

EFFECTO ANTIFÚNGICO DE EXTRACTO DE EPAZOTE (*Chenopodium ambrosioides*) SOBRE HONGOS POSTCOSECHA

Cabrera Calderón S., Rivera Rebollar R., Lira Vargas A., Trejo Márquez M.*, Pascual Bustamante S.

Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Laboratorio de Postcosecha de Productos Vegetales, Centro de Asimilación Tecnológica, Jiménez Cantú s/n, San Juan Atlamica, C.P. 54729, Cuautitlán Izcalli, Edo. De México, México. *Correo electrónico: andreatrejo@unam.mx

RESUMEN:

Las plantas nativas de México contienen compuestos bioactivos que ancestralmente se han utilizado por sus propiedades medicinales; en la actualidad, se ha comprobado que estas plantas poseen propiedades antifúngicas que pueden ser empleadas en el control de agentes postcosecha que afectan a cultivos de interés económico. En este trabajo se evaluó el efecto de extractos etanólicos de hojas secas de epazote (*Chenopodium ambrosioides*) en estado maduro e inmaduro sobre la inhibición del crecimiento micelial *in vitro* de *Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata*, y *Botrytis cinerea* por el método de difusión en agar. Las concentraciones de extracto evaluadas fueron 1000, 2000 y 3000 ppm cuantificadas por el contenido de fenoles con el método de Folin-Cicocalteu. Como resultado se obtuvo que el extracto de epazote maduro en 2000 y 3000 ppm presentó 100% de inhibición micelial de los hongos en estudio, así como la concentración de 3000 ppm de extracto de epazote inmaduro.

ABSTRACT:

Mexico native plants containing bioactive compounds have been used since ancient times for its medicinal properties and nowadays, it has been found that these plants have antifungal properties that can be used in the control of postharvest agents affecting crops of economic interest as papaya, tomato and chile. In this work, the effect of ethanol extracts of dried epazote (*Chenopodium ambrosioides*) leaves in mature and immature state on the *in vitro* inhibition of mycelial growth of *Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata* and *Botrytis cinerea* was evaluated by agar diffusion method. The tested extract concentrations were 1000, 2000 and 3000 ppm quantified by phenol content with Folin-Cicocalteu method. The mature epazote extract at 2000 and 3000 ppm showed 100% inhibition of mycelial growth of these fungi, as well as 3000 ppm of immature epazote extract.

Palabras clave:

Chenopodium ambrosioides, *C. gloeosporioides*, *F. oxysporum*, *A. alternata*, *B. cinerea*.

Keyword:

Chenopodium ambrosioides, *C. gloeosporioides*, *F. oxysporum*, *A. alternata*, *B. cinerea*.

Área: Microbiología y biotecnología

INTRODUCCIÓN

Las plantas generan compuestos para defenderse de patógenos de diversa naturaleza que pueden causarles enfermedad, e incluso la muerte. El estudio de dichos compuestos ha contribuido en el desarrollo de nuevas estrategias que permitan controlar a los patógenos vegetales, que causan un impacto negativo en postcosecha. Algunas plantas que se han estudiado son: orégano, sangre de drago, hoja sen, canela, damiana, eucalipto y epazote (Sánchez-Soto, 2013; Cáceres-Rueda de León *et al.*, 2013; Vásquez-Covarrubias *et al.*, 2013).

El epazote (*Chenopodium ambrosioides*) destaca por ser una planta originaria de México que se utiliza como condimento o para tratar diversos dolores estomacales y parásitos intestinales, lo que hace que a lo largo de la historia ha tenido una gran importancia antropogénica. La importancia económica que se le da al epazote en México, es muy poca, ya que no necesita de cuidados para su cultivo y en ocasiones resulta ser una plaga para los cultivos de frutas y hortalizas. Además al ser una planta de bajo costo, resulta atractiva para fomentar un aprovechamiento sustentable aplicado en el control de hongos que ocasionan pérdidas postcosecha en el sector hortofrutícola. En estudios previos, se ha comprobado que el aceite esencial posee actividad antifúngica contra *Fusarium oxysporum*, esto debido a la presencia de compuestos bioactivos como el ascaridol (Jaramillo *et al.*, 2012).

Por lo anterior, el presente trabajo tiene el objetivo de evaluar el efecto antifúngico de extracto de epazote sobre algunos patógenos postcosecha (*C. gloeosporioides*, *F. oxysporum*, *A. alternata*, y *B. cinerea*) *in vitro*, para considerar su potencial aplicación en la reducción de las pérdidas postcosecha ocasionadas por estos agentes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de los extractos.

El epazote se adquirió en el mercado del Carmen de Cuautitlán Izcalli, estado de México. El estado fisiológico de la planta se estableció a partir del tamaño de las hojas secas de epazote en: inmaduras (≤ 10 cm de largo) y maduras (> 10 cm de largo). La obtención de los extractos se llevó a cabo por el método de extracción asistida por ultrasonido con una relación 1:5 con etanol al 70% como solvente por un tiempo de 30 min. El contenido de fenoles se determinó por el método de Folin-Cicalteu (Martínez-Cruz *et al.*, 2011).

Pruebas *in vitro* de capacidad antifúngica.

Las pruebas *in vitro* se realizaron con cuatro hongos (*Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*) purificados e identificados previamente. Las pruebas *in vitro* se realizaron con tres concentraciones de extracto (1000, 2000 y 3000 ppm), empleando el método de difusión en agar (Molina *et al.*, 2004).

Tratamiento estadístico.

Se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) y comparación de rango múltiple (Tukey) aplicando un nivel de significancia del 5%. El paquete estadístico utilizado fue el programa SPSS® versión 1.5.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Capacidad antifúngica *in vitro*.

Las pruebas *in vitro* mostraron un efecto del estado de madurez de la planta y la concentración del extracto sobre la inhibición del crecimiento de los cuatro diferentes hongos. En el tiempo de incubación máximo de 10 días, correspondiente a la tasa de crecimiento de la mayoría de los hongos, los extractos de epazote maduro presentaron 8.89% mayor inhibición en el crecimiento micelial que los extractos de epazote inmaduro.

Por otro lado, en lo que se refiere a la concentración de los extractos en partes por millón, se obtuvo 7.22% menor porcentaje de inhibición para 2000 ppm y 43.9% menor inhibición para 1000 ppm en comparación con la máxima inhibición de 3000 ppm de extracto en ambos estados de madurez del epazote. Finalmente, también se observó un efecto provocado por la especie de hongo utilizado, ya que los extractos estudiados presentaron en promedio 72.5% de inhibición en *F. oxysporum*, 79% para *C. gloeosporioides*, 85.14% en *A. alternata* y 95.19% en *B. cinerea* en un periodo de incubación de 10 días (Figura 1 y 2).

El análisis estadístico mostró que a partir del día 8 se presentó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre las concentraciones de 1000 ppm de extracto de epazote en sus dos estados de madurez y de 2000 ppm de extracto de epazote inmaduro con respecto a las demás concentraciones, para los hongos *F. oxysporum* y *C. gloeosporioides*. En las pruebas *in vitro* de *A. alternata* y *B. cinerea*, a partir del día 6 y 7 respectivamente, la concentración de 1000 ppm de extracto de epazote inmaduro presentó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con respecto a la concentración de 1000 ppm de extracto de epazote maduro y a las otras concentraciones evaluadas, para el porcentaje de inhibición.

Los resultados obtenidos concuerdan con los estudios realizados por Vásquez-Covarrubias *et al.* (2013) que reportan la inhibición el crecimiento micelial de *F. oxysporum* con extractos acuosos de epazote común en un 23% a concentración de 15% p/v, así como con la investigación de Jaramillo *et al.* (2012) donde se inhibió el crecimiento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *dianthi* en 97.3 % en dosis de 117.7 μL AE/L aire, a 72 h; en ambos trabajos se presenta la notoria reducción micelial del moho en estudio. Lo anterior se debe a los compuestos bioactivos presentes en los extractos, los cuales son residuos del aceite esencial del epazote, que incluyen compuestos fenólicos tales como ascaridol, α -terpineno, o-cimeno, caroteno, timol y trans-fitol (Jaramillo *et al.*, 2012).

Estudios realizados por Aguilar-Alonso *et al.* (2013) demostraron que a 150 ppm de extracto etanólico de ruda había inhibición de *C. gloeosporioides*, tal y como se presentó en este trabajo. Estos estudios demuestran que los extractos derivados de plantas tienen un efecto antifúngico debido a la presencia de compuestos fenólicos que son capaces de reducir la velocidad de crecimiento del patógeno afectando a los sitios activos de las enzimas y el metabolismo celular (Sangeetha *et al.*, 2013). El efecto inhibitorio de los extractos etanólicos sobre el crecimiento de los diferentes hongos se basa en el daño que ocasionan los compuestos bioactivos de las plantas debido a la generación excesiva de especies reactivas al oxígeno o radicales libres que pueden conducir paralelamente al daño celular del microorganismos por alteraciones en la función de aparato genético, lo que resulta en el envejecimiento y prematura muerte celular (Liu *et al.*, 2013).

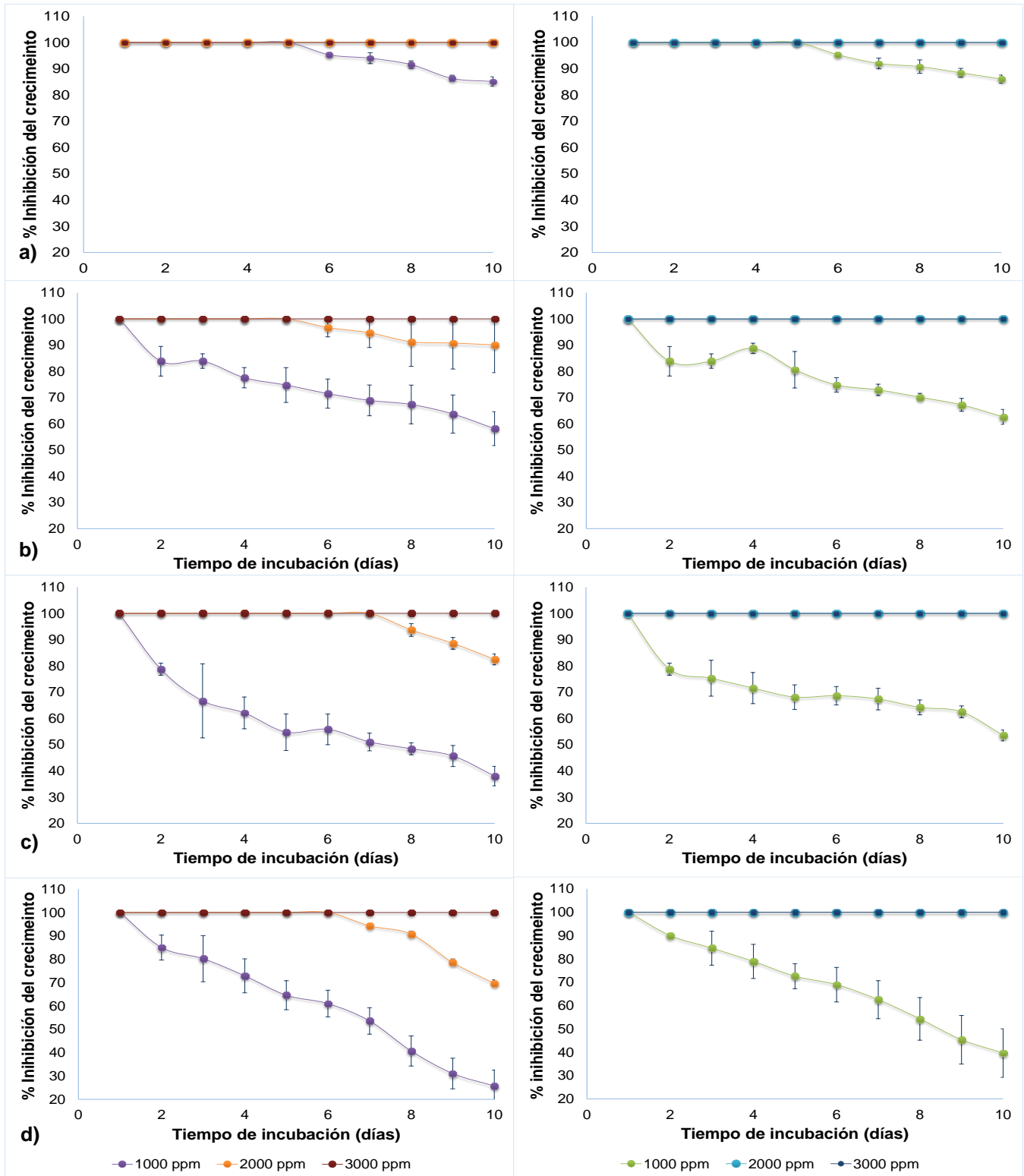


Figura 1. Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de extractos etanólicos de epazote inmaduro (I) y maduro (II) sobre *B. cinerea* (a), *A. alternata* (b), *C. gloeosporioides* (c) y *F. oxysporum* (d). Las barras verticales representan \pm desviación estándar.

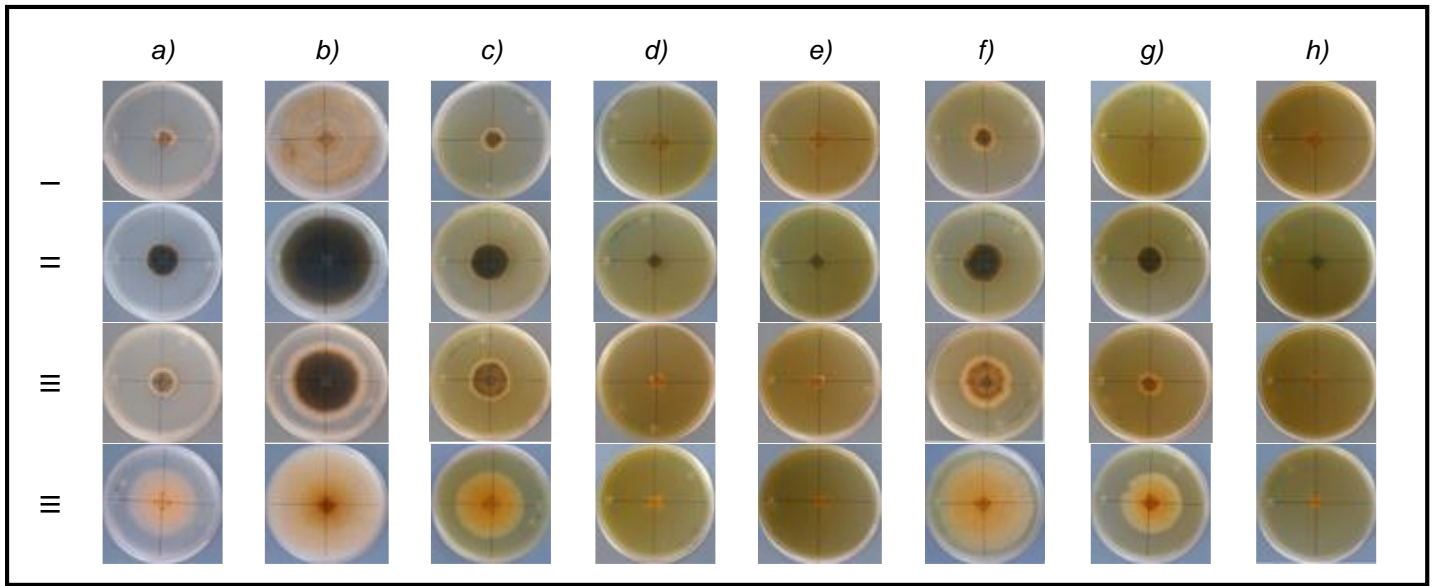


Figura 2. Seguimiento fotográfico de las pruebas *in vitro* de capacidad antifúngica de I) *B. cinerea*, II) *A. alternata*, III) *C. gloeosporioides* y IV) *F. oxysporum* siendo a) control negativo, b) control positivo, c) 1000, d) 2000 y e) 3000 ppm de extracto etanólico de epazote inmaduro y f) 1000, g) 2000 y h) 3000 ppm de extracto etanólico de epazote maduro.

CONCLUSIONES

El extracto etanólico de epazote maduro en una concentración de 3000 ppm resultó efectivo para disminuir el crecimiento micelial de los hongos: *C. gloeosporioides*, *B. cinerea*, *A. alternata* y *F. oxysporum*, en pruebas *in vitro*.

AGRADECIMIENTOS. El presente trabajo fue financiado por el proyecto PAPIIT (IT201513): Desarrollo de envases activos para frutas y hortalizas frescas y mínimamente procesadas.

BIBLIOGRAFÍA

- Aguilar-Alonso P., Navarro-Cruz A, Sánchez-Flores A, Meneses-Sánchez Ma. y Ávila-Sosa R. 2013. Efecto antifúngico de plantas originarias del estado de Puebla sobre *Colletotrichum gloeosporioides*. *Ciencia Uat*. 25(1):6-11.
- Cáceres-Rueda de León I., Colorado-Vargas R., Salas-Muñoz E, Muñoz-Castellanos L., Hernández-Ochoa L. 2013. Actividad Antifúngica *in vitro* de Extractos Acuáticos de Especies contra *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata*, *Geotrichum candidum*, *Trichoderma* spp., *Penicillium digitatum* y *Aspergillus niger*. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 31(2): 105-112.
- Jaramillo, B., Duarte E., Delgado W. 2012. Bioactividad del aceite esencial de *C. ambrosioides* Colombiano. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 17(1): 54-64.
- Liu, J., Liang, J., Kan, J., Chang-Hai, J. 2013. In vitro and in vivo antioxidant activity of ethanolic extract of white button mushroom (*Agaricus bisporus*). *Food and chemical Toxicology*. 51(1): 310-316.

Martínez-Cruz, N., Arévalo-Niña, K., Verde-Star, M., Rivas-Morales, C., Oranday- Cárdenas, A. Núñez -González. 2011. Antocianinas y actividades antirradicales libres de *Rubus adenotrichus* Schltld (zarzamora). *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 42(4): 66-71.

Molina, G. S. Rotta, F.M.C. Torres, E. 2004. Incidencia de infecciones quiescentes de *Botrytis cinerea* en flores y frutos de mora de castilla (*Rubus glaucus Benth*). *Agronomía Colombiana*. 22(2): 101-109.

Sánchez-Soto, A. 2013. Caracterización de películas biodegradables y su aplicación como envase activo en zarzamora (*Rubus frocticosus*) para el control de podredumbre gris. Tesis para obtener el título de ingeniero en alimentos. Universidad Nacional Autónoma de México, Cuautitlán, Estado de México.

Sangeetha G., Thangavelu R., Usha Rani S., and Muthukumar A. 2013. Antimicrobial activity of medicinal plants and induction of defense related compounds in banana fruits cv. Robusta against crown rot pathogens. *Biological Control*. 64(1): 16-25.

Vásquez Covarrubias, D.; Montes Belmont, R.; Jiménez Pérez, A.; y Flores Moctezuma, H. 2013. Aceites Esenciales y Extractos Acuosa para el Manejo *in vitro* de *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici y *F. solani*. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 31 (2): 170-179.