

Evaluación *in vitro* de la actividad antifúngica de extractos de agave (*Agave scabra*, Salm Dyck) sobre hongos postcosecha

In vitro evaluation of antifungal activity of Agave (*Agave scabra*, Salm Dyck) extracts against post-harvest mushrooms

González-Álvarez M, S Moreno-Limón*, SM Salcedo-Martínez, EC Pérez-Rodríguez

Resumen. El sector agrícola, y particularmente la producción de hortalizas tiene una importancia singular en la agricultura, a nivel mundial y nacional, al considerarse que éstas ocupan el segundo lugar de los productos agropecuarios. Las enfermedades fúngicas son una de las principales causas de pérdidas en hortalizas durante el periodo de almacenamiento, disminuyendo su valor nutricional, calidad y precio de venta. Generalmente las hortalizas se exponen a diversos tratamientos con productos químicos antes de su almacenamiento; esto contribuye a que las poblaciones de hongos sean cada vez más resistentes, y por lo tanto más difícil de controlar. Ante esta situación es necesario realizar trabajos de investigación que permitan encontrar las sustancias químicas para el control de las enfermedades fúngicas. El uso de extractos naturales puede ser una alternativa para la solución de este problema. En la presente investigación se evaluó la actividad fungicida de extractos acuosos y etanólicos de *Agave scabra* sobre el crecimiento de *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea*, *Mucor* sp., *Fusarium* sp. y *Penicillium* sp., cuyas cepas fueron obtenidas a partir de papa y tomate. Para evaluar su efecto, se realizaron las técnicas del pozo en agar y la de dilución del extracto en agar. Por el método de pozo en agar, el extracto etanólico fue más efectivo contra *Botrytis cinerea* y *Mucor* sp., mientras que por el método de dilución del extracto en agar, el extracto etanólico de *Agave scabra* inhibió el crecimiento de *Botrytis cinerea*, *Mucor* sp. y *Penicillium* sp.

Palabras clave: Hongos; Postcosecha; Extractos.

Abstract. The agricultural sector, and particularly the horticultural production, has a singular importance in agriculture, considering that it ranks second on agricultural products, nationally and worldwide. Fungal diseases are one of the major causes of vegetable loss during storage, reducing their nutritional value, quality and sale price. Vegetables are usually exposed to diverse treatments with chemical products before storage; as a result, fungal populations develop an increased resistance over time becoming more difficult to control. Because of this, research efforts toward finding more suitable chemicals to control fungal diseases are needed. Natural extracts may be an alternative solve this problem. In the present investigation the fungicidal activity of aqueous and ethanol extracts of *Agave scabra* was evaluated on the growth of *Botrytis cinerea*, *Mucor* sp., *Aspergillus niger*, *Fusarium* sp. and *Penicillium* sp., whose strains were isolated from potato and tomato. To assess their effects, the agar-dilution and agar-well techniques were performed. The ethanol extract was more effective against *Botrytis cinerea* and *Mucor* sp. when the agar-well method was used. However, when using the agar-dilution method the ethanol extract of *Agave scabra* inhibited the growth of *Botrytis cinerea*, *Mucor* sp. and *Penicillium* sp.

Keywords: *Botrytis cinerea*; Vegetable fungal diseases; Postharvest damage; *Agave scabra* extracts.

INTRODUCCIÓN

A nivel internacional, las hortalizas ocupan el segundo lugar de los productos agropecuarios. Aunque existe una gran diversidad de productos hortícolas en el mundo (200 variedades) y algunos de ellos tienen importancia a nivel regional, se estima que tan solo dos hortalizas constituyen el 50% de la producción mundial: la papa (*Solanum tuberosum* L.) y el tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). Sin embargo, las enfermedades postcosecha que afectan a las hortalizas a escala mundial a menudo causan pérdidas directas, o bien disminuyen su valor nutricional, calidad, cantidad y precio de venta. Se estima que un 50% de los cultivos cosechados se pierden en postcosecha, y una gran parte de estas pérdidas se debe a las podredumbres causadas por hongos (Wilson y Wisniewski, 1989).

Los hongos causantes de enfermedades postcosecha en los cultivos de tomate y papa son: (1) *Alternaria solani*, agente causal del “Tizón temprano”; (2) *Geotrichum* spp. de la “Pudrición ácida”, (3) *Fusarium* spp. de la “Fusariosis”, (4) *Phytophthora infestans* del “Tizón tardío”, (5) *Aspergillus niger* de la “Aspergilosis”, (6) *Botrytis cinerea* “Moho gris” y (7) *Penicillium* spp., “Moho azul” (Barkai-Golán, 2001).

El control de estas enfermedades en postcosecha se lleva a cabo fundamentalmente con productos químicos, principalmente del grupo de las carbixamidas (Melgarejo et al., 2002). Sin embargo, el uso continuo de estos productos ha provocado que las poblaciones del hongo sean cada vez más resistentes y por lo tanto difíciles de erradicar (Leroux et al., 1999; Melgarejo et al., 2002).

Ante esta situación, se hace necesaria la realización de esfuerzos en la investigación para encontrar las sustancias químicas más adecuadas para combatir las enfermedades fungosas. Dentro de la importancia económica que presentan las plantas, está su utilización como fuentes industriales de sustancias bioactivas. Respecto a esto, se han utilizado desde tiempos remotos diversas plantas para la eliminación de microorganismos ya sea en forma de plantas completas, como polvos, extractos o cenizas (Hemingway et al., 1984). Los metabolitos secundarios frecuentemente poseen un papel ecológico y sirven como defensas químicas en contra de microorganismos, insectos vectores y herbívoros (Mann, 1978; Putnam y DeFrank, 1983). Son frecuentemente acumulados por las plantas en pequeñas cantidades, y sintetizados en células especializadas y en distintos estadios de desarrollo, haciendo con ello difícil su purificación. Entre los compuestos más conocidos se encuentran: flavonoides, fenoles, glucósidos de fenoles, saponinas, etc. (Grayer y Harborne, 1994; Osbourn, 1996). Existen poco más de 1340 especies de plantas que contienen compuestos, con actividad contra una amplia variedad de bacterias, levaduras y hongos (Gould, 1995).

La riqueza florística de México nos ofrece importantes alternativas que pueden ser aprovechadas en el área terapéutica,

del control epidemiológico y agrícola, entre otros (Velásquez, 1997). Una de las especies vegetales que han sido utilizadas no sólo en México sino en el norte mesoamericano, es el *Agave*. Su uso se remonta a 10000 o 15000 años atrás, y la abundancia de este género así como de la variedad de especies y subespecies en la familia a la cual pertenecen, han hecho de ésta “La familia de plantas del siglo”. No solo ha sido fuente de aguamiel para varias bebidas, y de fibras para varios usos y artefactos, sino que también se ha utilizado en el área de la salud (Abdel-Gawad et al., 1999). Además, ha sido una de las principales fuentes de metabolitos primarios y secundarios que se han utilizado ampliamente desde épocas prehispánicas (Hemingway et al., 1984).

Aunque la composición química del género *Agave* no se conoce en su totalidad, sus hojas contienen metabolitos secundarios como esteroides, taninos, flavonoides, cumarinas, glucósidos y saponinas (Verástegui, 2000). Russell y sus colaboradores (1943) descubrieron y aislaron sapogeninas en *Agave*, y describieron la estructura de 13 sapogeninas esteroidales de diversas especies, incluyendo *Agave scabra*.

Además de su conocido efecto antimicrobiano, el *Agave* sp. posee un gran potencial antifúngico y anticancerígeno, lo que puede ser una alternativa en el campo terapéutico (Verástegui, 2000). Recientemente se demostró el efecto antifúngico de extractos de *Yucca shidigera* y *Larrea tridentata* contra cepas de *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus*. También se observó que esos extractos inhibían la producción de toxinas, probablemente como resultado de la falta de crecimiento del hongo (Lozano et al., 1999). Otro estudio reveló que los extractos obtenidos de *Agave* mostraron un efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*. Algunas de ellas incluyen a *Agave scabra* (*asperrima*), *A. striata*, *A. victoria* y *A. bracteosa*. Además, encontraron que *Agave americana* tiene la capacidad de inhibir la conidiogénesis y causar cambios morfológicos miceliales en los hongos (Lozano et al., 2011).

En el presente trabajo se evaluó el efecto de los extractos acuosos y etanólicos de *A. scabra* sobre el crecimiento de hongos fitopatógenos presentes en Papa (*Solanum tuberosum* L.) y Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) luego de su cosecha.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestras vegetales. El material vegetal consistió de “hojas” de *A. scabra* que fueron colectadas de los jardines de las instalaciones de la Unidad “B” de la Facultad de Ciencias Biológicas. La corroboración de la especie se realizó en el Herbario de dicha Facultad. Las hojas se cortaron y secaron a temperatura ambiente bajo sombra durante 15 días. Posteriormente, cada muestra se lavó con una solución de hipoclorito de sodio al 5% y se enjuagó con agua destilada. Las muestras fueron luego deshidratadas colocándolas en una incubadora de convección por gravedad (Precisión Scientific Modelo JI755-Ia) a una

temperatura de 50 °C hasta peso constante. Posteriormente este material se pulverizó en una licuadora hasta obtener un polvo fino, el cual se conservó en un desecador hasta su posterior uso.

Preparación de extractos botánicos. Se tomaron 100 g de polvo y se disolvieron en 300 mL de agua destilada (extracto acuoso); otros 100 g se disolvieron en el mismo volumen de alcohol etanólico al 70% (extracto etanólico). Ambos extractos fueron colocados en frascos ámbar y se dejaron reposar durante una semana en refrigeración. Posteriormente, la suspensión de los dos extractos se filtró en papel Whatman No.1 se colocó en tubos estériles y se mantuvo en refrigeración hasta su utilización.

Aislamiento e identificación de hongos. Los hongos fitopatógenos se aislaron a partir de tomate y papa en postcosecha, comercializados en el Mesón Estrella, de la ciudad de Monterrey, N.L., México. Se preparó el medio de cultivo agar papa dextrosa (PDA), al cual se le añadió sulfato de estreptomycin a 200 ppm. Se cortaron secciones de 1 cm² de tejido vegetal, obtenidas de las zonas de transición entre el tejido sano y el enfermo. Se desinfectaron mediante inmersión durante 1 minuto en Hipoclorito de sodio al 2%, se enjuagaron 3 veces con agua destilada y se secaron. Dos o tres secciones de tejido fueron luego colocadas sobre las placas con medio PDA. Cada caja de Petri de 90 mm de diámetro se selló con *parafilm* y se incubó a 26 ± 2 °C por siete días. Las colonias fueron sembradas para su aislamiento y posterior purificación por la técnica de microcultivo. Se identificaron de acuerdo a Barnett y Hunter (1998), Sneh et al. (1991) y Nelson (1983).

Preparación del inóculo. Las cepas de hongos obtenidas a partir de tomate y papa fueron *Penicillium* sp., *Botrytis cinerea*, *Mucor* sp., *Aspergillus niger* y *Fusarium* sp. Dichas cepas fueron cultivadas sobre placas de Petri con PDA a 26 ± 2 °C por siete días. Las colonias se cubrieron con 10 mL de solución salina estéril al 0,85% y con 0,1% de Tween 80 (Polisorbato 80, Sigma, EU), agitando durante tres minutos y frotando la superficie de la colonia de manera firme y suave, utilizando un asa bacteriológica estéril. La suspensión así obtenida se vació directamente en un tubo de ensayo estéril y se utilizó para la realización de las diferentes pruebas, homogeneizando antes de su uso. La turbidez de la suspensión celular fue medida por espectrofotometría de acuerdo a la técnica de Julman et al. (1998).

Evaluación *in vitro* de la actividad antifúngica. Para demostrar el efecto de los diferentes extractos de *A. scabra*, sobre el crecimiento de los hongos se utilizaron las siguientes técnicas:

Técnica del pozo en agar. En cada una de las cajas de Petri que contenían 20 mL de PDA, se sembraron por separado

5, 10, 15 y 20 µL de la suspensión de esporas de cada uno de los hongos y que se distribuyeron uniformemente usando una varilla de vidrio. Posteriormente se hicieron cinco "pozos" de 5 mm de diámetro y se aplicaron 20 µL de cada uno de los tratamientos; 1) extracto acuoso, 2) extracto etanólico, 3) fungicida Captan (250 mg/100 L) y (4) alcohol etílico OHet 70%. Las cajas se distribuyeron usando un diseño completamente al azar con tres repeticiones y se incubaron por 7 días a 26 ± 2 °C. El efecto inhibitorio de los extractos se determinó al séptimo día, midiéndose los diámetros de los halos de inhibición del micelio.

Técnica de dilución del extracto en agar. En cada una de las cajas de Petri se realizó una mezcla homogénea de 20 mL de PDA con Rosa de Bengala a 200 ppm y 1 mL de cada uno de los tratamientos; 1) extracto acuoso, 2) extracto etanólico, 3) fungicida Captan (250 mg/100 L), 4) OHet 70% y 5) control PDA. Una vez solidificado el agar, se aplicaron 20 µL de la suspensión de esporas de cada hongo y se distribuyó uniformemente sobre la superficie. Las cajas se distribuyeron bajo un diseño completamente al azar con tres repeticiones y se incubaron por una semana a 26 ± 2 °C. El efecto inhibitorio de los extractos se determinó como el porcentaje de inhibición del crecimiento del micelio del hongo con respecto al testigo en PDA.

RESULTADOS Y DISCUSION

Aislamiento e identificación de hongos. Se identificaron cinco hongos, provenientes de tomate (*Lycopersicon esculentum*) y papa (*Solanum tuberosum*) almacenados en etapa de postcosecha. Del tomate se aislaron *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea* y *Mucor* sp., y de la papa *Fusarium* sp. y *Penicillium* sp. Estas especies de hongos son comunes en estas hortalizas (Barkai-Golán, 2001). *Fusarium* presentó la mayor producción de esporas (217 esporas/µL), seguido por *Mucor* sp. (142 esporas/µL) y *Penicillium* sp. (78 esporas/µL).

Evaluación *in vitro* de la actividad antifúngica

Técnica del pozo en agar. Los diferentes tratamientos presentaron diferencias altamente significativas ($p < 0,01$) para las cinco especies de hongos. Para la concentración de los inóculos solamente se encontraron diferencias significativas en *Botrytis cinerea* y *Mucor* sp. En la interacción de ambas fuentes de variación, se presentaron diferencias significativas para *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea* y *Fusarium* sp.

El tipo de tratamiento (extracto) tuvo un efecto significativo en el crecimiento de los diferentes hongos, al formarse grupos estadísticamente diferentes. En *Aspergillus niger*, *Fusarium* sp. y *Penicillium* sp. el mayor efecto se presentó con Captan cuyos halos de inhibición fueron de 13,22; 13,75 y 16,6 mm, respectivamente. El volumen del inóculo presentó grupos estadísticamente diferentes en *Botrytis cinerea* y *Fusarium* sp. (Tabla 1).

Independientemente del inóculo utilizado, el tratamiento más efectivo para *Aspergillus niger* fue el Captan al formar halos de inhibición que variaron de 10,0 a 15,00 mm. Estos valores obtenidos para *A. niger* fueron estadísticamente diferentes a aquellos mostrados por los otros tratamientos. Con los extractos etanólicos el mayor halo de inhibición fue de 6,7 mm cuando se aplicaron 15 μ L del inóculo. El volumen del inóculo presentó diferencias significativas solamente en el extracto etanólico y el Captan en volúmenes de 10 y 20 μ L, respectivamente (Tabla 2).

Para *Botrytis cinerea* se formaron grupos estadísticamente diferentes independientemente del volumen del inóculo; el extracto etanólico registró los niveles más altos de inhibición al formar halos de 14,7 a 18,7 mm de diámetro, seguido del extracto acuoso cuyos valores variaron de 10,0 a 13,0 mm. Contrariamente a lo observado en *Aspergillus niger*, el Captan no mostró efecto significativo en la inhibición del crecimiento de *B. cinerea*. Solamente el volumen del inóculo de 10 μ L presentó diferencia significativa en el extracto acuoso (Tabla 2).

La interacción de los factores evaluados no fue estadísticamente significativa en *Mucor* sp. Sin embargo, los extractos que provocaron un mayor efecto de inhibición fueron el etanólico (halos de hasta 29,7 mm) y el acuoso (halos de hasta 19,7 mm). Los halos obtenidos fueron de solo 11,0 mm de diámetro con el fungicida comercial Captan (Tabla 2).

Al utilizar un volumen de 5 μ L del inóculo, los valores de inhibición obtenidos con los extractos etanólico, acuoso y Captan fueron estadísticamente iguales. Sin embargo, el Captan superó a todos los demás tratamientos en *Fusarium* sp. en el resto de los volúmenes al registrar halos de inhibición que variaron entre 10,3 y 17,3 mm (Tabla 2).

La interacción de fuentes de variación no mostró diferencia significativa en *Penicillium* sp. Sin embargo, los halos de inhibición más altos se presentaron con el extracto etanólico; los valores variaron entre 15,3 (cuando se inoculó con 10 μ L) y 16,7 mm (con 15 μ L de inóculo). Los halos de inhibición con Captan fueron de 14,3 a 17,0 mm, y con el extracto acuoso de 8,3 a 9,0 mm de diámetro.

Técnica de dilución del extracto en agar. Los resultados mostraron variabilidad en la respuesta de las diferentes especies de hongos (Tabla 3 y Fig. 1).

Aspergillus niger. Los extractos acuosos y etanólicos presentaron muy poca actividad inhibitoria contra *A. niger*; los porcentajes de inhibición fueron de 8,33% y 10%, respectivamente. Al mismo tiempo, el porcentaje de inhibición con Captan fue de hasta un 63,33%.

Botrytis cinerea. El extracto etanólico fue el más efectivo, presentándose un porcentaje de inhibición promedio del 90%. Por otro lado, el extracto acuoso y el Captan solo presentaron una inhibición de hasta un 15% y 25%, respectivamente.

Mucor sp. El extracto etanólico inhibió hasta en un 30% el desarrollo de esta especie. Por otro lado, el Captan y el extracto acuoso inhibieron al hongo hasta con un 15% de efectividad.

Fusarium sp. El Captan presentó un 30% de efectividad. Los extractos etanólicos y acuosos de *Agave scabra* inhibieron el desarrollo del hongo hasta un 16,6% y 15%, respectivamente. El alcohol etílico 70% mostró un máximo de inhibición del 10%.

Penicillium sp. El extracto etanólico inhibió hasta en un 86,6% el crecimiento de este hongo. El extracto acuoso fue menos efectivo que el etanólico pero alcanzó a inhibirlo hasta en un 28,33%, y el Captan lo hizo en un 30%.

Tabla 1. Comparación múltiple de medias para los tratamientos y volumen del inóculo en respuesta a la aplicación de los diferentes tratamientos en cajas de Petri.

Table 1. Multiple comparison tests for treatments and inoculum volume in response to the application of the different treatments in Petri dishes.

Tratamientos	Hongos Fitopatógenos				
	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Botrytis cinerea</i>	<i>Mucor</i> sp.	<i>Fusarium</i> sp.	<i>Penicillium</i> sp.
Extractos					
Etanólico	3,58 b	17,08 a	26,91 a	2,33 b	15,83 a
Acuoso	0,00 c	9,17 b	19,16 a	3,00 b	8,91 b
Captan	12,33 a	0,83 c	6,16 c	13,75 a	16,16 a
OH 70%	1,25 bc	0,00 c	2,75 c	0,00 b	0,00 c
Volumen de inóculo					
5 μ L	4,75	8,75 A	13,41	7,83 A	10,50
10 μ L	4,16	3,66 B	15,91	3,33 B	9,66
15 μ L	4,58	8,00 A	12,83	3,58 B	10,58
20 μ L	3,66	6,66 A	12,83	4,33 AB	10,16

Letras diferentes en una misma fila indican diferencia significativa. Cada valor corresponde al promedio de tres repeticiones.

Tabla 2. Comparación múltiple de medias en la interacción de factores para los halos de inhibición del crecimiento (mm) de hongos patógenos poscosecha por efecto de diferentes tratamientos.

Table 2. Multiple comparison tests of interaction factors in the growth inhibition halos (mm) of post-harvest fungal pathogens as a result of different treatments.

Hongos Fitopatógenos	Tratamientos				
	Inóculo	Ext. Etanólico	Ext. Acuoso	Captan	OH et. 70%
<i>Aspergillus niger</i>	5 µL	6,7 b ± 1,5	0,0 c ± 0,0	12,3 a ± 1,2	0,0 c ± 0,0
	10 µL	0,0 b ± 0,0	0,0 b ± 0,0	15,0 a ± 4,6	1,67 b ± 2,9
	15 µL	4,7 b ± 4,2	0,0 b ± 0,0	12,0 a ± 0,0	1,67 b ± 2,9
	20 µL	3,0 b ± 3,0	0,0 b ± 0,0	10,0 a ± 0,0	1,67 b ± 2,9
<i>Botrytis cinerea</i>	5 µL	18,7 a ± 1,5	13,0 b ± 2,0	3,3 c ± 5,8	0,0 c ± 0,0
	10 µL	14,7 a ± 1,5	0,0 b ± 0,0	0,0 b ± 0,0	0,0 b ± 0,0
	15 µL	18,3 a ± 1,5	13,7 b ± 4,0	0,0 c ± 0,0	0,0 c ± 0,0
	20 µL	16,7 a ± 3,1	10,0 b ± 1,0	0,0 c ± 0,0	0,0 c ± 0,0
<i>Mucor sp.</i>	5 µL	25,0 ± 1,0	17,7 ± 6,4	11,0 ± 3,6	0,0 ± 0,0
	10 µL	29,7 ± 7,6	19,7 ± 7,8	7,7 ± 0,6	6,7 ± 5,8
	15 µL	27,0 ± 3,6	19,7 ± 1,5	2,7 ± 4,6	2,0 ± 3,46
	20 µL	26,0 ± 1,7	19,7 ± 1,5	3,3 ± 5,8	2,0 ± 4,04
<i>Fusarium sp.</i>	5 µL	9,3 a ± 3,1	8,0 a ± 1,7	14,0 a ± 2,0	0,0 b ± 0,0
	10 µL	0,0 b ± 0,0	0,0 b ± 0,0	13,3 a ± 3,5	0,0 b ± 0,0
	15 µL	0,0 b ± 0,0	4,0 ab ± 6,9	10,3 a ± 9,6	0,0 b ± 0,0
	20 µL	0,0 b ± 0,0	0,0 b ± 0,0	17,3 a ± 3,1	0,0 b ± 0,0
<i>Penicillium sp.</i>	5 µL	16,0 ± 0,0	9,3 ± 2,1	16,7 ± 3,5	0,0 ± 0,0
	10 µL	15,3 ± 0,6	9,0 ± 1,7	14,3 ± 2,1	0,0 ± 0,0
	15 µL	16,7 ± 2,1	9,0 ± 1,7	16,7 ± 5,9	0,0 ± 0,0
	20 µL	15,3 ± 4,0	8,3 ± 1,5	17,0 ± 3,6	0,0 ± 0,0

Nivel de significancia = 0,05; Tukey = 7,3823; Valores de tablas: $q < 0,05 = 3,83$, $q < 0,01 = 4,78$.

Letras diferentes en una misma fila indican diferencia significativa. Cada valor corresponde al promedio de tres repeticiones más desviación estándar.

Tabla 3. Porcentaje promedio de inhibición del crecimiento de hongos incubados 7 días a 26 ± 2 °C, al aplicar 20 µL de suspensión de esporas en medio PDA y 1 mL de tratamiento.

Table 3. Mean percentage inhibition of fungal growth after 7 days of incubation at 26 ± 2 °C, applying 20 µL of spore suspension on PDA culture medium with 1 mL of treatment.

Especies de hongos	Tratamientos				
	Extracto Etanólico	Extracto Acuoso	Captan	Alcohol Etilico 70%	Control
<i>Aspergillus niger</i>	10,00	8,33	63,33	15,00	11,66
<i>Botrytis cinerea</i>	90,00	16,66	16,33	80,00	18,33
<i>Mucor sp.</i>	28,33	13,33	13,33	20,00	11,66
<i>Fusarium sp.</i>	13,33	16,66	30,00	8,33	6,66
<i>Penicillium sp.</i>	86,66	28,33	31,66	5,00	10,00

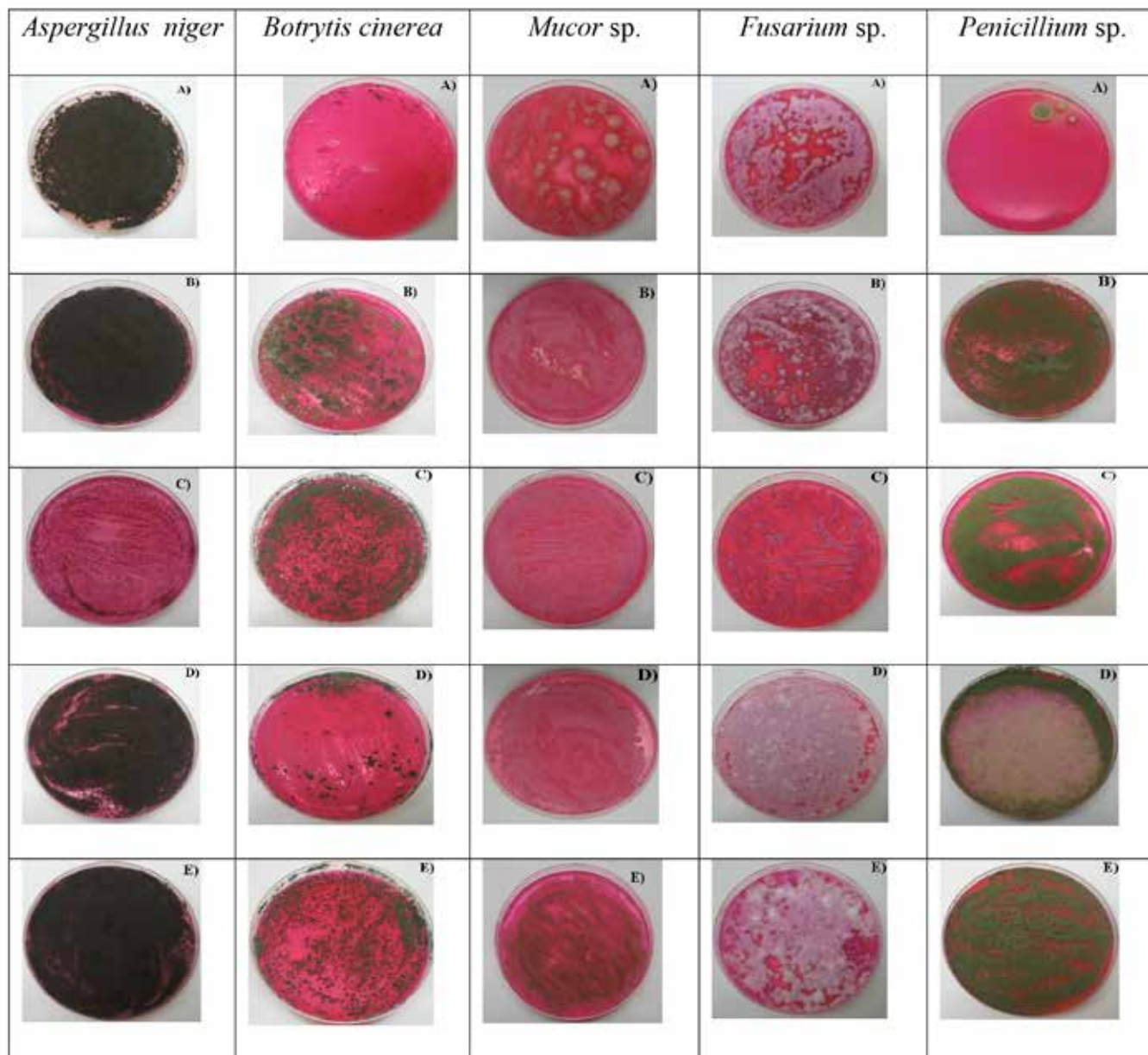


Fig. 1. Evaluación de los diferentes tratamientos por el método de vertido en placa sobre el hongo, después de 7 días de incubación a 28 °C, en medio de PDA. (A) Extracto etanólico, (B) Extracto acuoso, (C) Captan, (D) Alcohol etílico 70%, (E) Control (PDA).

Fig. 1. Evaluation of different treatments by the pour plate method on the fungus, after 7 days of incubation at 28 °C on PDA culture medium. (A) Ethanolic extract, (B) Aqueous extract, (C) Captan, (D) Ethyl alcohol 70%, (E) Control (PDA).

Zhang y Lewis (1997) mencionaron que el etanol muestra una buena capacidad de extracción de compuestos con actividad antimicrobiana, y que los extractos acuosos rara vez los presentan. Las fracciones acuosas pueden contener compuestos antimicrobianos de interés solo ocasionalmente.

Lozano et al. (1999) reportaron que los extractos metanólicos de *Agave scabra* (*asprima*) presentan actividad antifúngica frente a *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus*, con una CMI de 0,5 a 2,0 mg/mL. En esta investigación se comprobó que los extractos de *A. scabra* mostraron actividad inhibitoria del

desarrollo de hongos. El extracto etanólico, aunque no fue tan efectivo como el Captan, inhibió el crecimiento de *Aspergillus flavus*, presentando un efecto inhibitorio de hasta 8,0 mm.

Los extractos alcohólicos provenientes de las plantas tienen mayor efectividad que los extractos acuosos contra los hongos (Tequida et al., 2002). Dichos autores inhibieron el crecimiento de *A. flavus*, *A. niger*, *Penicillium chrysogenum*, *P. expansum*, *Fusarium moniliforme* y *F. poae* hasta en un 100%, tanto en los extractos metanólicos como en los etanólicos. En comparación con los resultados obtenidos en esta investi-

gación, el extracto etanólico tuvo un efecto inhibitorio sobre *Penicillium* sp. Sin embargo, no fue tan eficiente para *Aspergillus niger* y *Fusarium* sp., en comparación con el Captan. Esto se pudo deber a que no existió una buena difusión de los compuestos activos en el solvente, por lo que fue más difícil lograr la inhibición del crecimiento y desarrollo de hongos.

Lozano-Muñiz et al. (2011) evaluaron la actividad antimicrobiana de extractos de cuatro especies de agave sobre el crecimiento y la morfología de *A. flavus* y *A. parasiticus*. Los resultados indicaron que los extractos de *Agave asperrima* inhibieron el crecimiento de los hongos. Los extractos metanólicos de hojas y flores en una CMI de $0,95 \pm 0,37$ a $1 \pm 0,5$ mg/mL fueron los más activos. Los extractos de *A. americana*, *A. lechuguilla* y *A. tequilana* no fueron capaces de inhibir el crecimiento de hongos. Sin embargo, mediante microscopía electrónica de barrido pudieron determinar que los extractos de *A. americana* (10 mg/mL), y aquellos de *A. asperrima* (a concentraciones más bajas que la CMI), produjeron una extensa red entrelazando las hifas vegetativas, con una profunda reducción en la formación de conidióforos.

Los estudios previos, que demostraron la presencia de flavonoides, fenoles y saponinas en diferentes especies vegetales y en particular las pertenecientes al Género *Agave*, permiten reafirmar la actividad antifúngica observada en la presente investigación.

CONCLUSIONES

Por el método de pozo en agar se demostró que el extracto más efectivo de *Agave scabra* fue el etanólico contra *Botrytis cinerea* y *Mucor* sp. Los halos de inhibición obtenidos fueron de hasta 20,0 mm. Más aún, los halos de inhibición alcanzaron los 35,0 mm utilizando 10 μ L en *Mucor* sp., El tratamiento más efectivo contra *Aspergillus niger*, *Fusarium* sp., y *Penicillium* sp. fue el Captan. Se observó que su mayor efectividad se obtuvo en 10 μ L de *Aspergillus niger* y en 20 μ L de *Fusarium* sp., presentando halos de hasta 20,0 mm de inhibición en ambos hongos. En el caso de *Penicillium* sp., el tratamiento que presentó un mayor efecto inhibitorio fue sobre el inóculo de 15 μ L, obteniendo halos de inhibición de hasta 21,0 mm de diámetro.

Por el método de dilución del extracto en agar, el Captan fue el más efectivo contra *Aspergillus niger* y *Fusarium* sp.; se obtuvo un efecto inhibitorio de 90% en el caso de *A. niger* y de 30% en aquel de *Fusarium* sp. El extracto etanólico produjo un mayor control sobre *Botrytis cinerea*, *Mucor* sp., y *Penicillium* sp., con un porcentaje de inhibición de 90% para *Botrytis cinerea* y *Penicillium* sp., y de 30% para *Mucor* sp.

El Captan y los extractos etanólicos del *A. scabra* fueron los que presentaron un mayor efecto inhibitorio contra los hongos, en comparación con los acuosos.

REFERENCIAS

- Abdel-Gawad, M.M., M.M. El-Sayed y E.S. Abdel-Hameed (1999). Molluscicidal steroidal saponins and lipid content of *Agave decipiens*. *Fitoterapia* 70: 371-381.
- Barkai-Golán, R. (2001). Postharvest diseases of fruits and vegetables: development and control. 1ª ed. Elsevier, Amsterdam. 418 p.
- Barnett, H. L. y B.B. Hunter (1998). Illustrated genera of imperfect fungi. 4th. Ed. APS Press, MN. USA. 218 p.
- Gould, G.W. (1995). Industry perspectives on the use of natural antimicrobials and inhibitors for food applications. *Journal of Food Protection* 45: 82-86.
- Grayer, R.J. y J.B. Harborne (1994). A survey of antifungal compounds from higher plants, 1982-1993. *Phytochemistry* 37: 19-42.
- Heitzmann, P. (1948). The structure hemolysis relationship of oleonic acid derivatives and inhibition of the saponin induced hemolysis with saponins. *J. Pharmacol* 4: 833-837.
- Hemingway, J., M. Rowland y K.E. Kissoon (1984). Efficacy of pirimiphos Methyl as a Larvicide or Adulticide Against insecticide Resistant and susceptible Mosquitoes (Diptera Culicidae). *Journal of Economic Entomology* 77: 868-871.
- Julman, R., V. Cermeño y R. Torres Josep (1998). Método espectrofotométrico en la preparación del inóculo de hongos dematiáceos. *Revista Iberoamericana de Micología* 15: 155-157.
- Leroux, P., F. Chapeland, D. Desbrosses y M. Gredt (1999). Patterns of cross-resistance to fungicides in *Botryotinia fuckeliana* (*Botrytis cinerea*) isolates from French vineyards- Biological and Chemical Approaches. *Crop Protection* 18: 687- 697.
- Lozano-Muñiz, S., J.S. García-Alvarado, N.L. Heredia-Rojas y R. Castro-Franco (2011). Species of Agave induces morphological changes in *Aspergillus parasiticus* Speare and *Aspergillus flavus* Link ex Fries. *Journal of Food Agriculture and Environment* 9: 767-770.
- Lozano-Muñiz, S.E., Sánchez-García, J.S. García-Alvarado y N.L. Heredia-Rojas (1999). Antifungal activity of extracts of Agavaceae against *Aspergillus flavus* Link. and *A. parasiticus* Spear FCB UANL. 99th General Meeting, American Society for Microbiology, Chicago, Illinois, USA, pp. 197.
- Mann, J. (1978). Secondary Metabolism. Oxford University Press, pp. 237-278.
- Melgarejo, P., R. Raposo, C. Moyano y V. Gómez (2002). Control integrado de *Botrytis cinerea* en cultivos hortícolas de invernadero. *Phytoma* 135: 125-127.
- Nelson, P., T. Toussoun y W. Marasas (1983). *Fusarium* species: An illustrated Manual for Identification. Pennsylvania State University Press. University Park. 190 p.
- Osborn, A.E. (1996). Preformed Antimicrobial Compounds and Plant Defense against Fungal Attack. *Plant Cell* 8: 1821-1831.
- Putnam, A.R. y J. DeFrank (1983). Use of phytotoxic plant residues for Selective weed control. *Crop Protection* 2: 173-181.
- Russell, E.M., R.B. Wagner, P.R. Ulshafer, E.L. Wittbecker, D.P.J. Goldsmith y C.H. Ruof (1943). Isolation and structures of thirteen new steroidal saponinins. New sources for Known saponinins. *Journal of American Chemistry Society* 65: 1199-1209.
- Sneh, B., L. Burper y A. Ogoshi (1991). Identification of *Rhizoctonia* species. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota, USA. 133 p.

- Tequida-Meneses, M., M. Cortez-Rocha, E.C. Rosas-Burgos, S. López-Sandoval y C. Corrales-Maldonado (2002). Efecto de extractos alcohólicos de plantas silvestres sobre la inhibición de crecimiento de *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium expansum*, *Fusarium moniliforme* y *Fusarium poae*. *Rev. Iberoamericana. Micología* 19: 84-88.
- Velásquez, G.C. (1997). Estudio fitoquímico y actividad antimicrobiana de *Tiquila canescens*. Tesis FCB-UANL, pp. 10-14.
- Verástegui, M.A. (2000). Evaluación de la actividad antimicrobiana de compuestos de *Agave* y su acción sobre el tigmotropismo y dimorfismo de *Candida albicans*. Tesis FCB-UANL. México.
- Wilson, C.L. y M.E. Wisniewski (1989). Biological Control of Post-harvest Diseases of Fruits and Vegetables: An Emerging Technology. *Annual Review of Phytopathology* 27: 425-441.
- Zhang, Y. y K. Lewis (1997). F abatins: New antimicrobial plant peptides. *Fems Microbiology Letters* 149: 59-64.