The journey from simplicity to

complexity. *Postharvest Biology and Technology*, 122, 3-10. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2016.05.012.

World Cancer Research Fund & American Institute for Cancer Research. (2007). Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: a global perspective. Washington DC: AICR. Disponible en: https://discovery.ucl.ac.uk/id/eprint/4841/1/4841.pdf.

Wu, F., Guan, Z., & Whidden, A. (2012). Strawberry industry overview and outlook. University of Florida, 67, 56-85. Disponible en: https://fred.ifas.ufl.edu/pdf/webinar/strawberry.pdf.

Xu, Y., Wei, J., Wei, Y., Han, P., Dai, K., Zou, X., & Shao, X. (2021). Tea tree oil controls brown rot in peaches by damaging the cell membrane of *Monilinia fructicola*. *Postharvest Biology and Technology*, 175, 111474. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2021.111474.

Yahya, A., Muhd, A. A. G., Kamaruzaman, S., & Rosli, B. M. (2011). Effect of calcium chloride on anthracnose disease and postharvest quality of red-flesh dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*). *African Journal of Microbiology Research*, 5(29), 5250-5259. https://doi.org/10.5897/AJMR10.541.

Yan, J., Wu, H., Shi, F., Wang, H., Chen, K., Feng, J., & Jia, W. (2021). Antifungal activity screening for mint and thyme essential oils against *Rhizopus stolonifer* and their application in postharvest preservation of strawberry and peach fruits. *Journal of Applied Microbiology*, 130(6), 1993-2007. https://doi.org/10.1111/jam.14932.

Yang, C., Chen, T., Shen, B., Sun, S., Song, H., Chen, D., & Xi, W. (2019). Citric acid treatment reduces decay and maintains the postharvest quality of peach (*Prunus persica L.*) fruit. *Food Science & Nutrition*, 7(11), 3635-3643. https://doi.org/10.1002/fsn3.1219.

Yazdani, E., Sendi, J. J., & Hajizadeh, J. (2014). Effect of *Thymus vulgaris* L. and *Origanum vulgare* L. essential oils on toxicity, food consumption, and biochemical properties of lesser mulberry pyralid *Glyphodes pyloalis* Walker (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Plant Protection Research*, 54(1). https://doi.org/10.2478/jppr-2014-0008.

Yin, W. X., Adnan, M., Shang, Y., Lin, Y., & Luo, C. X. (2018). Sensitivity of *Botrytis cinerea* from nectarine/cherry in China to six fungicides and characterization of resistant isolates. *Plant Disease*, 102(12), 2578-2585. https://doi.org/10.1094/PDIS-02-18-0244-RE.

Young, D. H. (2015). Anti-tubulin Agents. En: Ishii, H., & Hollomon, D. (eds.) *Fungicide Resistance in Plant Pathogens*. Springer, Tokyo. https://doi.org/10.1007/978-4-431-55642-8\_7.

Yu, D., Wang, J., Shao, X., Xu, F., & Wang, H. (2015). Antifungal modes of action of tea tree oil and its two characteristic components against *Botrytis cinerea*. *Journal of applied microbiology*, 119(5), 1253-1262. https://doi.org/10.1111/jam.12939.

Yuasa, Y., & Yuasa, Y. (2006). A practical synthesis of d-α-Terpineol via markovnikov addition of d-Limonene using trifluoroacetic acid. *Organic process research* & *development*, 10(6), 1231-1232. https://doi.org/10.1021/op068012d.

Zabka, M., Pavela, R., & Gabrielova-Slezakova, L. (2011). Promising antifungal effect of some Euro-Asiatic plants against dangerous pathogenic and toxinogenic fungi. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(3), 492-497. https://doi.org/10.1002/jsfa.4211.

Zacchino, S., Derita, M. G., & Svetaz, M. J. (2012). Discovery of antifungal plants in Argentinean San Luis Province: ethnomedical information or random selection? *Revista Eletrônica de Farmácia*, 9(1), 22-22. https://doi.org/10.5216/ref.v9i1.17775.

Zana, J. (2015). Jornada: El "Cinturón Hortícola Santafesino": aportes para la comprensión de la situación actual del sector. XIX Encuentro de Jóvenes Investigadores, Universidad Nacional del Litoral. ISSN: 2469-1526 Disponible en: https://bibliotecavirtual.unl.edu.ar:8443/bitstream/handle/11185/1416/6.7.5.pdf.

Zanetti, G. D., Manfron, M. P., Da, S. M., Hoelzel, S. C., Pagliarin, V. P., & Morel, A. F. (2003). Toxicidade aguda e atividade antibacteriana dos extratos de *Tropaeolum majus* L. *Acta Farmaceutica*Bonaerense, 22(2), 159-162. http://www.latamjpharm.org/trabajos/22/2/LAJOP\_22\_2\_1\_10\_QYO1970ZXK.pdf.

Zardini, E. M. (1984). Etnobotánica de Compuestas Argentinas con especial referencia a su uso farmacológico. *Acta Farmaceutica Bonaerense*, 3(1), 77-99. Disponible en: http://www.latamjpharm.org/trabajos/3/2/LAJOP\_3\_2\_3\_1\_193UG0M914.pdf.

Zavrel, M., & White, T. C. (2015). Medically important fungi respond to azole drugs: an update. *Future Microbiology*, 10(8), 1355-1373. https://doi.org/10.2217/FMB.15.47.

Zaynab, M., Fatima, M., Abbas, S., Sharif, Y., Umair, M., Zafar, M. H., & Bahadar, K. (2018). Role of secondary metabolites in plant defense against pathogens. *Microbial Pathogenesis*, 124, 198-202. https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.08.034.

Zdero, C., Ahmed, A. A., Bohlmann, F., & Mungai, G. M. (1990). Diterpenes and sesquiterpene xylosides from east African *Conyza* species. *Phytochemistry*, 29(10), 3167-3172. https://doi.org/10.1016/0031-9422(90)80180-O.

Zeist, A. R., & de Resende, J. T. V. (2019). Strawberry breeding in Brazil: current momentum and perspectives. *Horticultura Brasileira*, 37, 7-16. https://doi.org/10.1590/S0102-053620190101.

Zeliou, K., Papasotiropoulos, V., Manoussopoulos, Y., & Lamari, F. N. (2018). Physical and chemical quality characteristics and antioxidant properties of strawberry cultivars (*Fragaria*× ananassa Duch.) in Greece: Assessment of their sensory impact. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(11), 4065-4073. https://doi.org/10.1002/jsfa.8923.

Zeng, X., Xi, Y., & Jiang, W. (2019). Protective roles of flavonoids and flavonoid-rich plant extracts against urolithiasis: a review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 59(13), 2125-2135. https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1439880.

Zhang, Q. W., Lin, L. G., & Ye, W. C. (2018). Techniques for extraction and isolation of natural products: A comprehensive review. *Chinese Medicine*, 13(1), 1-26. https://doi.org/10.1186/s13020-018-0177-x.

Zhao, X., Zhang, W., Yin, X., Su, M., Sun, C., Li, X., & Chen, K. (2015). Phenolic composition and antioxidant properties of different peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] cultivars in China. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(3), 5762-5778. https://doi.org/10.3390/ijms16035762.

Zhou, F., Hu, H. Y., Song, Y. L., Gao, Y. Q., Liu, Q. L., Song, P. W., & Li, C. W. (2020). Biological characteristics and molecular mechanism of fludioxonil resistance in *Botrytis cinerea* from Henan Province of China. *Plant Disease*, 104(4), 1041-1047. https://doi.org/10.1094/PDIS-08-19-1722-RE.

Zhou, F., & Pichersky, E. (2020). More is better: the diversity of terpene metabolism in plants. *Current Opinion in Plant Biology*, 55, 1-10. https://doi.org/10.1016/j.pbi.2020.01.005.

Zushi, K., Yamamoto, M., Matsuura, M., Tsutsuki, K., Yonehana, A., Imamura, R., & Kirimura, M. (2023). Tissue-dependent seasonal variation and predictive models of strawberry firmness. *Scientia Horticulturae*, 307, 111535. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2022.111535.