

## Actividad antifúngica *in vitro* del aceite esencial de *Swinglea glutinosa* Merr sobre *Colletotrichum* sp. patógeno de mango (*Mangifera indica* L.).

*In vitro* antifungal activity of the essential oil of *Swinglea glutinosa* Merr against mango (*Mangifera indica* L.) pathogen *Colletotrichum* sp.

Yessica Camargo Piñeres\*, Gisela Zambrano Montenegro\*\*, Mailen Ortega-Cuadros\*\*\*, Deivis J. Gutierrez Montero\*\*\*\*, Jayr A. Yepes\*\*\*\*\*

DOI: 10.15446/rev.colomb.biote.v23n1.88025

### RESUMEN

Se evaluó la actividad antifúngica del aceite esencial de limón de cerca (*Swinglea glutinosa*) sobre el hongo *Colletotrichum* sp. aislado de frutos de mango (*Mangifera indica* L.). El aceite esencial, se obtuvo por hidrodestilación de hojas y corteza del fruto, y mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas se determinó la fitoquímica. Se identificaron presuntamente 41 metabolitos secundarios, siendo los compuestos mayoritarios  $\beta$ -pineno (31.3 %),  $\alpha$ -pineno (15.1%) y germacreno D (14.4 %). El aceite esencial inhibió el crecimiento del hongo en un 31.16 %, 52.77 % y 82.41 % en ensayo de dilución en agar, a las concentraciones de 0.3, 1 y 2 % respectivamente, con diferencias entre todos los tratamientos evaluados ( $p=0.000$ ). En ensayo de dilución en caldo se registró inhibición de la germinación de esporas de 0, 19.47, 41.03 y 100 % ( $p=0.000$ ) a concentraciones de 0, 2, 4 y 8  $\mu\text{L}/\text{mL}$ . Adicionalmente, en ensayo de microatmósfera se presentó una inhibición de máxima de 22,97 % del crecimiento micelial con adición de 20  $\mu\text{L}$  de aceite esencial por caja de Petri ( $p=0.000$ ). Este trabajo encontró que el aceite esencial de *S. glutinosa* ejerce inhibición dosis-dependiente sobre el crecimiento micelial y la germinación de esporas de *Colletotrichum* sp.

**Palabras clave:** extracción, antimicrobiano, *in vitro*, inhibición.

### ABSTRACT

The antifungal activity of the essential oil of *Swinglea glutinosa* on the fungus *Colletotrichum* sp. isolated from mango (*Mangifera indica* L) fruit was evaluated. The essential oil was obtained by hydrodistillation of leaves and fruit rind, and phytochemistry was determined by gas chromatography coupled to mass spectrometry. Forty-one secondary metabolites were presumptively identified, the major compounds being  $\beta$ -pinene (31.3 %),  $\alpha$ -pinene (15.1 %) and germacrene D (14.4 %). The essential oil inhibited fungal growth by 31.16 %, 52.77 % and 82.41 % in agar dilution assay, at concentrations of 0.3, 1 and 2 % respectively, with differences

\* Universidad Popular del Cesar, Sede Sabanas Diagonal 21 No. 29-56, Valledupar, Colombia, Orcid 0000-0002-8266-1907, ykcamargo11@gmail.com.

\*\* Universidad Popular del Cesar, Sede Sabanas Diag. 21 No. 29-56, Valledupar, Colombia, Orcid 0000-0003-1769-8348, gisellazambrano3@gmail.com.

\*\*\* cPhD. en Biotecnología, MSc en Microbiología y Bioanálisis, Microbiología. Universidad de Antioquia, Cl. 67 No. 53-108, Medellín, Colombia, Orcid 0000-0002-4977-1709, mailen.ortega@udea.edu.co.

\*\*\*\* MSc Ingeniería Agroindustrial, Microbiología, Universidad Popular del Cesar, Sede Sabanas Diag. 21 No. 29-56, Valledupar, Colombia, Orcid 0000-0002-1567-973, deivisgutierrez@unicesar.edu.co.

\*\*\*\*\* Universidad Popular del Cesar, Sede Sabanas Diag. 21 No. 29-56, Valledupar, Colombia, Orcid 0000-0002-0730-6921, jayryepes@unicesar.edu.co.

among all treatments evaluated ( $p=0.000$ ). In the broth dilution test, spore germination inhibition of 0, 19.47, 41.03 and 100 % ( $p=0.000$ ) was recorded at concentrations of 0, 2, 4 and 8  $\mu\text{L}/\text{mL}$ . Additionally, in microatmosphere assay, a maximum inhibition of 22.97 % of mycelial growth was presented with the addition of 20  $\mu\text{L}$  of essential oil per Petri dish. This work found that the essential oil of *S. glutinosa* exerts dose-dependent inhibition on mycelial growth and spore germination of *Colletotrichum* sp.

**Keywords:** extraction, antimicrobial, *in vitro*, inhibition.

**Recibido:** octubre 20 de 2020      **Aprobado:** mayo 3 de 2021

## INTRODUCCIÓN

El mango es una de las cinco frutas más consumidas en Colombia, su producción se concentra en el centro y norte del país (Minsalud, 2013). Los departamentos de Cundinamarca y Tolima representan más de la mitad de la producción de mango con una producción conjunta en el año 2018 de 163.918 toneladas, seguidos de los departamentos de Atlántico, Magdalena, Córdoba, Bolívar y Cesar; los cuales superaron individualmente en ese año las 10.000 toneladas anuales (Agronet, 2020).

La antracnosis es la enfermedad más prevalente y con mayor impacto sobre los cultivos de mango en Colombia y en el mundo. Se manifiesta por necrosis o manchas en ramitas, hojas, panículas florales y frutos. En hojas se pueden observar lesiones pequeñas que pueden agrandarse hasta afectar mayores porciones de las hojas. Las ramitas infectadas se tornan de color negro con avance desde la punta hacia la base. En las panículas florales la infección causa una coloración negra y la caída de las flores y frutos que apenas comienzan a formarse. En los frutos, la enfermedad presenta diferente severidad de acuerdo con el estado de desarrollo de los mismos; mientras que los frutos pequeños pueden sufrir momificación, los más grandes presentan manchas levemente hundidas de color pardo a marrón oscuro. La distribución de las manchas en los frutos tiende ser hacia el pedúnculo, en alguno. (Páez 2003; Tovar-Pedraza *et al.*, 2020).

Se creía que *C. gloeosporioides* era el principal patógeno de la antracnosis del mango y de otras frutas tropicales, principalmente debido al uso de caracteres morfológicos para la identificación, no obstante, luego de análisis de secuencias génicas han encontrado con frecuencia a especies como *C. asianum*, *C. siamense*, *C. fructicola*, *C. C. scovillei* y *C. tropicale* (Li *et al.*, 2019; Quintero *et al.*, 2019).

En Colombia, las cosechas de mango presentan pérdidas de un 40% debido a la antracnosis producida por *Colletotrichum* sp (Páez 2003), cuya frecuencia de aparición está relacionada con aspectos climáticos como la temperatura, humedad relativa, y otros factores determinantes (Huerta *et al.*, 2009, Adorno y Soilán 2018).

En este sentido, productos de origen vegetal como los extractos y aceites esenciales provenientes de plantas cítricas y aromáticas se han considerado para el control de hongos fitopatógenos tanto en cosecha como en post-cosecha (Landeró-Valenzuela 2016). Esta última etapa es crítica, es por ello que los aceites esenciales con efecto anti-fúngico constituyen una alternativa como componente inhibidor en formulaciones de recubrimientos comestibles diseñados para reducir el deterioro y las infecciones de origen fúngico en la etapa post-cosecha (Rimá de Oliverira *et al.*, 2017)

*Swinglea glutinosa* Merr es una especie vegetal, conocida comúnmente como limón de cerca, perteneciente a la familia Rutaceae y reconocida por su utilización en la formación de cercas vivas (Segovia *et al.*, 2000); además, el extracto de este ornamento ha sido reportada para controlar arvenses (Gil *et al.*, 2010) y algunas enfermedades fúngicas en ciertos cultivos (Hincapié *et al.*, 2017). La presente investigación tiene como objetivo evaluar el efecto antifúngico *in vitro* del aceite esencial de *S. glutinosa* sobre hongo fitopatógeno *Colletotrichum* sp.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Extracción de aceite esencial (AE) por hidrodestilación

El material vegetal se tomó de una finca en las cercanías de la ciudad de Valledupar (Colombia), con una altitud de 200 m.s.n.m. y temperatura promedio anual de 28 ° C. La extracción de AE se realizó mediante la técnica de hidro-destilación usando un destilador tipo Clevenger con un balón de 4000 mL. Se realizaron 11 destilaciones, cada una con 300 g de exocarpio del fruto de *S. glutinosa* en 1000 mL de agua, adicionalmente de 6 destilaciones, cada una con 200 g de hojas picadas en 1000 mL de agua. El tiempo de extracción para cada ciclo fue de 2 horas. A partir de la relación entre la cantidad de AE obtenido y la biomasa utilizada se calculó el rendimiento de la destilación (León *et al.*, 2015).

### Determinación cromatográfica de la cantidad relativa y los componentes del AE

La composición química volátil (cantidad relativa e identificación tentativa) se contrató como servicio externo. Fue realizado por el Laboratorio de Cromatografía y

Espectrometría de Masas (CROM-MASS) de la Universidad Industrial de Santander (UIS). Se realizó según método basado en la Norma ISO 7609-1985 (E): *Essential oils - Analysis by gas chromatography on capillary columns - General method*, empleando como material de referencia la mezcla certificada de trihalometanos (AccuStandard, New Haven, CT). La preparación de las muestras se llevó a cabo por dilución e inyección directa de los aceites esenciales al equipo cromatográfico. Se utilizó un cromatógrafo de gases AT 6890 Series Plus (Agilent Technologies, Palo Alto, California, EE.UU.), acoplado a un detector selectivo de masas (Agilent Technologies, MSD 5975) operado en el modo de barrido completo de radiofrecuencia (*full scan*). La columna empleada en el análisis fue DB-5MS (*J & W Scientific, Folsom, CA, EE.UU.*) [5%-Fenil-poli(dimetilsiloxano), 60 m + 0.25 mm x 0.25  $\mu$ m]. La inyección se realizó en modo Split (30:1),  $V_{iny} = 2 \mu$ L. La identificación presuntiva de los compuestos registrados en la muestra de aceite esencial, se basó en sus espectros de masas (EI, 70eV); usando las bases de datos de Adams, Wiley y NIST.

**Obtención de aislado de *Colletotrichum* sp. de frutos de mango:** Frutos de mango con antracnosis fueron desinfectados con inmersión en solución de hipoclorito de sodio 1% durante 2 minutos seguido de tres lavados consecutivos con agua destilada estéril. Porciones de 5 mm<sup>2</sup> de los bordes de las lesiones del fruto fueron sembrados en placas Petri con medio jugo de verduras V8® y se incubaron a 25  $\pm$  2 °C por un máximo de 8 días (Saldarriaga-Cardona *et al.*, 2008). A partir de micelio de sub-cultivos se obtuvieron suspensiones conidiales, de las cuales se inoculó 1 mL por siembra en profundidad en placas Petri con agar agua ( ) y se incubó a 25  $\pm$  2 °C por 24h. Conidios germinados y bien separados fueron transferidos a placas con medio jugo V8® hasta obtener un cultivo axénico monospórico (Olalde-Lira *et al.*, 2020).

La identificación morfológica de *Colletotrichum* se realizó teniendo en cuenta las características típicas de este género (Oliveira *et al.*, 2005; Hyde *et al.*, 2009; Weir *et al.*, 2012).

### Prueba de patogenicidad

En este paso se determinó la patogenicidad del aislado seleccionado. Frutos de mango variedad "hilaza" sanos y fisiológicamente maduros fueron desinfectados con inmersión en hipoclorito de sodio al 2.5 % durante 2 minutos, seguido del enjuague con agua destilada estéril. Posteriormente se practicaron incisiones de 7 mm en los frutos y se inoculó una suspensión conidial de *Colletotrichum* sp. con 2,5x10<sup>5</sup> conidios ml<sup>-1</sup> siguiendo la metodología descrita por Rondón *et al.*, (2006). Los frutos se mantuvieron en cámara húmeda por 7 días con la finalidad de confirmar la sintomatología y morfología del hongo en los frutos.

### Cuantificación de la actividad antifúngica *in vitro* del aceite esencial de *S. glutinosa* sobre *Colletotrichum* sp.

#### Inhibición del crecimiento por técnica de dilución en agar:

Inicialmente se obtuvieron placas de agar con diferentes concentraciones de aceite esencial; para ello, a tubos de ensayo con agar jugo V8® estériles y aún líquidos (45°C), se les adicionó AE de *S. glutinosa* hasta obtener concentraciones finales de 0.3, 1 y 2 % (v/v), inmediatamente se homogenizó, se distribuyó en placas de 9 cm de diámetro y se dejó solidificar y secar en esterilidad.

A cada agar se le realizó un pozo central de 5 mm de diámetro con sacabocados estériles. En cada tratamiento se le añadió al pozo 0.1 mL de una suspensión de conidial con 4x10<sup>4</sup> conidios mL<sup>-1</sup> de *Colletotrichum* sp. y Tween 80 al 0,01 %. Posteriormente, las cajas se incubaron a 25  $\pm$  2 °C. A los 11 días se midieron dos diámetros perpendiculares de cada colonia en los grupos de tratamientos y grupo control sin AE. Se determinó la acción antifúngica en relación con el grupo control sin AE. (Gameda *et al.*, 2014; Velásquez 2014). El ensayo se realizó por triplicado.

#### Cuantificación de la inhibición de germinación de conidios:

se utilizó un cultivo de 15 días de crecimiento para la obtención de los conidios; primero se agregó 5 mL Tween 80 al 0,1 % estéril y se esparció con una varilla de vidrio en forma de L. La suspensión se recogió y se centrifugó a 2000 rpm durante 5 minutos; el sobrenadante se descartó y se volvió a centrifugar para obtener una suspensión de esporas más concentrada, luego se realizó recuento de esporas en cámara de Neubauer y se ajustó a 2x10<sup>5</sup> esporas mL<sup>-1</sup> (Gameda *et al.*, 2014).

En este ensayo se utilizó caldo jugo V8 al 5% clarificado. Para su preparación se centrifugó 10 mL de jugo V8 a 10000 g durante 5 minutos, el sobrenadante se pasó por papel filtro cualitativo número 1, se tomó 5 mL de este caldo clarificado y se adicionaron en 95 mL de agua destilada con 0,1 g de CaCO<sub>3</sub> y 0,1 mL de Tween 80. El caldo se esterilizó a 121°C y 15 psi por 15 minutos en autoclave.

En matraces estériles de 100mL se dispensaron 5mL de caldo Jugo V8® al 5% clarificado, se adicionó 1mL de la solución de esporas de 2x10<sup>5</sup> previamente preparada y se añadió aceite esencial hasta obtener concentraciones 2, 4 y 8  $\mu$ L mL<sup>-1</sup>. Al control no se le adicionó aceite esencial. Este procedimiento se realizó por triplicado con cada concentración. Los tratamientos se incubaron por 24 horas a 33 °C en un agitador rotatorio a 60 rpm con control de temperatura, posteriormente se realizó recuento de conidios germinado y no germinados en cámara de Neubauer. El porcentaje de inhibición de la

germinación de espora se calculó como con la siguiente ecuación:

$$\text{Inhibición de la germinación} = \frac{(cc - ct)}{cc} * 100$$

Dónde: cc es conidios germinados del control y ct es conidios germinados en tratamiento.

**Inhibición en Test de microatmósfera:** el efecto inhibitorio *in vitro* de la fase volátil se estimó siguiendo el ensayo de micro-atmósfera descrito por Gwinn *et al.*, (2010) con algunas modificaciones. En el centro de cajas Petri con agar jugo V8® estériles se colocó un disco de agar de 5 mm de diámetro con micelio activo de *Colletotrichum sp.*, seguidamente se invirtieron las cajas y en cada una se adhirió en la parte central de la tapa un disco papel filtro de 5 mm de diámetro impregnado con 20 o 30  $\mu$ L de aceite esencial de *S. glutinosa* de acuerdo al tratamiento, con excepción del grupo control (agua destilada). Cada caja fue sellada con una película extensible de PVC para evitar la salida de los vapores del AE e incubada durante 8 días a  $25 \pm 2$  °C. La inhibición se estimó basado en las diferencias de los diámetros de la colonia en cada tratamiento y el control. Este procedimiento se realizó por triplicado.

#### Análisis estadístico

Se utilizó análisis de varianza de una vía (ANOVA; alfa= 0.05) y posterior comparación de medias mediante prueba de Tukey (alfa= 0.05). Finalmente se aplicó análisis de regresión lineal para determinar el grado de correlación entre las variables cuantitativas de los ensayos de dilución en agar (crecimiento micelial) y dilución líquida (germinación de esporas). Se utilizó el paquete estadístico Minitab® versión 17.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### Rendimiento del proceso de hidrodestilación

El rendimiento de aceite esencial *S. glutinosa* obtenido por hidro-destilación fue 0.14% a partir de la corteza del fruto y 0.04% de las hojas de la planta. Ambos valores inferiores a los obtenidos por Stashenko *et al.* (2015), quienes mediante destilación por vapor obtuvieron un rendimiento de 0.75 % con la corteza del fruto y del 0.25% con hojas con la misma especie. A partir de la corteza del fruto y en condiciones similares a las utilizadas en este trabajo, Jaramillo-Colorado *et al.* (2020), reportaron un rendimiento de 0.53 %, y Bueno-Sánchez *et al.* (2009), del 0.7 %. Estas diferencias, además de estar influenciadas por el origen de la materia prima y las variables del proceso, se ve afectado por el grosor del exocarpo que es extraído de los frutos, ya que el aceite

esencial se encuentra casi exclusivamente en la capa más externa o albedo (Yang *et al.*, 2017).

#### Determinación cromatográfica de la cantidad relativa y los componentes del AE

En la tabla 1 se muestran los componentes identificados en el aceite esencial de *S. glutinosa*; en total se identificaron 41 metabolitos secundarios en concentraciones superiores a 0,01 % (ver gráfico 1). Los componentes mayoritarios detectados fueron  $\beta$ -pineno (31,3%),  $\alpha$ -pineno (15,1%), germacreno D (14,4%), trans-nerolidol (5,6%) y sabineno (5,4%). Estos resultados son similares a los de Bueno-Sánchez *et al.* (2009), quienes reportaron  $\beta$ -pineno (49.6%),  $\alpha$ -pineno (12%) y sabineno (11.0%) como componentes principales del AE de corteza del fruto de *S. glutinosa* de la ciudad Bucaramanga (Colombia). No obstante, en otro estudio con material de Bucaramanga, se encontró al sesquiterpeno trans-nerolidol como componente mayoritario del AE de las hojas (28.42 %) y de la corteza del fruto (19.14 %) de *S. glutinosa* (Stashenko *et al.*, 2015). Trans-nerolidol (34.6%) también fue reportado como el componente predominante del AE de la corteza del fruto de *S. glutinosa* por Jaramillo-Colorado *et al.* (2020) seguido de nerolidol acetato (9.8%) y los monoterpenos  $\beta$ -pineno (8.5%),  $\alpha$ -terpineol (6.5%) y limoneno (5.2%) en materia prima obtenida de Cartagena (Colombia). Estas variaciones pueden atribuirse a condiciones edafo-climáticas, genotipo, estación anual y estado fisiológico de las plantas (Ferhat *et al.*, 2014; Alshaili, 2018)

#### Obtención de aislado de *Colletotrichum sp.* de frutos de mango

Se obtuvo un aislamiento de *Colletotrichum sp.*, el cual presentó inicialmente micelio blanco, que con el tiempo se tornó grisáceo y con aparición de conidios color rosado; microscópicamente se observaron conidios oblongos unicelulares, hialinos con extremos obtusos a redondeados y aparición de espinas negras o setas.

La patogenicidad del hongo aislado fue confirmada. Los frutos inoculados presentaron a partir del cuarto día lesiones café oscuras a negras consistentes con antracnosis (Konsue *et al.*, 2020), mientras que los frutos no inoculados (control) no presentaron signos de la enfermedad.

#### Evaluación de la actividad antifúngica *in vitro* del aceite esencial de *S. glutinosa*, sobre *Colletotrichum sp.*

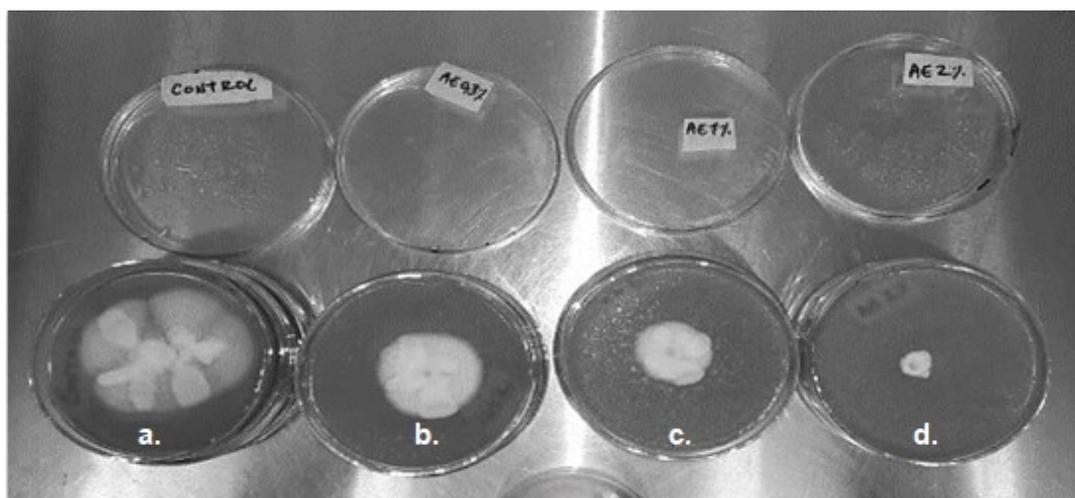
**Evaluación por técnica de dilución en agar:** En la imagen 1 se pueden observar cajas representativas de cada tratamiento. Todas las concentraciones de AE evaluadas (0,3% 1% y 2%) mostraron inhibición del crecimiento radial del 31.16 a hasta un máximo de 82.41 % (Tabla 2). De acuerdo al ANOVA se encontraron diferencias

significativas entre los diferentes tratamientos ( $p=0.000$ ). Así mismo, se encontró un  $r^2=0.9244$  en el análisis de regresión lineal, lo cual indica una importante correlación entre la inhibición y la concentración del aceite esencial. Previamente se ha reportado que los enantiómeros de los monoterpenos  $\beta$ -pineno y  $\alpha$ -pineno, en este caso los componentes mayoritarios del aceite esencial, poseen actividad inhibitoria sobre *Colletotrichum gloeosporioides* (Hong *et al.*, 2015), así como sobre levaduras como *Candida albicans* y *Cryptococcus neoformans* (Rivas *et al.*, 2012). No obstante, no puede atribuirse la inhibición del crecimiento micelial solo a estos dos compuestos, debe tenerse en cuenta que la toxicidad de los AE sobre las células microbianas depende no solo del efecto aislado de los compuestos mayoritarios, sino también de los efectos sinérgicos entre todos sus componentes (Hyldgaard *et al.*, 2012). En general, los componentes de los AE interfieren con la formación de la pared celular, además, debido a su naturaleza lipofílica pueden ingresar en la célula y causar daño en membrana internas (Sil *et al.*, 2020).

**Evaluación por Test de inhibición de germinación de esporas:** El AE de *Swinglea glutinosa* inhibió la germinación de las esporas de *Colletotrichum* sp. en hasta el 100 % a una concentración del 8  $\mu\text{L/mL}$  (Tabla 3). El análisis de regresión lineal arrojó un r-cuadrado de 94,23%, lo que indica una clara correlación entre la concentración de aceite y la inhibición de la germinación de los conidios. Este resultado muestra que se requiere una dosis considerablemente menor para lograr la inhibición completa de la germinación de los conidios de *Colletotrichum* sp. que para causar la detención completa del crecimiento de micelial; lo que coincide con lo reportado por Hong *et al.* (2015), y He *et al.* (2018), estos últimos lograron la inhibición completa de la germinación

de *C. acutatum* con aceite esencial de canela a una concentración de 0.175  $\mu\text{L/mL}$  (v/v), mientras que para el crecimiento micelial se requirió una concentración de 0.200  $\mu\text{L/mL}$ . Duduk *et al.* (2015), reportaron diferencias incluso mayores al utilizar los AE de canela, tomillo y clavo contra *Colletotrichum acutatum*; mientras que el efecto fungistático completo sobre el micelio se logró a 667  $\mu\text{L/l}$  en todos los aceites, la fase volátil inhibió completamente la germinación conidial a concentraciones de 1.53, 15.3 y 76.5  $\mu\text{L/l}$  respectivamente. Los mecanismos diferenciales de los AE sobre las conidias y el micelio de *Colletotrichum* y otros géneros de hongos fitopatógenos no están bien establecidos; no obstante, la capacidad para inhibir la germinación conidial y reducir la formación de apresorios, hacen de los aceites esencial un componente potencialmente valioso en la formulación de recubrimientos post-cosecha de frutas y hortalizas (Rimá de Oliveira *et al.*, 2017).

**Evaluación por Test de microatmósfera:** los dos volúmenes de AE utilizados (20 y 30  $\mu\text{L/ caja}$ , con concentraciones aproximadas de 0.30 y 0.46  $\mu\text{L/cm}^3$ ) inhibieron el crecimiento radial de *Colletotrichum* sp. en un 22,97% con respecto al control (Tabla 4). El análisis de varianza y Test de Tukey indicaron que no existen diferencias entre los tratamientos con AE, pero si difieren con respecto al control ( $p=0.000$ ). Las concentraciones utilizadas no permitieron que luego de 8 días se pudieran detectar diferencias entre las concentraciones utilizadas. Mientras que la dilución en agar garantiza el contacto directo del aceite con las hifas tanto superficiales como las que penetran en el agar, la exposición en microatmósfera afecta mayoritariamente las hifas superficiales o la germinación conidial. Entre los aceites con mayor poder inhibitorio contra *Colletotrichum* spp. se encuentra la canela común y especies relacionadas; Rabari *et al.*



**Imagen 1.** Inhibición de *Colletotrichum* sp. a diferentes concentraciones de aceite esencial en test de dilución en agar. a. control 0 %; b. 0.3% AE; c. 1%; d. 2%

Misc Info : Aceite esencial de Swinglea glutinosa

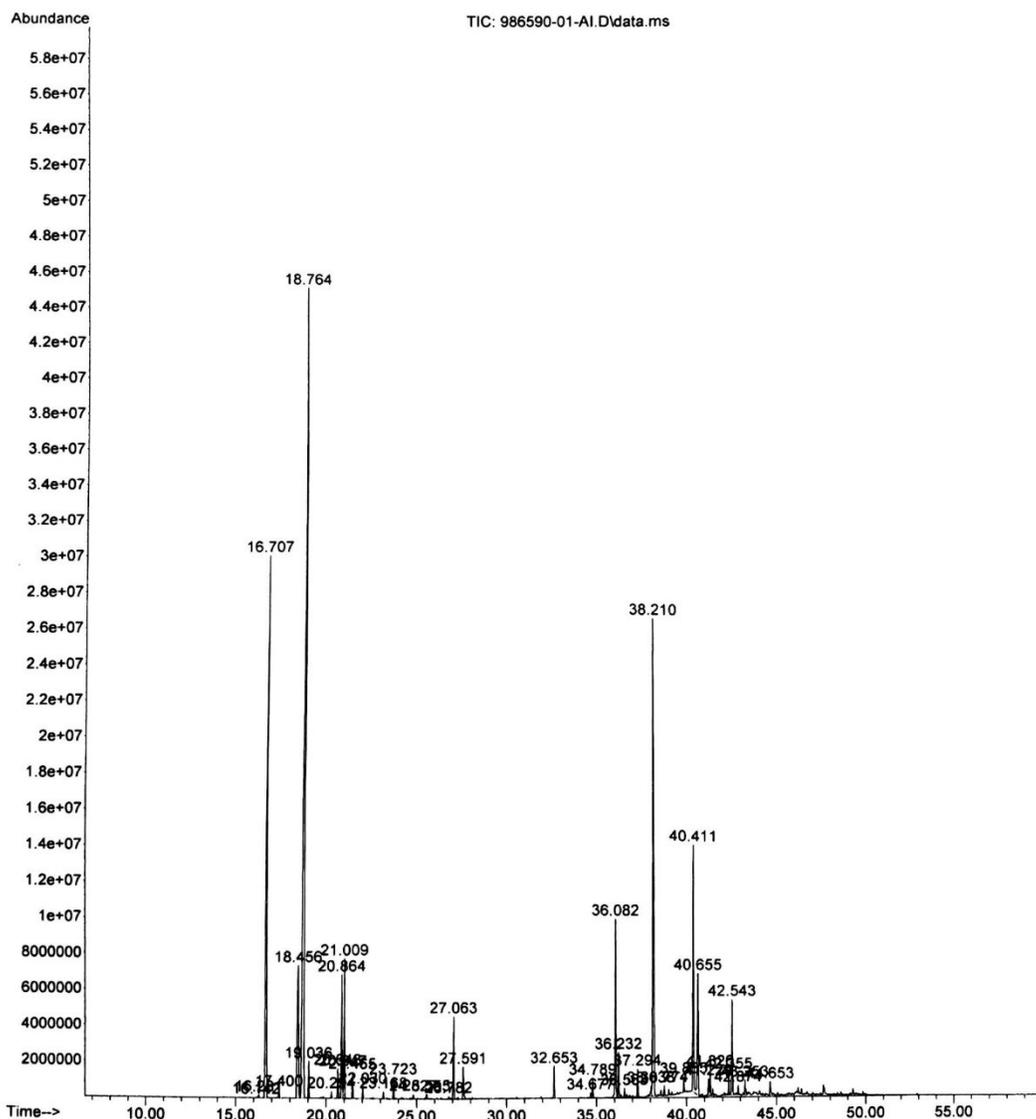


Figura 1. Cromatograma del aceite esencial de *S. glutinosa*.

(2018), por ejemplo, evaluaron 75 aceites esenciales contra *C. gloeosporioides* utilizando 5  $\mu$ L por caja, y encontraron mayor diámetro de inhibición con los AE de cassia (*Cinnamomum cassia*) y canela común (*Cinnamomum zeylanicum*); Duduk *et al.* (2015), con tres AE (canela, tomillo y clavo) lograron mayor inhibición de *C. acutatum* a concentraciones menores a las utilizadas en este estudio.

## CONCLUSIONES

$\alpha$ -pineno y  $\beta$ -pineno son componentes mayoritarios (46,4 %) del aceite esencial en este estudio, los cuales han sido reportados por su efecto antifúngico. El aceite esencial de *Swinglea glutinosa* inhibió a *Colletotrichum* sp. en función de la concentración. Se logró una inhibición máxima del 82.41 % del crecimiento micelial y la

Tabla 1. Identificación tentativa y cantidad relativa (%) de los componentes presentes en el AE de *S. glutinosa*.

tR, min	Identificación tentativa	Cantidad relativa, %
		AE de <i>S. glutinosa</i>
16,14	Triciclano	< 0,1
16,28	$\alpha$ - Tujeno	0,1
16,71	$\alpha$ - Pineno	15,1
17,40	Canfeno	0,2
18,46	Sabineno	5,4
18,76	$\beta$ - Pineno	31,3
19,04	$\beta$ - Mircenol	0,7
20,29	$\alpha$ - Terpineno	0,1
20,64	<i>p</i> - Cimenol	0,6
20,86	Limoneno	2,9
20,95	$\beta$ - Felandreno	0,5
21,01	<i>cis</i> - $\beta$ - Ocimenol + 1,8-cineol	2,6
21,47	<i>trans</i> - $\beta$ - Ocimenol	0,5
22,03	$\gamma$ -Terpineno	0,2
23,17	Terpinoleno	0,1
23,72	Linalol	0,4
24,83	allo - Ocimenol	0,1
25,56	Compuesto oxigenado M* 154(C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O)	0,1
26,78	Borneol	0,1
27,06	Terpinen - 4 - ol	1,8
27,59	$\alpha$ - Terpineol	0,7
32,65	$\delta$ - Elemeno	0,7
34,68	$\beta$ - Bourboneno	0,1
34,79	$\beta$ - Elemeno	0,5
36,08	<i>trans</i> - $\beta$ - Cariofileno	4,4
36,23	$\gamma$ -Elemeno	0,9
36,56	Sesquisabineno	0,2
37,29	$\alpha$ - Humuleno	0,6
38,04	$\alpha$ - Amorfenol	0,4
38,21	Germacreno D	14,4
38,77	Compuesto M* 204(C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> )	0,2
39,86	Compuesto oxigenado M* 220(C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O)	0,3
40,41	<i>trans</i> - Nerolidol	5,6
40,66	Germacreno B	3,7
41,23	Compuesto oxigenado M* 220(C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O)	0,4
41,33	Oxido de cariofileno	0,6
42,36	Compuesto oxigenado M* 222(C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O)	0,4
42,54	Compuesto oxigenado M* 220(C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O)	2,1
42,87	Compuesto M* 204(C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> )	0,2
43,25	$\alpha$ - Cadinol	0,4
44,65	Compuesto oxigenado M* 220(C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O)	0,3

**Tabla 2.** Inhibición de *Colletotrichum* sp. por aceite esencial de *S. glutinosa* en dilución en agar a los 11 días de incubación.  
\* Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Tratamientos	Diámetro de colonia (mm)	Desviación estándar	Porcentaje Inhibición (%)	Agrupación (Tukey)*
0,3% AE	45,67	3,51	31,16	B
1% AE	31,33	1,52	52,76	C
2 % AE	11,67	1,52	82,41	D
Control sin AE	66,33	3,79	0	A

**Tabla 3.** Inhibición de la germinación de esporas de *Colletotrichum* sp. en el Test de germinación en presencia de aceite esencial (AE) de *S. glutinosa* a las 24 horas de incubación.

\* Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Tratamientos	Germinación (%)	Desviación estándar	Inhibición (%)	Agrupación (Tukey)*
0 µL/ml AE. (control)	100%	0	0	A
2 µL/ml AE (T1)	80,53 %	17,37	19,47	AB
4 µL/ml AE (T2)	58,97 %	11,11	41,03	B
8 µL/ml AE (T3)	0 %	0	100	C

**Tabla 4.** Inhibición de *Colletotrichum* sp. por aceite esencial de *S. glutinosa* en prueba de microatmósfera a los 8 días de incubación.

Tratamientos	Diámetro de colonia (mm)	Desviación estándar	Porcentaje Inhibición (%)	Agrupación (Tukey)*
T1 (20µL AE)	50,3	2,08	22,97	B
T2 (30µL AE)	50,3	2,08	22,97	B
Control ( sin AE)	65,3	1,15	0	A

inhibición completa de la germinación de esporas de *Colletotrichum* sp en medio líquido.

#### AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Universidad Popular del Cesar y a Tecnoparque SENA, Nodo Valledupar por el apoyo en relación con el uso de equipos e infraestructura.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adorno, M., & Soilán, L.C. (2018). Effect of fungicides on anthracnose (*Colletotrichum fragariae* Brooks) on strawberry plants [*Fragaria × ananassa* (Duchesne ex Weston) Duchesne ex Rozier]. *Investigación Agraria*,

20(1), 38-50. <https://doi.org/10.18004/investig.agrar.2018.junio.38-50>.

Afanador-Kafuri, L., Minz, D., Maymon, M., & Freeman, S. (2003). Characterization of *Colletotrichum* isolates from tamarillo, passiflora, and mango in Colombia and identification of a unique species from the genus. *Phytopathology*, 93(5), 579-587. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2003.93.5.579>.

AgroNet (Red de Información y Comunicación del Sector Agropecuario de Colombia). (2020). Sistema de estadísticas agropecuarias.

Alsohaili, S. (2018). Seasonal Variation in the Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oil Extracted from *Achillea fragrantissima* Grown in

- Northern - Eastern Jordanian Desert. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 21(1), 139-145. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2018.1446848>.
- Bueno-Sánchez, J. G., Martínez-Morales, J. R., Stashenko, E. E., & Ribón, W. (2009). Anti-tubercular activity of eleven aromatic and medicinal plants occurring in Colombia. *Biomedica*, 29(1), 51-60. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v29i1.41>.
- Dávila, M. D., Gallegos, G., Hernández, F. D., Ochoa, Y. M., & Flores, A. (2013). Actinomicetos antagónicos contra hongos fitopatógenos de importancia agrícola. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 4(8), 1187-1196.
- Duduk, N., Markovic, T., Vasic, M., Duduk, B., Vico, I., & Obradovic, A. (2015). Antifungal activity of three essential oils against *Colletotrichum acutatum*, the causal agent of strawberry anthracnose. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 18(3), 529-537. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2015.1004120>.
- Ferhat, M., Kabouche, A., & Kabouche, Z. (2014). Comparative compositions of essential oils of three *Ruta* species growing in different soils. *Journal of Materials and Environmental Science*, 5(3), 735-738.
- Gemeda, N., Woldeamanuel, Y., Asrat, D., & Debella, A. (2014). Effect of essential oils on *Aspergillus* spore germination, growth and mycotoxin production: a potential source of botanical food preservative. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4(1), 373-381. <https://doi.org/10.12980/APJTB.4.2014C857>.
- Gil, A. I., Celis, Á., & Cuevas, J. C. (2010). Efecto inhibitorio de extractos de *Swinglea glutinosa* (Blanco) Merr. y *Lantana camara* L. en preemergencia y posemergencia. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 4(2), 223-234.
- Gwinn, K. D., Ownley, B. H., Greene, S. E., Clark, M. M., Taylor, C. L., Springfield, T. N., ... Hamilton, S. L. (2010). Role of essential oils in control of *Rhizoctonia* damping-off in tomato with bioactive monarda herbage. *Disease Control and Pest Management*, 100(5), 493-501. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-100-5-0493>.
- He, J., Wu, D., Zhang, Q., Chen, H., Li, H., Han, Q., ... Qin, W. (2018). Efficacy and mechanism of cinnamon essential oil on inhibition of *Colletotrichum acutatum* isolated from 'Hongyang' Kiwifruit. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1288. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01288>.
- Hincapié, O. D., Saldarriaga, A., & Díaz, C. (2017). Biological, botanical and chemical alternatives for the control of blackberry (*Rubus glaucus* Benth.) diseases. *Revista Facultad Nacional de Agronomía*, 70(2), 8169-8176. <https://doi.org/10.15446/rfna.v70n2.6452>.
- Hong, J. K., Yang, H. J., Jung, H., Yoon, D.J., Sang, M. K., & Jeun, Y.C. (2015). Application of volatile antifungal plant essential oils for controlling pepper fruit anthracnose by *Colletotrichum gloeosporioides*. *The Plant Pathology Journal*, 31(3), 269-277. <https://doi.org/10.5423/PPJ.OA.03.2015.0027>.
- Huerta, G., Holguín, F., Benítez, F., & Toledo, J. (2009). Epidemiología de la antracnosis [*Colletotrichum gloeosporioides*] (Penz.) Penz. and Sacc.] en mango (*Mangifera indica* L.) cv. Ataulfo en el Soconusco, Chiapas, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 27(2), 93-105.
- Hyde, K. D., Cai, L., McKenzie, E. H. C., Yang, Y. L., Zhang, J. Z., & Prihastuti, H. (2009). *Colletotrichum*: a catalogue of confusion. *Fungal Diversity*, 39(1), 1-17.
- Hyldgaard, M., Mygind, T., & Meyer, R. L. (2012). Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Frontiers in Microbiology*, 3, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00012>.
- Jaramillo-Colorado, B. E., Palacio-Herrera, F. M., & Duarte-Restrepo, E. (2020). Antioxidant and biological activities of essential oil from colombian *Swinglea glutinosa* (Blanco) merr fruit. *Acta Scientiarum - Biological Sciences*, 42, 1-11. <https://doi.org/10.4025/actasciobiolsci.v42i1.51639>.
- Konsue, W., Dethoup, T., & Limtong, S. (2020). Biological Control of Fruit Rot and Anthracnose of Postharvest Mango by Antagonistic Yeasts from Economic Crops Leaves. *Microorganisms*, 8(3), 317. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8030317>.
- Landero-Valenzuela, N., Lara-Viveros, F.M., Andrade-Hoyos, P., Aguilar-Pérez, L.A., & Aguado, G.J. (2016). Alternativas para el control de *Colletotrichum* spp. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 7(5), 1189-1198. <https://doi.org/10.29312/remexca.v7i5.245>.
- León, G., Osorio, M., & Martínez, S.R. (2015). Comparación de dos métodos de extracción del aceite esencial de *Citrus sinensis* L. *Revista Cubana de Farmacia*, 49(4), 742-750.
- Li, Q., Bu, J., Shu, J., Yu, Z., Tang, L., Huang, S., ... Hsiang, T. (2019). *Colletotrichum* species associated with mango in southern China. *Scientific Reports*, 9(1), 18891. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-54809-4>.
- Ministerio de Salud y Protección Social & Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). (2013). Perfil nacional del consumo de frutas y verduras. Bogotá: MinSalud (p. 50).
- Olalde-Lira, G. G., Raya Montaña, Y. A., Apáez Barrios, P., Vargas-Sandoval, M., Pedraza Santos, M. E., Raymundo, T., ... Lara-Chávez, M. B. N. (2020). Characterization of *Fusarium* spp., A Phytopathogen of avocado (*Persea americana* Miller var. drymifolia (Schltdl. and Cham.)) in Michoacán, México. *Revista de La Facultad de Ciencias Agrarias UNCuyo*, 52(2), 301-316.
- Oliveira, R., Moral, J., Bouhmidi, K., & Trapero, A. (2005). Caracterización morfológica y cultural de aislados de *Colletotrichum* spp. causantes de la an-

- tracnosis del olivo. *Boletín de Sanidad Vegetal-Plagas*, 2005(31), 531-548.
- Páez Redondo, A. R. (2003). Tecnologías sostenibles para el manejo de la antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc.) en papaya (*Carica papaya* L.) y mango (*Mangifera indica* L.), Boletín técnico No. 8. Codazzi: Corpoica regional 3-Pronatta UCR.
- Quintero Mercado, A., Dangon-Bernier, F., & Páez Redondo, A. (2019). Aislamientos endofíticos de *Colletotrichum* spp. a partir de hojas y ramas de mango (*Mangifera indica* L.) cultivar Azúcar en el municipio de Ciénaga, Magdalena, Colombia. *Colombia. Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.*, 43(166), 65-77. <https://doi.org/10.18257/issn.0370-3908>.
- Rabari, V. P., Chudashama, K. S., & Thaker, V. S. (2018). *In vitro* screening of 75 essential oils against *Colletotrichum gloeosporioides*: a causal agent of anthracnose disease of mango. *International Journal of Fruit Science*, 18(1), 1-13. <https://doi.org/10.1080/15538362.2017.1377666>.
- Rimá de Oliveira, K. Á., Ramos Berger, L. R., Amorim de Araújo, S., Saraiva Câmara, M. P., & Leite de Souza, E. (2017). Synergistic mixtures of chitosan and *Mentha piperita* L. essential oil to inhibit *Colletotrichum* species and anthracnose development in mango cultivar Tommy Atkins. *Food Microbiology*, 66, 96-103. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.04.012>.
- Rivas da Silva, A. C., Monteiro Lopes, P., Barros de Azevedo, M. M., Machado Costa, D. C., Sales Alviano, C., & Sales Alviano, D. (2012). Biological Activities of  $\alpha$ -Pinene and  $\beta$ -Pinene Enantiomers. *Molecules*, 17(6), 6305–6316. <https://doi.org/10.3390/molecules17066305>.
- Rondón, O., Sanabría de Albarracín, N., & Rondón, A. (2006). Respuesta *in vitro* a la acción de fungicidas para el control de antracnosis, *Colletotrichum gloeosporioides* Penz, en frutos de mango. *Agronomía Tropical*, 56(2), 219-235.
- Saldarriaga-Cardona, A., Castaño-Zapata, J., & Arango-Isaza, R. (2008). Caracterización del agente causante de la antracnosis en tomate de árbol, manzano y mora. *Revista Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 32(123), 145-156.
- Segovia, R., Sedano, R., Reina, G., López, G., & van Schoonhoven, A. (2000). Árboles, arbustos y aves en el agroecosistema del CIAT. *Centro Internacional de Agricultura Tropical* (CIAT), Cali, Colombia.
- Sil, A., Pramanik, K., Samantaray, P., Mondal, M. F., & Yadav, V. (2020). Essential oils: A boon towards eco-friendly management of phytopathogenic fungi. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 8(4), 1884-1891.
- Stashenko, E., Martínez, J. R., Medina, J. D., & Durán, D. C. (2015). Analysis of essential oils isolated by steam distillation from *Swinglea glutinosa* fruits and leaves. *Journal of Essential Oil Research*, 27(4), 276-282. <https://doi.org/10.1080/10412905.2015.1045087>.
- Tovar-Pedraza, J. M., Mora-Aguilera, J. A., Nava-Díaz, C., Lima, N. B., Michereff, S. J., Sandoval-Islas, J. S., ... Leyva-Mir, S. G. (2020). Distribution and Pathogenicity of *Colletotrichum* Species Associated With Mango Anthracnose in Mexico. *Plant Disease*, 104(1), 137-146. <https://doi.org/10.1094/PDIS-01-19-0178-RE>.
- Velásquez, M. A., Álvarez, R. M., Tamayo, P. J., & Carvalho, C. P. (2014). Evaluation *in vitro* of the fungistatic activity of the mandarin essential oil on the growth of *Penicillium* sp. *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 15(1), 7-14.
- Weir, B. S., Johnston, P. R., & Damm, U. (2012). The *Colletotrichum gloeosporioides* species complex. *Studies in Mycology*, 73(1), 115-180. <https://doi.org/10.3114/sim0011>.