



Efecto Del Cinamaldehído Sobre El Crecimiento De Hongos Filamentosos Aislados En Cultivos De Fresa Y Uchuva

Effect Of Cinnamaldehyde On The Growth Of Isolated Filament Funguses In Strawberry And Grapevine Crops

¹Montaño-Rodríguez Miguel Ángel*, ¹Barrero-Echeverría Gabriela**, ¹Merchán-Castellanos Nuri Andrea***

¹Bioingeniería, Universidad El Bosque, Programa Bioingeniería. Bogotá, Colombia

*✉ Correo electrónico: mamontano@unbosque.edu.co,  ORCID: <https://orcid.org/0000-0004-7788-6636>,

**✉ Correo electrónico: gbarreroec@unbosque.edu.co,  ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3911-6997>,

***✉ Correo electrónico: merchanc@unbosque.edu.co,  ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5885-850X>

Recibido: julio 16 de 2024; Aceptado: diciembre 02 de 2024

RESUMEN

Los frutos de la fresa y la uchuva son altamente susceptibles al ataque de hongos fitopatógenos debido a su rica composición nutricional y su elevada humedad relativa, que favorece la proliferación de estos microorganismos. Por esta razón, estos cultivos demandan el uso de una gran cantidad de plaguicidas que buscan reducir las afectaciones de estos patógenos. Sin embargo, el uso de estos plaguicidas ha generado graves afectaciones en la salud del ser humano y cambios en la biodiversidad del ecosistema, por lo que se hace necesario la búsqueda de compuestos naturales que puedan combatir los hongos fitopatógenos sin causar daños



al entorno. El objetivo de este trabajo fue determinar la concentración mínima inhibitoria de cinamaldehído sobre el crecimiento de hongos filamentosos causantes de enfermedades en fresa y uchuva tipo exportación. Se aislaron hongos filamentosos a partir de muestras de uchuva y fresa con algún signo de infección. La concentración mínima inhibitoria se determinó a partir de ensayos con medio PDA sólido y líquido, mezclado con diferentes concentraciones de cinamaldehído. Se aislaron cuatro hongos filamentosos tanto de fresa como de uchuva con características macroscópicas diferenciales. La concentración mínima inhibitoria para el hongo HBc aislado de la uchuva fue de 90 ug/mL y 150 µg/mL en medio líquido y sólido respectivamente. La inhibición en el crecimiento del hongo HB1 aislado de la fresa fue de 450 ug/mL en medio sólido y de 90 ug/mL en medio líquido. El uso de aceites esenciales como el cinamaldehído es una alternativa efectiva para reducir el uso de plaguicidas y el impacto en la salud y del medio ambiente que estos generan.

Autor correspondencia: ¹Montaño Rodríguez Miguel Ángel*, ✉ Correo electrónico: mamontano@unbosque.edu.co*

Palabras clave: Hongos filamentosos, Fresa, Uchuva, *Cinamaldehído*, Concentración mínima inhibitoria.

ABSTRACT

The fruits of strawberry and gooseberry are highly susceptible to attack by phytopathogenic fungi due to their rich nutritional composition and high relative humidity, which favors the proliferation of these microorganisms. For this reason, these crops require the use of a large number of pesticides to reduce the impact of these pathogens. However, the use of these pesticides has caused serious health issues in humans and

changes in the biodiversity of the ecosystem, making it necessary to seek natural compounds that can combat phytopathogenic fungi without harming the environment. The objective of this study was to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) of cinnamaldehyde on the growth of filamentous fungi that cause diseases in export-quality strawberries and gooseberries. Filamentous fungi were isolated from gooseberry and strawberry samples showing signs of infection. The minimum inhibitory concentration was determined using solid and liquid PDA media mixed with different concentrations of cinnamaldehyde. Four filamentous fungi were isolated from both strawberry and gooseberry, each with distinct macroscopic characteristics. The minimum inhibitory concentration for the HBc fungus, isolated from gooseberry, was 90 µg/mL in liquid medium and 150 µg/mL in solid medium. Inhibition of the HB1 fungus, isolated from strawberries, was 450 µg/mL in solid medium and 90 µg/mL in liquid medium. The use of essential oils, such as cinnamaldehyde, is an effective alternative to reduce pesticide use and mitigate the impact on human health and the environment.

Key Word: *Filamentous fungi, Strawberry, Cape gooseberry, Cinnamaldehyde, Minimum inhibitory concentration.*

INTRODUCCIÓN

La fresa y la uchuva son dos frutos que demanda alrededor del mundo. La uchuva representan gran importancia en el crecimiento presenta gran cantidad de vitaminas A, B, C y económico del país, debido a sus propiedades minerales como el calcio, hierro y fósforo nutricionales y sabor son alimentos con alta (Fischer, *et al.*, 2014) y la fresa presenta alto

contenido en vitamina C, taninos, flavonoides, y minerales como potasio, fósforo, calcio, sodio y hierro (Restrepo *et al.*, 2009). Para el año 2016, Colombia exportó alrededor de 89,55 toneladas de fresa a Panamá generando una ganancia de aproximadamente 286,24 millones de dólares en valor FOB (Vega. *et al.*, 2017). Este tipo de cultivos es susceptible a enfermedades fitopatógenas causadas por hongos. La uchuva por su alto rango de humedad relativa beneficia el crecimiento y colonización de *Cercospora* sp., *Phoma* sp., *Botrytis* sp. La fresa es susceptible a *Rhizoctonia* sp., *Fusarium* sp., *Verticillium* sp., o *Botrytis cinerea* y *Mycosphaerella fragariae* entre otros hongos reportados como causantes de diferentes enfermedades (Cano, 2014; Infante-Rincones *et al.*, 2024). El gran reto para los productores es el control y manejo de estas enfermedades, para lograr una calidad de las frutas tipo exportación se emplea de manera descontrolada productos como insecticidas, fungicidas y plaguicidas (Peñalosa y Hernández, 2018; Bermúdez, 2019). Estos plaguicidas han generado diversos problemas de salud debido a los residuos que quedan en los alimentos (Vallejo, 2021), entre los que se encuentra la generación de cáncer, parkinson, enfermedad de Hodgkin, alzheimer, alteraciones endocrinas, efectos mutagénicos,

entre otros (Vallejo, 2021). Se ha reportado que el continuo uso de estos productos causa resistencia en los microorganismos, haciendo que el uso de fungicidas sea más frecuente y en mayores concentraciones (Sánchez, 2019). Para contrarrestar esta problemática se ha venido estudiando y empleado compuestos denominados aceites esenciales provenientes de plantas. Dichos compuestos son de origen natural, de bajo costo y con pocos efectos adversos sobre la salud humana. Además, presentan actividad plaguicida llegando a ser potencialmente substitutos de los plaguicidas de origen químico. Específicamente, estos compuestos llegan a ser una mejor alternativa para inhibir especies fúngicas en cultivos de fresa y uchuva (Tančínová, *et al.*, 2022; Gómez-Suárez *et al.*, 2024). Algunos aceites esenciales como cinamaldehído, carvacrol o timol (Sempere-Ferre, 2021) han sido reportados como inhibidores de crecimiento de hongos. Según Sempere-Ferre las concentraciones de cinamaldehído y carvacrol que inhiben el crecimiento de hongos patógenos en cultivos de fruta se encuentra alrededor de 200 ug/mL hasta 300 ug/mL, siendo la primera concentración el valor mínimo reportado para la inhibición total del hongo. El timol presenta inhibición a partir de una concentración de 150 ug/mL. El objetivo del

presente estudio es determinar la concentración mínima inhibitoria de cinamaldehído para inhibir el crecimiento de hongos causantes de enfermedades en fresa y uchuva tipo exportación

MATERIALES Y MÉTODOS

Aislamiento de hongos filamentosos patógenos en fresa y uchuva

Los hongos fueron aislados a partir de muestras de uchuvas y fresas recolectadas de cultivos tipo exportación, que presentaban alguna manifestación de síntomas de infección. El aislamiento de los hongos presentes en los dos frutos se realizó a partir de un fino corte de tejido vegetal de aprox. 0,5 cm con pinzas y escalpelo estériles. Las muestras de tejido fueron sembradas en agar Sabouraud con cloranfenicol y se incubó a 28 °C durante 8 días. Para la purificación, los hongos crecidos fueron sembrados por punción nuevamente en agar Sabouraud con cloranfenicol e incubados a 28 °C durante 8 días.

Extracción de ADN de hongos filamentosos aislados

Para la extracción de ADN de los hongos aislados, 10 a 20 mg de la biomasa fúngica fue suspendida en buffer de extracción (1M KCL, 100 mM Tris-HCL, 10mM EDTA). Las células fúngicas fueron lisadas mediante el uso de

perlas de vidrio y agitación por 5 segundos a 4000 rpm en el equipo FastPrep-24 (MP Biomédicas). Los detritos celulares fueron eliminados por centrifugación (5,000 RPM por 10 minutos) y el sobrenadante mezclado por inversión con 300 µL de 2-propanol. El ADN fue precipitado por centrifugación (12,000 RPM por 10 minutos), descartando el sobrenadante y lavando con 800 uL de etanol al 70%. Se retiró el alcohol mediante centrifugación y se dejó evaporar cualquier remanente de etanol incubando a 37°C por 15 minutos (Vacufuge Plus Complete System). El ADN se resuspendió con 50 uL de agua grado biología molecular mantenido una noche a 4°C. (Ivor *et al.*, 2004 and Chi M, 2009). La extracción de ADN se realizó por duplicado en hongos seleccionados. La concentración y calidad del ADN se realizó mediante Qubit.

Ensayos de Inhibición de crecimiento fúngico filamentosos

Cinamandehido se disolvió y homogenizo en una solución de tween 80 (0.1%) para preparar concentraciones de 50 a 500 ug/mL. Las

concentraciones fueron mezcladas con agar PDA (estéril) mientras se encontraba en estado líquido y posteriormente distribuidas en cajas de Petri. Los hongos fueron sembrados por punción en cada uno de las concentraciones e incubados a 28°C por 8 días. Como control positivo se realizó siembra en agar PDA sin ningún tipo de compuesto activo y como control negativo se empleó agar PDA mezclado con nistatina a una concentración de 1,000 unidades.

Una segunda metodología fue realizada en los ensayos de inhibición de crecimiento. Las concentraciones utilizadas fueron las mismas de los ensayos en sólido y mezcladas en PDA líquido previamente estéril. Los hongos fueron inoculados en cada una de las concentraciones e incubados a 28°C por 10 días a 100 rpm. De la misma manera, como control negativo se utilizó PDA líquido con nistatina en concentración 1,000 unidades y como control positivo fue PDA líquido sin ningún tipo de inhibidor.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Aislamiento de hongos filamentosos en muestras de Uchuva y Fresa

Al realizar la inspección visual del estado de los frutos, se observaron manchas negras y crecimiento micelial blanco en la Uchuva (Figura 1). En la Fresa se observaron manchas de color negro y marrón, ablandamiento del fruto, polvillo blanco y crecimiento micelial café (Figura 2).



Figura 1: Observación del estado de muestras de Uchuva



Figura 2: Observación del estado de muestras de Fresa

A partir de las muestras de Uchuva se lograron aislar hongos con algunas características macroscópicas diferenciales, nombrados en este proyecto como HBc, HBg, HBf y Hg (Figura

3). En las muestras de fresa se aislaron cuatro hongos nombrados como Hn, Hn2, HB1, HBn (Figura 4).

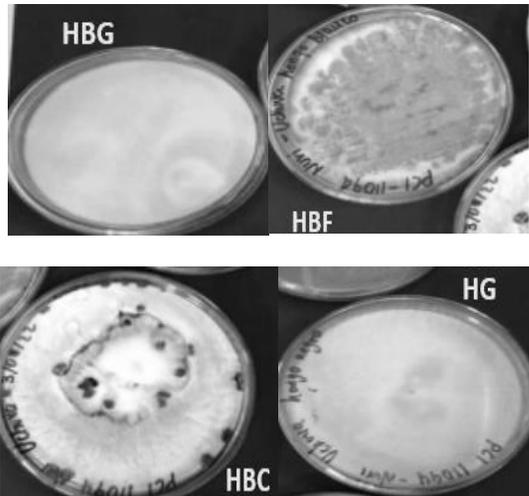


Figura 3: Aislamiento de hongos filamentosos de uchuva

Realizando una caracterización macroscópica se observó que el hongo HBc presentó micelio blanco con estructuras negras duras que posiblemente pueden representar esclerocios. El hongo HBg presentó micelio amarillo blanquecino, aéreo y esponjoso. El hongo HBf presentó micelio rosado anaranjado vegetativo, pulverulento y el hongo Hg presentó micelio gris aéreo abundante. Según Heidi (2023), las características macroscópicas que presentan los hongos HBc y el hongo Hg pueden corresponder a *Botrytis cinerea*. Este hongo se caracteriza por presentar un crecimiento de colonias de color blanquecino-gris además de

generar los característicos esclerocios del hongo.

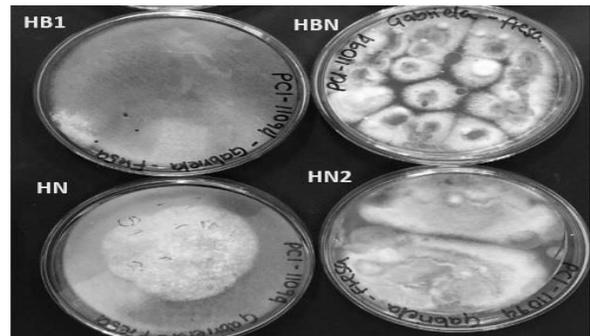


Figura 4: Aislamiento de hongos filamentosos de fresa

En la fresa el hongo Hn presentó micelio café vegetativo con aspecto pulverulento, Hn2 presentó micelio abundante de blanco a café, en el hongo HB1 se observó micelio entre blanco y amarillo, algodonoso de crecimiento abundante, y finalmente HBn con micelio vegetativo blanco anaranjado. De igual manera que en los hongos aislados de la uchuva, los hongos nombrados como Hn2 y HB1 también presentan características propias de un hongo *Botrytis cinerea*. Este tipo de hongo también presenta un crecimiento de color blanco algodonoso abundante (Heidi, 2023).

Extracción de ADN de hongos aislados

La extracción de ADN se realizó con el propósito de identificar a nivel molecular los hongos aislados, para ello es necesario extraer

el ADN y la posterior amplificación de las regiones ITs por la reacción de cadena de la Polimerasa (PCR). Por sus características macroscópicas y su crecimiento abundante fue seleccionado uno hongo de cada fruta para la identificación molecular. Para la uchuva fue seleccionado el hongo HBc y para la Fresa HB1.

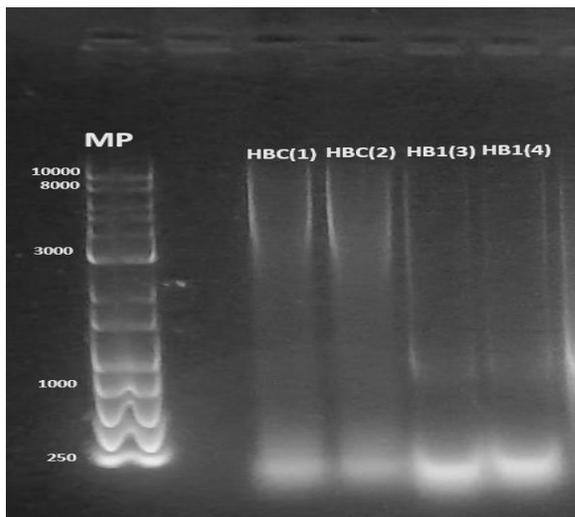


Figura 5: Visualización en gel de agarosa 0.8% del ADN extraído de hongos filamentosos HBC y HB1. MP: 1 kb Promega.

Muestra	Concentracion ng/ μ L	260/280	260/230
HBc(1)	431,48	1,39	0,509
HBc(2)	637,51	1,26	0,616
HB1(3)	1384,64	1,405	0,885
HB1(4)	998,3	1,452	0,767

Tabla 1: Resultados de calidad de la extracción de ADN

A pesar de las concentraciones de ADN en los dos hongos, se observó que el radio de 260/280 está por debajo del rango óptimo de calidad (1.8 - 2.0). El mismo resultado se observó en el radio 260/230, valores muy por debajo de 2.0, lo que puede ser contaminación por fenoles. Si bien los resultados no son satisfactorios, se conoce que la extracción de ADN de hongos filamentosos resulta ser compleja debido a la composición química de la pared celular, la cual constituye de un 15 a un 30% de su peso seco (Canul et al, 2019).

Concentración mínima inhibitoria de cinamaldehído

Los ensayos de inhibición se realizaron con los hongos seleccionados para la extracción de ADN (HBc de uchuva y HB1 de fresa) en concentraciones entre 50 y 500 μ L de cinamaldehído. La inhibición del crecimiento del hongo HBc se evidenció en concentraciones de 150 a 180 μ g/mL (figura 6). Al realizar el ensayo en medio líquido se observó que la menor concentración que ejerció inhibición de crecimiento fue de 90 μ g/mL de cinamaldehído (Figura 7).

Estos resultados pueden ser comparados con los obtenidos por Sampere-Ferre (2021), quien reporta que la actividad antifúngica del cinamaldehído se ejerce a partir de una concentración de 100 ug/mL, concentración en la cual el crecimiento micelial se comienza a reducir hasta volverse inexistente a una concentración de 300 µg/mL

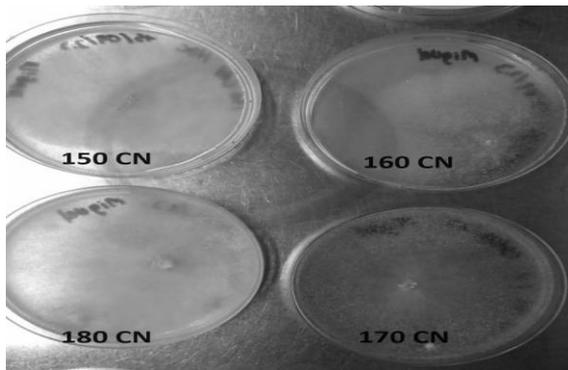


Figura 6: Ensayo inhibición de hongos HBC filamentosos en medio sólido con cinamaldehído.

El comportamiento del hongo HB1 en los ensayos en sólido con cinamaldehído registraron inhibición a una concentración de 450 ug/mL, lo que sugiere que este hongo podría exhibir una mayor resistencia a la actividad antifúngica del cinamaldehído. No obstante, con los ensayos en líquido se observó la inhibición de crecimiento a 90 ug/mL (Figura 8). Esta divergencia de resultados probablemente se debe a dificultad que presenta el

cinamaldehído para solubilizarse completamente en medios de cultivo sólidos.

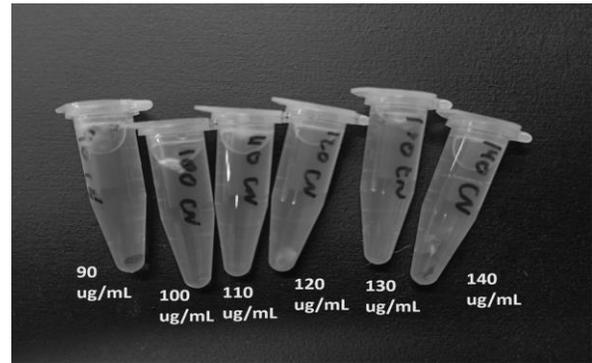


Figura 7: Ensayo inhibición del hongo HBC filamentosos en medio líquido con cinamaldehído.

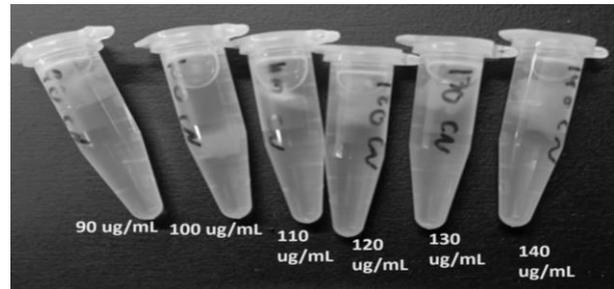


Figura 8: Ensayo inhibición del hongo HB1 filamentosos en medio líquido con cinamaldehído

Con los resultados obtenidos es posible sugerir que la concentración mínima inhibitoria para el hongo filamentosos de la uchuva (HBC) es de 90 ug/mL de cinamaldehído, mientras los resultados con el hongo de la fresa (HB1) varían de acuerdo a la metodología utilizada, siendo 90 ug/mL un importante resultado en medio líquido.

CONCLUSIONES

El cinamaldehído es un compuesto con un destacado potencial de actividad orgánica, capaz de desempeñar una función altamente efectiva como agente antifúngico en cultivos de fresa y uchuva de tipo exportación. Por consiguiente, podría representar una alternativa promisorio al empleo de plaguicidas de origen químico.

La concentración mínima inhibitoria de cinamaldehído sobre el hongo de la uchuva se presentó en un rango entre 90 a 150 µg/mL con las dos metodologías utilizadas. La concentración mínima inhibitoria para el hongo HB1 proveniente de la fresa fue de 90 µg/mL en medio líquido.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Álvarez-Herrera, J. G., Fischer, G., & Vélez, J. E. (2021). Análisis de la producción de uchuva (*Physalis peruviana* L.) durante el ciclo de cosechas en invernadero con diferentes láminas de riego. *Revista de la Academia Colombiana de ciencias exactas, físicas y naturales*. <https://doi.org/10.18257/raccefyn.1239>.
- Caballero-Pérez L. A, Tejedor-Arias R, Salas-Osorio EJ. (2023). Survival of a mixed culture of microencapsulated probiotic strains against the gastrointestinal barrier *in vitro*. ISSN2521-9715. *Revista Científica de la Facultad de Ciencias Veterinarias – septiembre 2023. 33(2) :1-9*. <https://produccioncientificaluz.org/index.php/cientifica>
- Cano, M. A. (2014). Estrategias biológicas para el manejo de enfermedades en el cultivo de fresa (*Fragaria* spp.). *Revista colombiana de ciencias hortícolas*, 7(2), 263-276. <https://doi.org/10.17584/rcch.2013v7i2.2240>
- Canul, Y. Y. B., & Flores, I. R. I. (2019). Análisis proteómico de la pared celular del hongo *Pseudocercospora fijiensis* (Doctoral dissertation, Centro de Investigación Científica de Yucatán).
- Díaz-Vallejo, J. J., Barraza-Villarreal, A., Yáñez-Estrada, L., & Hernández-Cadena, L. (2021). Plaguicidas en alimentos: riesgo a la salud y marco regulatorio en Veracruz, México. *Salud Pública De México*, 63(4), 486-497. <https://doi.org/10.21149/12297>
- Fischer, G., Almanza-Merchán, P. J., & Miranda, D. (2014). Importancia y cultivo de

la uchuva (*Physalis peruviana* L.). *Revista Brasileira De Fruticultura*, 36(1), 01-15.
<https://doi.org/10.1590/0100-2945-441/13>

Gómez-Suárez, Jennifer Alejandra, Méndez-Valencia, María Camila, Moncayo-Martínez, Diana Cristina, Vega-Medina, Lizeth. (2024). Desarrollo De Una Película De Ácido Poliláctico Con Un Complejo De Cinamaldehído-Betaciclodextrina Para Uchuva (*Physalis Peruviana* L.) Empacada. *Revista @limentech, Ciencia y Tecnología Alimentaria*. ISSN Impreso 1692-7125 - ISSN Electrónico 2711-3035. Volumen 22 N° 2. Pp: 65 – 77.
<https://doi.org/10.24054/limentech.v22i2.3617>

Heidi, H. Z. M. (2023). *Caracterización morfológica y genética de aislamientos de Botrytis cinerea en arándanos*.
<https://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/20.500.12996/5888>.

Infante-Rincones Nasly Isabe; Cañate-González Abid Silvestre; Villegas-Pacheco Rosslyn Sugeys; Caselles-Algarín Campo Elías; Herrera-Demares Patricia del Carmen. (2024). Aislamiento de microorganismos patógenos en alimentos concentrados para aves de corral. *Revista @limentech, Ciencia y Tecnología*

Alimentaria. ISSN Impreso 1692-7125 ISSN Electrónico 2711-3035. Volumen 22 N° 1. Pp: 121-138.
<https://doi.org/10.24054/limentech.v22i1.2867>

Peñaloza Ricardo y Hernández Ordoñez. Mariela. (2018). Conservación de la uchuva (*physalis peruviana l*) mediante la aplicación de recubrimiento comestible a base de gel de aloe *barbadensis miller*. *Revista @limentech, Ciencia y Tecnología Alimentaria*. ISSN 1692-7125. Volumen 16 N° 2. Pp: 50 - 67.
<https://doi.org/10.24054/limentech.v16i2.340>

Puškářová, A., Bučková, M., Kraková, L., Pangallo, D., & Kozics, K. (2017). The antibacterial and antifungal activity of six essential oils and their cyto/genotoxicity to human HEL 12469 cells. *Scientific Reports*, 7(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-017-08673-9>

Restrepo, A. M., Cortés, M., & Rojano, B. A. (2009). Determinación De La Vida Útil De Fresa (*Fragaria Ananassa Duch.*) Fortificada Con Vitamina E. *Dyna*, 76(159), 163-175.
<https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/7603117.pdf>.

Sánchez, F. (2019). La resistencia de las plagas y enfermedades ante el control



convencional y la búsqueda de alternativas 24(18), 3386.
de biocontrol. *Tierra Infinita (Universidad* <https://doi.org/10.3390/molecules24183386>.
Politécnica Estatal del Carchi - Impresa),
5(1), 234-243.
<https://doi.org/10.32645/26028131.975>.

Sempere-Ferre, F., Asamar, J., Castell, V.,
Roselló, J., & Santamarina, M. P. (2021).
Evaluating the antifungal potential of
botanical compounds to control *Botryotinia*
fuckeliana and *Rhizoctonia solani*.
Molecules, 26(9), 2472.
<https://doi.org/10.3390/molecules26092472>

Tančinová, D., Mašková, Z., Mendelová, A.,
Foltinová, D., Barboráková, Z., & Medo, J.
(2022). Antifungal activities of essential oils
in vapor phase against botrytis cinerea and
their potential to control postharvest
strawberry gray mold. *Foods*, 11(19), 2945.
<https://doi.org/10.3390/foods11192945>

Vega, J. S., Ruiz Cifuentes, & Vásquez Ardila.
(2017). Plan de negocios para la producción
y exportación de fresa orgánica. *Universidad*
La Salle.
<https://hdl.handle.net/20.500.14625/30932>.

Wang, D., Zhang, J., Jia, X., Li, X., & Zhai, H.
(2019). Antifungal effects and potential
mechanism of essential oils on *collelotrichum*
gloeosporioides in vitro and in vivo. *Molecules*,