

# Evaluación *in vitro* de la capacidad antifúngica del aceite esencial de clavo *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. and Perry frente a *Fusarium culmorum* (W.G. Smith) Saccardo

M.P. Santamarina y J. Roselló (Departamento de Ecosistemas Agroforestales. Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural. Universidad Politécnica de Valencia).

En el presente trabajo se evalúa la capacidad antifúngica del aceite esencial de clavo (*Syzygium aromaticum*) extraído de las hojas y con un porcentaje superior al 85% de eugenol. El hongo utilizado en el ensayo es *Fusarium culmorum* aislado de carióspsides de arroz de la variedad Senia, procedente de la Albufera de Valencia. La tasa de crecimiento de *Fusarium culmorum* fue de 10,4 mmd<sup>-1</sup> cuando creció en el medio de cultivo PDA, mientras que cuando se adicionó el aceite de clavo a la dosis de 300 µg/ml al medio PDA, la velocidad de crecimiento se redujo drásticamente, fue de 1,3 mmd<sup>-1</sup>. La adición del aceite de clavo al medio de cultivo además de reducir en más del 90% el crecimiento micelial de *Fusarium culmorum* también modificó la forma de crecimiento, el color, la esporulación y la textura de las colonias. El aceite esencial de *Syzygium aromaticum* presentó una muy buena inhibición del crecimiento micelial de *Fusarium culmorum* por lo que el aceite y/o sus compuestos podrían ser una alternativa atractiva para el control de las enfermedades causadas por *Fusarium*.

PALABRAS CLAVE: capacidad antifúngica, aceite esencial, clavo, *Syzygium aromaticum*, *Fusarium culmorum*.

## INTRODUCCIÓN

Las plantas han desarrollado dos tipos de compuestos como defensa al ataque de los hongos: los compuestos antifúngicos constitutivos o inhibitorias, que existen en las plantas para detener la invasión de especies fúngicas, y las fitoalexinas que se producen como respuesta a la infección de patógenos específicos por reacciones enzimáticas rápidas, como la hidrólisis enzimática). Diversos trabajos demostraron que un mismo compuesto puede actuar como inhibidora en una planta y como fitoalexina en otra. Incluso en una misma especie vegetal, un mismo compuesto puede actuar en un órgano como inhibidora y en otro como fitoalexina. La tendencia actual es eliminar esta división y se prefiere hablar de metabolitos antifúngicos de bajo peso molecular, y también de macromoléculas antifúngicas, como ejemplo algunas proteínas (GRAYER y HARBORNE, 1994).

La diversidad estructural de los compuestos antifúngicos es enorme y solo se conoce una pequeña parte de ellos, puesto que las plantas estudiadas representan un porcentaje muy bajo del total de especies de plantas del planeta. Se conocen más de 3000 plantas con potencial antimicrobiano, de las que aproximadamente unas 300 tienen importancia comercial (BURT, 2004) y se denominan con el mismo nombre de la planta de la que provienen; por ejemplo aceite de romero.

Muchas especies vegetales producen aceites esenciales que juegan un papel muy importante en los mecanismos de defensa de las plantas frente a sus patógenos. Sabemos y se ha demostrado que los aceites esenciales y sus compuestos tienen un potente efecto fungicida, son inocuos para el medio ambiente, para los consumidores y para sirven por tanto para el control de las enfermedades de las plantas y en poscosecha (MEEPAGALA y col. 2002; VELLUTI y col. 2003; RASOOLI y OWLIA, 2005).



Figura 1. Colonia de *Fusarium culmorum* crecida en medio PDA (izquierda) y medio PDA-Clavo (derecha) a los 6 días de inocular los discos.

## Materiales y métodos

### Hongo

El hongo utilizado *Fusarium culmorum* fue aislado de cariósipos de arroz de la variedad Senia, procedente de la Albufera de Valencia. Se tomaron los granos de arroz cáscara y se desinfectaron superficialmente con una solución de hipoclorito sódico al 1% durante 5 mn. y se colocaron en capsulas Petri conteniendo agar extracto de arroz (AEA). Las placas se incubaron siete días a 25°C hasta el desarrollo de las colonias. El hongo se identificó siguiendo las claves de Barnett y Hunter (1972).

### Aceite esencial

El aceite esencial de clavo (*Syzygium aromaticum*) de la casa comercial GUINAMA, extraído de hojas y con un porcentaje superior al 85% de eugenol, fue el elegido para evaluar su actividad antifúngica.

### Bioensayos de la actividad del aceite esencial de clavo

El aceite esencial fue disuelto, mezclado y homogeneizado por agitación en matraces con medio de cultivo PDA, previamente esterilizado, cuando aún está líquido, se adicionó a la concentración de 300 µg/ml, y se repartió en cápsulas Petri de 90x15 mm.

El hongo se sembró a modo de explantes discoidales de 8 mm de diámetro tomados con un sacabocados de una colonia de siete días de desarrollo, y se colocaron en el centro de las cápsulas Petri conteniendo el aceite esencial. El experimento se incubó a 25°C durante 6 días. El crecimiento micelial se evaluó midiendo diariamente dos diámetros perpendiculares de la colonia, y se calculó la velocidad de crecimiento. Se realizaron seis repeticiones por tratamiento. Las cápsulas Petri control contenían solamente PDA.

## Análisis estadístico

Los resultados de crecimiento micelial se sometieron al análisis de la varianza (ANOVA) con valores de significación de  $P \leq 0.01$ . El programa utilizado fue STATGRAPHICS Plus 5.0.

## Resultados y discusión

A los seis días de incubación el aceite esencial de clavo disminuyó significativamente el crecimiento micelial de *Fusarium culmorum* a la dosis ensayada (Figura 1).

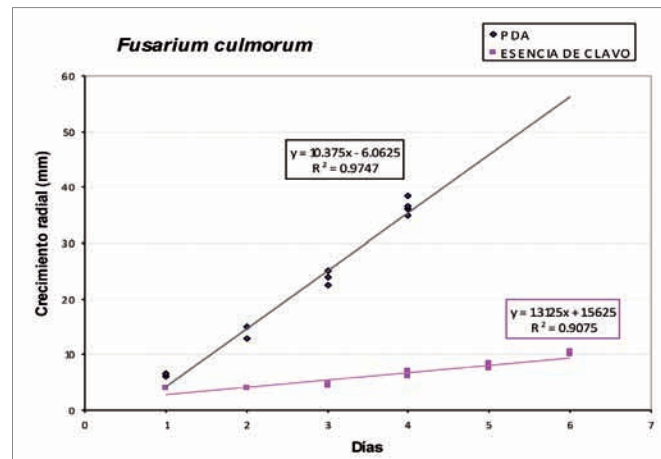


Figura 2. Crecimiento de *Fusarium culmorum* en medio PDA (—) y medio PDA-Clavo (—).

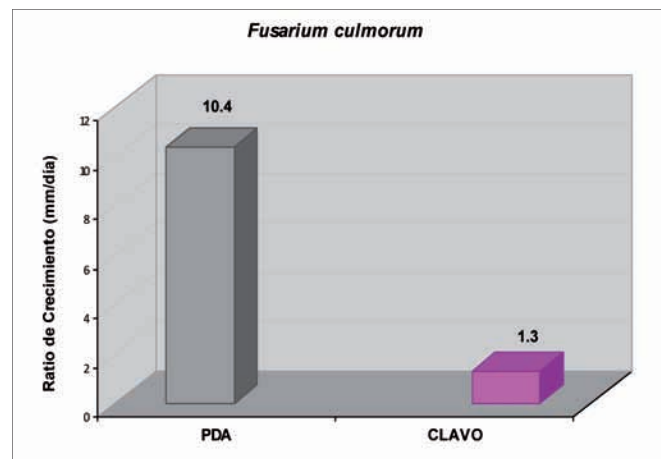


Figura 3. Velocidad de crecimiento (mm/día) de *Fusarium culmorum* en medio PDA (■) y medio PDA-Clavo (■).

La tasa de crecimiento de *Fusarium culmorum* fue de 10,4 mmd<sup>-1</sup> cuando creció en el medio de cultivo PDA, mientras que cuando se adicionó el aceite de clavo a la dosis de 300 µg/ml al medio PDA, la velocidad de crecimiento se redujo drásticamente, fue de 1,3 mmd<sup>-1</sup> (Figuras 2 y 3).

Resultados similares, de tasas de crecimiento, fueron obtenidos por Barrera y García (2008) utilizando el mismo medio de cultivo y similar metodología a la descrita, cuando trabajaron con aceites de clavo a las diferentes concentraciones de 100, 150, 200, 250 y 300 µg/ml. Reduciéndose la tasa de crecimiento de *Fusarium* sp. a la mitad a partir de la dosis de 200 µg/ml y su crecimiento menor del 10% a la dosis de 300 µg/ml.

Bravo-Luna y col., (2000) obtuvieron una inhibición total del crecimiento micelial de *Fusarium moniliforme* con eugenol a la dosis de 1000 ppm.

Resultados que nos indican la diferente sensibilidad de las distintas especies y cepas del género *Fusarium* al aceite de clavo. Siendo elevada en todos los casos y pudiendo afirmar que el género *Fusarium* presenta una elevada sensibilidad al aceite de clavo, que va de inhibición total a ligero crecimiento.

En la Figura 4 puede observarse las diferencias de las tasas de crecimiento diarias a lo largo de los seis días de lecturas, reduciéndose la tasa de crecimiento

aproximadamente al 30% al segundo día, a más del 80% a partir del cuarto día y siendo el crecimiento del hongo menor del 10% con respecto al testigo a partir del quinto día de lectura.

La adición del aceite de clavo al medio de cultivo además de reducir en más del 90% el crecimiento micelial de *Fusarium culmorum* también modificó la forma de crecimiento, el color y la textura de las colonias (Figura 1).

El aceite esencial de *Syzygium aromaticum* presentó una muy buena inhibición del crecimiento micelial de *Fusarium culmorum* por lo que el aceite y/o sus compuestos podrían ser una alternativa atractiva para el control de las enfermedades causadas por *Fusarium*.

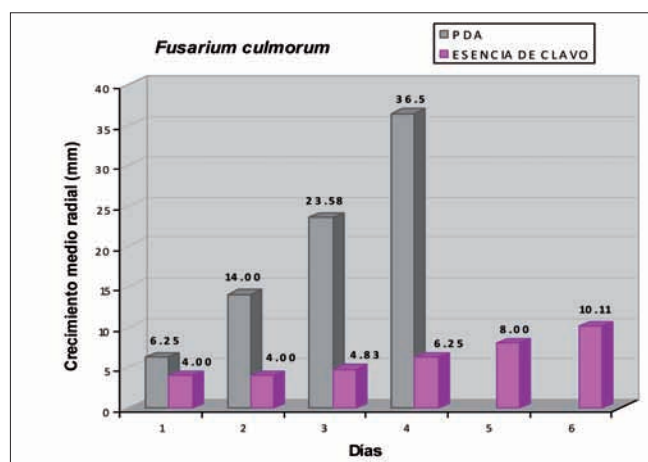


Figura 4. Crecimiento diario de *Fusarium culmorum* en medio PDA (■) y medio PDA-Clavo (■) a lo largo de los seis días de lecturas.

## BIBLIOGRAFÍA

- BARRERA, L. L.; GARCÍA L. J. (2008). *Actividad antifúngica de aceites esenciales y sus compuestos sobre el crecimiento de Fusarium sp. Aislado de papaya* (Carica papaya). UDO Agrícola 8(1):33-41.
- BRAVO LUNA, L.; BERMÚDEZ TORRES, K.; MONTES BELMONT, R. (2000). *Inhibition of Fusarium moniliforme by plant powders and some their chemical components*. Management Integral of Pest. 57:29-34.
- BURT, S. (2004). *Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods, a review*. International Journal of Food Microbiology. 94, 223-253.
- GRAYER, R. J.; HARBORNE, J. B. (1994). *A survey of antifungal compounds from higher plants, 1982-1993*. Phytochemistry 37:19-42.
- MEEPAGALA, K. M.; STURTZ, G.; WEDGE, D. E. (2002). *Antifungal constituents of the essential oil fraction of Artemisia dracunculus L. var. dracunculus*. J. agric. Food. Chem. 50:6989-6992.
- RASOOLI, I.; OWLIA, P. (2005). *Chemoprevention by thyme oils of Aspergillus parasiticus growth and aflatoxin production*. Phytochemistry 66 (24):2851-2856.
- VELLUTI, A.; SANCHIS, V.; RAMOS, A. J.; EGIDO, J.; MARIN, S. (2003). *Inhibitory effect of cinnamon, clove, lemongrass, oregano and palmarose essential oils on growth and fumonisin B1 production by Fusarium proliferatum in maize grain*. J. Food Microbiol. 89 (2-3):145-154.