

Actividad antifúngica *in vitro* del extracto acuoso de *Psidium cattleianum* Sabine frente a *Colletotrichum gloeosporioides* Penz



In vitro antifungal activity of the aqueous extract of *Psidium cattleianum* Sabine against *Colletotrichum gloeosporioides* Penz

<http://opn.to/a/7jPhk>

Anabel Avalos-Gavilla ^{1*}, Lilian M. Morales-Romero ¹, Xiomara Rojas-Moya ¹

¹Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT). Apartado No. 6, Santo Domingo, CP: 53000, Villa Clara, Cuba.

RESUMEN: Se determinó la actividad antifúngica *in vitro* del extracto acuoso del guayabo fresa frente a *Colletotrichum gloeosporioides* Penz en el Laboratorio de Fitopatología del Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT). El extracto se obtuvo por maceración con agua estéril. Se evaluó el efecto inhibitorio del extracto acuoso disuelto en agar papa dextrosa (PDA) a las concentraciones de 10, 20 y 30 % mediante el método de envenenamiento del medio de cultivo. El diámetro de crecimiento del micelio se midió cada 24 horas durante cinco días y se calculó el porcentaje de inhibición de crecimiento del hongo. Los resultados mostraron que el extracto acuoso disuelto en PDA a una concentración de 30 % fue efectivo para inhibir el crecimiento y desarrollo del hongo en 41,18 %.

Palabras clave: antracnosis, actividad antifúngica, bioplaguicidas, hongos fitopatógenos, papaya.

ABSTRACT: The *in vitro* antifungal activity of the aqueous extract of strawberry guava tree against *Colletotrichum gloeosporioides* Penz was determined at the Phytopathology Laboratory of the Research Institute of Tropical Roots and Tuber Crops (INIVIT). The plant extract was obtained by maceration with sterile water. The inhibitory effect of the aqueous extract dissolved in potato dextrose agar (PDA) at 10, 20, and 30 % was evaluated by culture medium poisoning. The mycelial growth diameter was measured every 24 hours during five days, and the inhibition percentage of the fungal growth was calculated. The results showed that the aqueous extract dissolved in PDA at a concentration of 30 % was effective to inhibit the fungus growth and development in 41.18 %.

Keywords: anthracnose, antifungal activity, biopesticides, papaya, phytopathogenic fungi.

El fruto de papaya (*Carica papaya* L.) es muy susceptible a diversas enfermedades ocasionadas por hongos fitopatógenos durante la poscosecha. *Colletotrichum gloeosporioides* Penz es el más importante, pues ocasiona elevadas pérdidas del fruto; se han reportado desde 1 % hasta 93 % (1).

La antracnosis, ocasionada por *C. gloeosporioides*, es una enfermedad común y destructiva. Tiene distribución mundial, especialmente en áreas húmedas y cálidas; bajo

condiciones favorables, los tejidos afectados se cubren con masas de esporas de color rosado (2,3). Para el manejo de esta enfermedad se usan, fundamentalmente, fungicidas del grupo de los bencimidazoles. El uso continuo e indiscriminado de estos trae consigo el desarrollo de resistencia en algunos microorganismos, así como daños a la salud humana y al medio ambiente, por lo tanto, existe el interés por desarrollar alternativas que reduzcan o sustituyan su uso (3,4).

*Autor para correspondencia: Anabel Avalos-Gavilla. E-mail: extnaturales@inivit.cu

Recibido: 08/04/2019

Aceptado: 21/06/2019

Las especies pertenecientes al género *Psidium* se encuentran constantemente bajo condiciones de estrés, como largos periodos de sequía, temperaturas extremas, etc. Debido a la adaptabilidad que han desarrollado, son potencialmente ricas en metabolitos secundarios, como compuestos fenólicos, ácido ascórbico y carotenos. Generalmente, estos compuestos se asocian a propiedades biológicas importantes (5), por lo que constituyen objetivos prometedores para la exploración a través de estudios científicos. El objetivo de esta investigación fue determinar la actividad antifúngica *in vitro* del extracto acuoso de guayabo fresa (*Psidium cattleianum* Sabine) frente al hongo fitopatógeno *C. gloeosporioides*.

El estudio se realizó en septiembre de 2018 en el Laboratorio de Fitopatología del Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT), provincia Villa Clara, Cuba; se utilizó un aislado del hongo *C. gloeosporioides*, obtenido de frutas de papaya maduras que se cosecharon en dicha institución.

Para obtener el extracto acuoso a evaluar se recolectó el material vegetal en áreas del Jardín Botánico provincial, perteneciente a la Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas (UCLV), provincia Villa Clara, Cuba, entre las 8:00 y las 9:00 horas. Previo a su recolección, el Doctor Idelfonso Castañeda Noa, especialista en Taxonomía Vegetal, analizó que la especie botánica seleccionada fuese la correcta, la cual se encontraba en etapa de floración; para esto se compararon ejemplares de la planta con muestras identificadas, como guayabita fresa, guayaba cereza o arazá (6), conservadas en el herbario de dicho jardín.

Se recolectaron hojas maduras y jóvenes que fueron trasladadas, en bolsas de polietileno transparentes, hasta el Laboratorio de Fitopatología del INIVIT; se lavaron con agua potable durante 15 min, se secaron en estufa a 65°C durante 72 horas y se pulverizaron en un molino de cuchillas, con tamiz de 3 mm a 6000 rpm, durante 10 min. De la muestra vegetal fraccionada, se pesaron 10 g y se maceraron con 100 ml de agua estéril. La mezcla se agitó durante 15 min en un agitador eléctrico para lograr una mejor unión entre las partículas; luego se filtró a gravedad por una capa de papel de

filtro Whatman™, de 150 mm de diámetro, previamente esterilizado. A partir de este extracto madre, se prepararon las diferentes concentraciones para el envenenamiento del medio.

Se seleccionaron frutos de papaya en etapa de madurez de consumo, con uniformidad en apariencia, tamaño y con síntomas de antracnosis. Se tomaron fragmentos del tejido enfermo y se sembraron en placas Petri, con medio de cultivo agar papa dextrosa (PDA), de la compañía BioCen y se incubaron a una temperatura de 29°C para su crecimiento, durante 10 días. Una vez identificado el hongo como *C. gloeosporioides*, se tomó una porción de tejido micelial para transferirlo a medio fresco y, a partir de su crecimiento, se inició el proceso de purificación del aislamiento con el propósito de obtener cepas puras esporuladas para su utilización en el estudio *in vitro*.

Se pesaron 13,65 g de PDA; se rehidrataron en 350 ml de agua destilada y se dejaron reposar durante 15 min. Se calentó la mezcla, agitándola manualmente hasta el punto de ebullición y se dejó hervir durante 1 min para disolver el medio por completo. Se esterilizó en autoclave a 121°C, durante 15 min. Se dejó enfriar el medio hasta 60°C; en el flujo laminar (Marca Vecco®) se añadieron 10, 20, y 30 ml del extracto madre en tres recipientes, respectivamente. Cada uno se completó hasta 100 ml con el medio de cultivo y, por último, se agitaron durante unos segundos los recipientes para que se mezclaran bien los componentes.

Se extendieron las soluciones en placas Petri de 75 mm de diámetro, utilizando cinco placas por tratamiento y un tratamiento control, que contenía solamente medio de cultivo (Tabla 1). En cada placa se vertieron 15 ml del medio envenenado.

Una vez solidificado el medio, en el centro de la placa se colocaron discos de 7 mm de diámetro de una colonia de 10 días de cultivo del hongo *C. gloeosporioides* y se incubaron a una temperatura de 29°C, hasta que el microorganismo colonizó toda la superficie de la misma; se midió el diámetro del crecimiento del micelio cada 24 horas. Con los valores obtenidos, se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial

a las 24, 48, 72 y 96 horas, empleando la fórmula siguiente:

$$\% = \frac{DCC - DCT}{DCC} \times 100$$

Donde:

DCC -Diámetro de la colonia control

DCT -Diámetro de la colonia tratada

100 -factor matemático

Para comparar los tratamientos, en cuanto a diámetro de la colonia de *C. gloeosporioides* y porcentaje de inhibición del crecimiento micelial, se realizaron análisis de varianza para cada momento de evaluación y las medias se compararon mediante la prueba de rangos múltiples de Duncan, para un nivel de confianza de 95 %. El análisis estadístico de los datos se realizó mediante el paquete estadístico InfoStat, versión 2016 para Windows (7).

En todos los tratamientos con el extracto acuoso y en todos los momentos evaluados, se observó una reducción del crecimiento micelial del patógeno, con respecto al control negativo (Tabla 2).

El mayor porcentaje de inhibición (41,18 %) se obtuvo para la concentración de 30 % del extracto acuoso disuelto en el medio de cultivo (Figura 1), con diferencias significativas con respecto a las concentraciones inferiores a las 24

horas. En todos los tratamientos hubo una reducción del porcentaje de inhibición final pero, generalmente, siguieron la misma tendencia de incremento con respecto a la concentración y mostraron la capacidad del extracto acuoso de *P. cattleianum* de inhibir el crecimiento micelial de este hongo fitopatógeno. De acuerdo con algunos autores, los compuestos presentes en el guayabo fresa restringieron el crecimiento y desarrollo de *C. gloeosporioides*. En un estudio similar, de 18 extractos botánicos evaluados, dentro de ellos la guayaba (*Psidium guajava* L.), se mostró una inhibición del crecimiento micelial de este hongo en 47,77 %. Al respecto, Avalos *et al.* (8) realizaron un tamizaje fitoquímico a los extractos acuoso, alcohólico y etéreo de las hojas de *P. cattleianum*, que reveló la presencia de alcaloides, saponinas, fenoles y/o taninos, flavonoides, terpenos, quinonas y azúcares reductores. Algunos de estos compuestos tienen informada actividad antimicrobiana (9,10) y antifúngica (10,11). Sus mecanismos de acción son variables, por ejemplo, la toxicidad de los fenoles en microorganismos se atribuye a la inhibición enzimática por oxidación de compuestos. Los alcaloides se entrecruzan con el ADN y las lactonas pueden formar canales

Tabla 1. Descripción de los medios de cultivo envenenados con extracto acuoso de plantas de *P. cattleianum*, procedentes de la zona central de Cuba, empleados en el estudio de efecto del extracto, sobre el crecimiento *in vitro* de *C. gloeosporioides*. / Description of the culture media poisoned with the aqueous extract of *P. cattleianum* plants from central Cuba used in the *in vitro* study of the extract effect on growth of *C. gloeosporioides*.

Concentración del extracto en PDA	Forma de obtención
Control negativo	100 ml de PDA (sin extracto)
10 %	10 ml de extracto madre + 90 ml de PDA
20 %	20 ml de extracto madre + 80 ml de PDA
30 %	30 ml de extracto madre + 70 ml de PDA

Tabla 2. Efecto del extracto acuoso de guayabo fresa (*P. cattleianum*) sobre el crecimiento de la colonia de *C. gloeosporioides* en cinco días de incubación a 29°C. / Effect of the aqueous extract of strawberry guava (*P. cattleianum*) on growth of *C. gloeosporioides* colony in five days of incubation at 29°C.

Tiempo (h)	Dosis			
	Control	10 %	20 %	30 %
24 h	15,8 ± 0,53 d	13,4 ± 0,68 c	11,2 ± 0,78 b	10 ± 0,68 a
48 h	31,2 ± 0,52 d	27,8 ± 2,35 c	25,8 ± 1,18 b	23,6 ± 1,86 a
72 h	62,4 ± 0,86 d	53,4 ± 1,17 c	52,2 ± 1,53 b	45 ± 1,25 a
96 h	74,6 ± 0,26 d	63,2 ± 0,8 c	60,6 ± 0,59 b	58,6 ± 1,47 a

*Letras diferentes en una misma fila indican diferencia significativa ($p < 0,05$).

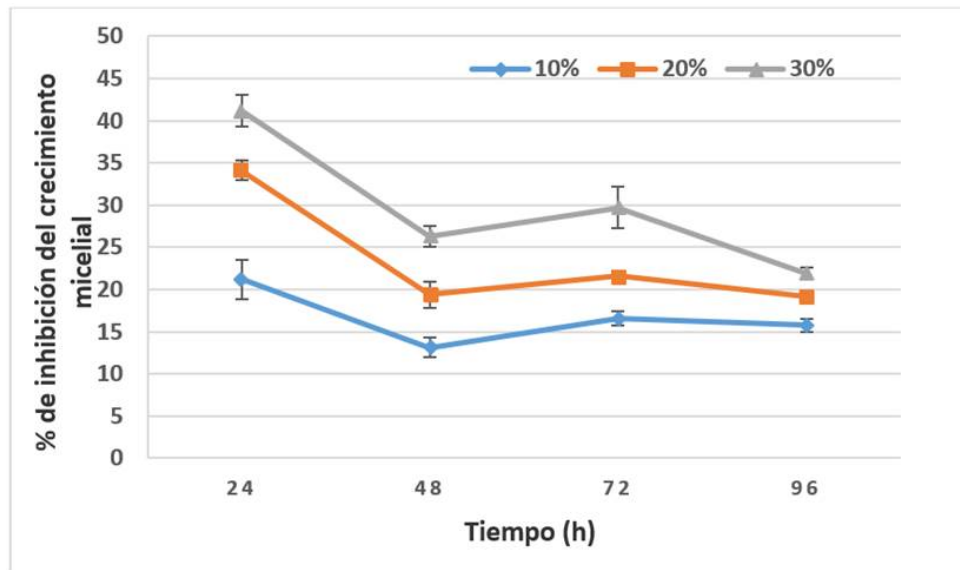


Figura 1. Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial del hongo *C. gloeosporioides*. / Percentage of mycelial growth inhibition of the fungus *C. gloeosporioides*.

iónicos en la membrana microbiana o causar la inhibición competitiva a los polisacáridos receptores del hospedero (10). Igualmente, Lisboa *et al.* (5) realizaron una caracterización química de los extractos acetónico y acuoso del fruto de *P. cattleianum*, así como del potencial nutracéutico y terapéutico del mismo. El fruto presentó un contenido alto de compuestos fenólicos, por encima de 768 mg por cada 100 g de pulpa fresca; mientras que, los carotenos, el ácido ascórbico y las antocianinas estuvieron presentes como componentes menores. La abundancia de estos compuestos fenólicos está directamente correlacionada con la actividad antioxidante, antiproliferativa y antimicrobiana.

Se determinó la efectividad *in vitro* del extracto acuoso del guayabo fresa (*P. cattleianum*) para inhibir el crecimiento micelial del hongo fitopatógeno *C. gloeosporioides*, causante de la antracnosis en papaya. Esta alternativa para el manejo de la antracnosis constituye una solución que podría ser integrada al programa de manejo del cultivo para minimizar el empleo de fungicidas, por su alto costo y afectación al medio ambiente.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece a la Dra. Ileana Miranda Cabrera por el análisis estadístico de los datos y a los árbitros por su contribución a mejorar el artículo.

REFERENCIAS

1. Dos Passos Braga S, Lundgren GA, Macedo SA, Tavares JF, dos Santos Vieira WA, Câmara MPS, *et al.* Application of coatings formed by chitosan and Mentha essential oils to control anthracnose caused by *Colletotrichum gloeosporioides* and *Colletotrichum brevisporum* in papaya (*Carica papaya* L.) fruit. *Int J Biol Macromol.* 2019; 139:631-639.
2. Aguirre-Güitrón L, Calderón-Santoyo M, Bautista-Rosales PU, Ragazzo-Sánchez JA. Application of powder formulation of *Meyerozyma caribbica* for postharvest control of *Colletotrichum gloeosporioides* in mango (*Mangifera indica* L.). *Food Sci Technol.* 2019;113:108-271.
3. Baños Guevara PE, Zavaleta Mejía E, Colinas León MT, Luna Romero I, Gutiérrez Alonso JG. Control biológico de *Colletotrichum gloeosporioides* [(Penz.) Penz. y Sacc.] en papaya Maradol Roja (*Carica papaya* L.) y fisiología postcosecha de frutos infectados. *Rev Mex Fitopatol.* 2004;22(2):198-205.
4. Landero Valenzuela N, Nieto Ángel D, Téliz Ortiz D, Alatorre Rosas R, Orozco Santos M, Ortiz García CF. Potencial antifúngico de extractos de cuatro especies vegetales sobre el crecimiento de *Colletotrichum gloeosporioides* en papaya (*Carica papaya*) en

- poscosecha. Rev Venez Cienc y Tecnol Aliment. 2013;4(1):47-62.
5. Lisboa Medina A, Haas LIR, Chaves FC, Salvador M, Zambiasi RC, da Silva WP, *et al.* Araçá (*Psidium cattleianum* Sabine) fruit extracts with antioxidant and antimicrobial activities and antiproliferative effect on human cancer cells. Food Chem. 2011;128(4):916-922.
 6. Lenz Hister CA, Cauana Trapp K, Bosio Tedesco S. Potencial alelopático e antiproliferativo de extratos aquosos das folhas de *Psidium cattleianum* Sabine sobre *Lactuca sativa* L. Brazilian J Biosci. 2016;14(2):124-129.
 7. Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, González L, Tablada M, Robledo CW. InfoStat versión 2016 [Internet]. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. Available from: <http://www.infostat.com.ar>
 8. Avalos Gavilla A, Muro LV. Tamizaje fitoquímico de los extractos alcohólico, etéreo y acuoso de las hojas del guayabo fresa (*Psidium cattleianum* Sabine). Rev Agric Trop. 2018;4(1):17-22.
 9. Metwally AM, Omar AA, Ghazy NM, Harraz FM, El Sohafy SM. Monograph of *Psidium guajava* L. leaves. Pharmacogn J. 2011;3(21):89-104.
 10. Daciana Ciocan I, Băra II. Plant Products As Antimicrobial Agents. In 2007. p. 151-6.
 11. Hernández Lauzardo AN, Baños SB, Del Valle MG. Prospectiva de extractos vegetales para controlar enfermedades postcosecha hortofrutícolas. Rev Fitotec Mex. 2007;30(2):119-123.

Los autores de este trabajo declaran no presentar conflicto de intereses.

Este artículo se encuentra bajo licencia [Creative Commons Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional \(CC BY-NC 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)