

## **Efecto promotor del crecimiento micelial de *Fusarium* sp. y *Aspergillus* sp. en condiciones *in vitro* de extractos acuosos y etanólico de dos especies de *Cylindropuntia***

Growth promoting effect on the mycelia of *Fusarium* sp. and *Aspergillus* sp. *in vitro* condition of aqueous and ethanolic extracts from two species of *Cylindropuntia*

**Andrea Cid-Lucero<sup>1</sup>, Raquel González-Fernández<sup>1</sup> y José Valero-Galván<sup>1\*</sup>**

<sup>1</sup>Departamento de Ciencias Químico-Biológicas, Instituto de Ciencias Biomédicas, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez; Ciudad Juárez, Chihuahua, México. Av. Plutarco Elías Calles #1210 FOVISSSTE Chamizal, Ciudad Juárez, Chihuahua, México, C.P. 32310.

\*Correspondencia: Correo electrónico: jose.valero@uach.mx (José Valero Galván)

Recibido: 5 octubre 2020; Aceptado: 29 enero 2021

Publicado por la Universidad Autónoma de Chihuahua, a través de la Dirección de Investigación y Posgrado.

### **Resumen**

En el presente estudio se evaluó el efecto de los extractos acuosos (decocción y maceración acuosa) y etanólico de dos especies del género *Cylindropuntia* sobre el crecimiento micelial de *Fusarium* sp. y *Aspergillus* sp. en condiciones *in vitro*. Los extractos se realizaron de cladodios de *C. imbricata* y *C. leptocaulis* en tres concentraciones (10 %, 20 % y 30 %) y se añadieron a cajas Petri para formar un medio de cultivo extracto-agar nutritivo. Los medios de cultivo se inocularon con las diferentes cepas fitopatógenas y se incubaron por 10 días y se midió el crecimiento del micelio de cada una de las cepas en cada uno de los tratamientos y cada concentración cada 24 horas. Los resultados mostraron diferencias significativas entre los extractos de las plantas. *C. imbricata* presentó una mayor estimulación del crecimiento micelial con respecto a la obtenida de *C. leptocaulis*. *Aspergillus* sp. fue la cepa que presentó el mayor crecimiento micelial y *Fusarium* sp. presentó un menor crecimiento. El extracto etanólico presentó un mayor porcentaje de crecimiento micelial, seguido de los extractos obtenidos de la decocción y los que presentaron un menor crecimiento micelial fueron los obtenidos por maceración acuosa. Las concentraciones del 30 % fueron las que presentaron un mayor crecimiento micelial, seguida de las concentraciones del 20 %, y finalmente las concentraciones del 10 %. Nosotros concluimos que estos extractos no presentaron un efecto inhibitorio en el crecimiento de micelio de estos hongos fitopatógenos; al contrario, los extractos de ambas especies estimularon el crecimiento de estos hongos.

**Palabras clave:** *C. imbricata*, *C. leptocaulis*, Cactaceae, extractos, crecimiento micelial.

## Abstract

In the present study, the effect of the aqueous extracts (decoction and aqueous maceration) and ethanolic (ethanolic maceration) of two species of the genus *Cylindropuntia* was evaluated on the mycelial growth of *Fusarium* sp. and *Aspergillus* sp. under in vitro conditions. The extracts were made from the shoots of *C. imbricata* and *C. leptocaulis*, and added to Petri dishes at 10 %, 20 %, and 30 % to form an extract-nutrient agar culture medium. The culture mediums were inoculated with the different phytopathogenic strains and incubated for 10 days and the growth of the mycelium of each of the strains was measured in each of the treatments and concentration every 24 hours. The results showed significant differences between the plant extracts. *C. imbricata* presented the greater stimulation of mycelial growth than the obtained from *C. leptocaulis*. *Aspergillus* sp. was the strain that showed the highest mycelial growth, while *Fusarium* sp. presented a lower growth. Likewise, the ethanolic extract presented the higher percentage of mycelial growth, followed by the extracts obtained from the decoction and aqueous maceration. The concentrations of 30 % were those that showed the highest mycelial growth, followed by concentrations of 20 %, and finally concentrations of 10 %. We concluded that these extracts did not show an inhibitory effect on the growth of mycelium; on the contrary, the extracts of both species stimulated the growth of these two phytopathogenic fungi.

**Keywords:** *C. imbricata*, *C. leptocaulis*, Cactaceae, extracts, mycelial growth.

## 1. Introducción

Las cactáceas son plantas suculentas que presentan distintas formas. Pueden ser arbóreas o arbustivas, ramificadas o no ramificadas, globosos o columnares y de hábitos epifitos, trepadoras o litófitas. La mayoría carecen de hojas verdes aplanadas con capacidad fotosintética, pero en algunos géneros persisten en algunas etapas de desarrollo. Se ha documentado que esta familia está compuesta por alrededor de 1500 y 1600 especies, distribuidas entre 110 a 122 géneros (Lebgue *et al.*, 2011), sin embargo, otros autores mencionan que son 124 (Pinto and Scio, 2014). En México habitan 669 especies reconocidas que corresponden a 63 géneros (Lebgue *et al.*, 2011). Los géneros más representativos son *Mammillaria*, *Echinocereus*, *Coryphantha*, *Opuntia*, *Ferocactus* y *Cylindropuntia* (Hunt, 2016).

Las especies del género *Cylindropuntia* son arbustos o árboles pequeños, muy ramificados, con segmentos carnosos, firmemente unidos o fáciles de desprender. Presentan formas cilíndricas a ligeramente claviformes de no más de 50 cm de largo, rectas y glabras. Las areolas presentan numerosos gloquidios con presencia de espinas, las cuales están envueltas en una epidermis entera de hoja caduca. Las espinas presentan una gran variedad de formas, desde rectas con forma de aguja hasta curvas y suaves; además pueden estar aplanadas sólo basalmente. Se caracterizan por presentar segmentos o cladodios cilíndricos y la presencia de vainas como papel en las espinas (Pinkava, 1999; Anderson, 2001; Baker *et al.*, 2012). La reproducción sexual es vegetativa, la cual se da a través de segmentos de tallo, que se dispersan ocasionalmente por zoocoria y por anemocoria (Anderson, 2001; Martínez and Molina, 2013). Los segmentos se postran y enraízan; a otros les emergen raíces laterales (Anderson, 2001; Martínez and Molina, 2013).

Este género es nativo de América del Norte, del cual 30 especies se encuentran registradas en México (Hunt, 2016), siendo el estado de Chihuahua donde se distribuyen especies como *Cylindropuntia imbricata*, *C. kleiniae*, *C. leptocaulis* y *C. spinosior* (Guzmán and Arias, 2003). En otras regiones del mundo las *Cylindropuntias* forman parte de la vegetación introducida, donde se considera junto con

otros géneros como invasivos, siendo plantas oportunistas que invaden regiones con vegetación fluctuante, como son las zonas perturbadas por actividades agrícolas como pastizales dedicados a la ganadería y agricultura, y las dedicadas a la extracción del agua (Deltoro-Torró *et al.*, 2014). Se presentan en varios ecosistemas provocando el desplazamiento de especies nativas. Algunas de las especies invasoras son *C. imbricata*, *C. fulgida v. fulgida*, *C. leptocaulis*, *C. prolifera*, *C. rosea* y *C. palida* (Deltoro-Torró *et al.*, 2014). Sin embargo, tienen diversos usos según la región en la que se desarrollan, ya que se utilizan como setos debido a su naturaleza espinosa. Los cladodios secos se utilizan para la fabricación de artesanías, por ser leñosos y presentar orificios que le dan un carácter ornamental, y los gloquidios y espinas se utilizan ceremonialmente. Su goma se ha utilizado como goma de mascar; en época de sequía los frutos se usan como forraje así como los cladodios después de quemar las espinas (Anderson, 2001; Bustamante and Búrquez, 2005).

Los hongos fitopatógenos producen importantes pérdidas en la producción agrícola nacional, principalmente después de la postcosecha y del almacenamiento de las frutas, semillas y verduras, debido a que éstos afectan a su valor nutritivo por la producción de micotoxinas (Domijan *et al.*, 2005; Koirala *et al.*, 2005). En nuestro país, esta pérdida en productividad se debe principalmente a hongos fitopatógenos de los géneros *Alternaria* spp., *Botrytis* spp., *Aspergillus* spp., *Rhizopus* spp., *Fusarium* spp. y *Penicillium* spp. (Pose *et al.*, 2004; Lopes and Martins, 2008). Uno de los métodos más usados para el control de estos hongos es el uso de fungicidas sintéticos, no obstante, estos han provocado el desarrollo de mecanismos de resistencia a estos productos. Además, estos generan residuos tóxicos en los alimentos y en el ambiente poniendo en riesgo a la población (Angulo *et al.*, 2009).

En la actualidad se están buscando opciones más amigables con el medioambiente en el control de estos hongos fitopatógenos, como es la utilización de extractos de plantas silvestres abundantes en las zonas de interés agrícola, que tienen compuestos con actividad biocida. Entre los métodos de extracción se encuentran aquellos que obtienen extractos acuosos, acetónicos, etanólicos y aceites esenciales (Gamboa *et al.*, 2003; López *et al.*, 2005; Guerrero *et al.*, 2007). Estos extractos presentan compuestos de origen natural, los cuales forman parte de las estrategias de defensa que usan las plantas para defenderse de organismos fitopatógenos proporcionándoles características antivirales, antimicrobianas o repelentes. Estos se agrupan como compuestos nitrogenados, fenólicos y terpenoides (Pandey and Tripathi, 2014).

Algunos estudios donde se utilizan este tipo de extractos obtenidos de especies de cactáceas han mostrado un efecto antifúngico en hongos de importancia médica y ambientales. Zapata *et al.* (2003) evaluaron los extractos etanólicos desgrasados, etanólicos sin desgrasar y acuosos de cladodios de *Cereus deficiens* mediante análisis cualitativos, encontrando que estos presentaban aceites esenciales, polifenoles, taninos y saponinas. Además, cuando estos se evaluaron sobre el crecimiento micelial de *Phytophthora infestans*, *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici, *F. oxysporum* f. sp. cubense, *Lasiodiplodia theobromae*, *Sclerotium rolfsii*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *F. moniliforme*, *Alternaria solani*, *Rhizoctonia solani* y *Bipolaris maydis* se observó una reducción del crecimiento micelial en los diez hongos analizados, especialmente para las cepas de *P. infestans* y *S. rolfsii*, con porcentajes de inhibición del 70 a 94 % en el crecimiento micelial. En otro estudio, los extractos metanólicos de *Stenocereus pruinosus* y *Equinocereus stramineus* presentaron en su composición alcaloides, triterpenos, saponinas y flavonoides. Cuando estos se evaluaron sobre el crecimiento micelial de hongos dermatofitos como *Microsporum gypsum*, *M. canis*, *M. nanum* y *M. cookei* se observó que los extractos de *S. pruinosus* presentaron la mejor inhibición a dosis inferiores de 125 mg/mL (Treviño *et al.*, 2012). En un estudio similar los extractos metanólicos de *Ariocarpus kotschoubeyanus* y *A. retusus* presentaron compuestos con grupos carbonilos, oxidrilos fenólicos, esteroides y metilesteroides, cumarinas, sesquiterpenlactonas, saponinas, flavonoides y alcaloides. Cuando se evaluaron sobre el crecimiento micelial de hongos dermatofitos *M. gypsum* y *M. nanum*, el extracto metanólico de *A.*

*retusus* mostró una mayor actividad antifúngica sobre ambas cepas a una concentración de 738 mg/mL (Rodríguez *et al.*, 2010). Sharavana *et al.* (2013) encontró que los extractos metanólicos de *Opuntia dillenii* a una concentración de 1000 µg/ml y 500 µg/ml mostraron una inhibición del 100 % para las especies de *Aspergillus niger*, *Candida albicans*, *Monilinia frutícola*, *Auricularia polytricha*, *Chaetomella raphigera* y *Arthrotrrys oligospora*. Otra *Opuntia* que ha demostrado inhibir el crecimiento de microorganismo es *O. ficus indica*, en la cual los aceites extraídos inhibieron el crecimiento de *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium* y *Candida*, obre la piel de ratas (Khémiri *et al.*, 2019).

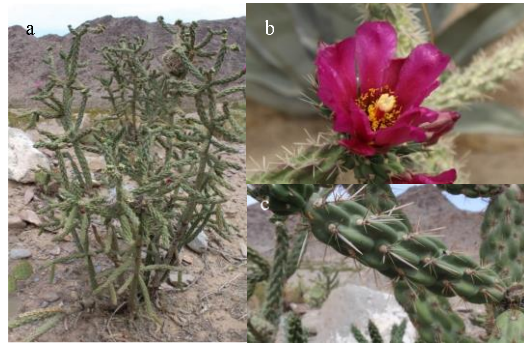
En contraste, algunos extractos vegetales han mostrado un efecto promotor del crecimiento micelial de algunas cepas hongos fitopatógenas. Moros *et al.* (2003) mostraron que los extractos vegetales elaborados por la decocción de *Cajanus cajan*, *Vigna radiata* y *V. unguiculata* mostraron incrementos del 126 %, 62.9 % y 52.6 %, respectivamente, sobre la cepa de *F. oxysporum*. Además, Iturbide *et al.* (2017) demostraron que los extractos vegetales de *Lilium* promovieron el crecimiento de un 41 % al 79 % de *F. oxysporum*. Así mismo, Terrones (2013) encontró que los extractos de *Capsicum annuum* promovieron el crecimiento de *A. niger*. Este efecto promotor del crecimiento micelial en cepas de hongos fitopatógenos, también se ha observado en extractos realizados con especies de cactáceas. En estudios previos de nuestro grupo, se encontró que los extractos acuosos de *O. engelmannii* incrementaron el crecimiento micelial de *P. capsici* (5.4 %), *F. oxysporum* (8.1 %), *B. cinerea* (28 %) y *A. alternata* (17 %). Así mismo, este autor encontró que los extractos acuosos de *O. macrocentra* promovió el crecimiento micelial en un *P. capsici* (27 %), un *F. oxysporum* (8.1 %), *B. cinerea* (28 %) y *A. alternata* (14 %) (Fong, 2017).

Aunque estos estudios muestran el posible uso de extractos vegetales de cactáceas para inhibir o promover el crecimiento micelial de hongos fitopatógenos, existe poca información del efecto de extractos acuosos, metanólicos y etanólicos de especies del género *Cylindropuntia* (Cactaceae). Por lo que en el presente estudio se evaluó el efecto de los extractos acuosos y etanólicos de *C. imbricata* y *C. leptocaulis* sobre el crecimiento de los hongos fitopatógenos de los géneros de *Fusarium* sp. y *Aspergillus* sp. en condiciones *in vitro*.

## 2. Materiales y métodos

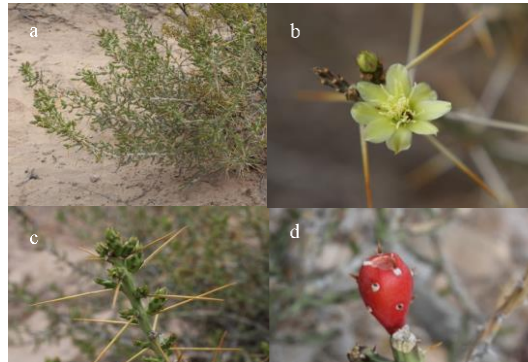
### 2.1. Material vegetal

Ambas especies fueron colectadas en la Sierra de Samalayuca localizada al norte del Estado de Chihuahua en los municipios de Juárez y Guadalupe, la cual es una región árida, localizada alrededor de 2100 msnm, con un promedio de 300 mm de precipitación pluvial anual y cuya vegetación predominante son matorrales del tipo micrófilo semiespinoso. La colecta se realizó en las coordenadas 31.300, -106.504 durante el mes de mayo del 2019. Se seleccionaron diez ejemplares aleatoriamente de *C. imbricata* (Fig. 1) y *C. leptocaulis* (Fig. 2) los cuales se identificaron usando la guía taxonómica propuesta por Deltoro-Torró *et al.*, 2014.



**Figura 1.** Características generales de *C. imbricata*. a. individuo arbóreo de *C. imbricata*. b. Flor magenta, c. Areolas elípticas, espinas robustas, aplanadas basalmente y tubérculos espaciosos (Imagen tomada por Andrea Cid Lucero, 2019).

**Figure 1.** General characteristics of *C. imbricata*. a. arboreal individual of *C. imbricata*. b. magenta flower, c. elliptical areolas, robust spines, flattened basally and spacious tubers (Image taken by Andrea Cid Lucero, 2019).



**Figura 2.** Características generales de *C. leptocaulis*. a. Individuo arbóreo de *C. leptocaulis*. b. Flor amarilla. c. Espinas y tubérculos alargados no prominentes. d. Fruto escarlata (Imágenes tomadas por Andrea Cid Lucero, 2019 y Nefertari Gutiérrez, 2019).

**Figure 2.** General characteristics of *C. leptocaulis*. a. arboreal individual of *C. leptocaulis*. b. yellow flower. c. elongated spines and tubercles not prominent. d. scarlet fruit (Images taken by Andrea Cid Lucero, 2019 and Nefertari Gutiérrez, 2019).

De cada uno de los ejemplares se seleccionaron cinco segmentos jóvenes de entre 10 y 15 cm de altura y se cortaron con una navaja. Los segmentos se transportaron en cajas de cartón al Instituto de Ciencias Biomédicas de la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Ciudad Juárez, Chihuahua. Los cladodios obtenidos se lavaron en una solución de hipoclorito al 2% (v/v) durante dos minutos y se enjuagaron dos veces con agua corriente y una vez con agua destilada para eliminar los residuos del hipoclorito.

## 2.2. Origen y mantenimiento de cepas patógenas

Los hongos *Fusarium* sp. y *Aspergillus* sp. fueron proporcionados por el cepario del laboratorio de Genética Aplicada de Instituto de Ciencias Biomédicas de la Universidad Autónoma de Ciudad

Juárez. Ambas cepas fueron aisladas de papas contaminadas con estos hongos. La identificación de los hongos se realizó siguiendo las claves de Barnett and Hunter (1998). Las muestras fueron mantenidas y procesadas según la metodología de Valero *et al.* (2014).

### 2.3. Elaboración de extractos

Se pesaron en balanza analítica (Highland®, Hcb 602h) 30 g, 60 g y 90 g del material vegetal de cada planta para la obtención de concentraciones de 10, 20 y 30 % (p/v) respectivamente, posteriormente se trituró el material de cada concentración en un mortero (CoorsTek®, 60320).

#### 2.3.1. Decocción y maceración acuosa

Para realizar los extractos de decocción y maceración se utilizó la metodología propuesta por Valero *et al.*, 2014 con algunas modificaciones. Para el método de cocción el peso del material vegetal triturado y el volumen de agua destilada necesarios para preparar las concentraciones de 10, 20 y 30 % (p/v) se vertieron de forma independiente a un vaso de precipitado de 500 mL y se dejó en ebullición durante 20 min, posteriormente se dejó enfriar por 10 min. El extracto obtenido se recuperó por filtración y se almacenó 4 °C hasta su uso.

Para obtener el extracto acuoso se tomó el peso del material triturado y el volumen de agua destilada necesarios para preparar las concentraciones de 10, 20 y 30 % (p/v) y se vertieron un frasco de vidrio. El frasco se cerró y la tapadera se selló con Parafilm para evitar la salida de líquidos y gases. Este se dejó reposar durante 24 h en agitación a 50 rpm en un agitador orbital (Orbit™ 1900, Labnet®). El extracto obtenido se recuperó por filtración y se almacenó 4 °C hasta su uso.

Para preparar los medios de cultivos de los extractos de decocción y maceración se utilizó la metodología propuesta por Valero *et al.*, 2014 con algunas modificaciones. Brevemente, los extractos de ambas especies y para las diferentes concentraciones se les agregó agar nutritivo (Mcd, Lab®), según las especificaciones de la marca, para obtener un extracto denominado extracto-agar nutritivo. Estos medios extracto-agar nutritivo se esterilizaron durante 15 min a una temperatura de 125 °C en un autoclave (Felisia, modelo Fe-369). A continuación, se vaciaron de forma independiente usando aproximadamente 15 mL de medio extracto-agar nutritivo en cajas de Petri desechables de 100 mm de diámetro por 15 mm de profundidad. Una vez que los medios se solidificaron se inocularon con un disco de 5 mm de diámetro y 3 mm de altura con micelio del patógeno al centro de la placa Petri (Dhingra & Sinclair, 1985). Se realizaron 3 repeticiones por cada concentración y para cada hongo. Como grupo control se preparó agar nutritivo sin extracto y fueron inoculados en las mismas condiciones previamente descritas. Las cajas Petri inoculadas de todos los tratamientos se mantuvieron a 26 °C en una estufa de cultivo (Conviron®, Model I-18L) por un periodo de 10 días. En este tiempo, el diámetro del crecimiento micelial se midió con un vernier electrónico (Absolute Aos, Digimatic Mitutoyo®) cada 24 h hasta los 10 días de incubación.

#### 2.3.2. Etanólico

El material vegetal de cada especie y de cada concentración se vertió en un frasco de vidrio con el volumen de etanol necesario para preparar las concentraciones de 10, 20 y 30 % (p/v). Los frascos se cerraron y la tapadera se selló con papel Parafilm® para evitar la salida de líquidos y gases. Además, los frascos se cubrieron con papel aluminio para aislarlos de la luz y se dejaron reposar durante 7

días con agitación de 50 rpm en agitador orbital (Orbit™ 1900, Labnet®). Posteriormente el sobrenadante se recuperó mediante filtración y se concentró en un rotaevaporador (Rotavapor™, Büchi™ R-II) a 78 °C a 30 rpm hasta obtener un cuarto del volumen total. El volumen del extracto recuperado se sometió a filtración al vacío en un sistema de filtro de vacío aséptico Sterifil™ (Merck™) con un filtro Foxx Nylon Membrane de 47 mm de diámetro y 0.45 µm (Ezflow®, Membrane). El sobrenadante se recuperó y se almacenó a 4 °C hasta su uso.

Para preparar los medios de cultivo con los extractos etanólicos envenenados, se preparó agar nutritivo (Mcd, Lab®), según las especificaciones de la marca y se esterilizó durante 30 min a una temperatura de 125 °C en autoclave (Felisa® modelo Fe-369). Posteriormente se vertió en cajas Petri desechables de 100 mm de diámetro por 15 mm de profundidad. Una vez solidificado el medio, se depositó 1 mL del extracto dejando reposar durante 10 min a temperatura ambiente (Rodríguez *et al.*, 2000). A continuación, se procedió a inocular con un disco de 5 mm de diámetro y 3 mm de altura con micelio del patógeno al centro de la placa Petri (Dhingra and Sinclair, 1985). Se realizaron 3 repeticiones por cada concentración y para cada hongo. Como grupo control se utilizó un medio de cultivo de agar nutritivo al cual se le adicionó 1 mL de etanol dejándose reposar por 10 min y se inocularon en las mismas condiciones como las realizadas para los otros tratamientos. Las cajas Petri inoculadas de todos los tratamientos se mantuvieron a 26 °C en una estufa de cultivo (Conviron® Model I-18L, Winnipeg, Canadá) en un periodo de 10 días. En este tiempo, el diámetro del crecimiento micelial se midió con un vernier electrónico (Absolute Aos, Digimatic Mitutoyo®) cada 24 h hasta los 10 días de incubación.

#### 2.4. Determinación del porcentaje de crecimiento

El porcentaje de crecimiento se determinó respecto al crecimiento del hongo en el medio de control, mediante la siguiente ecuación 1:

Ecuación 1: %I.C.M.

$$\%I.C.M. = \frac{D_c - D_t}{D_c} \times 100 \quad (\text{Ec. 1})$$

Donde:

% I.C.M.: Porcentaje de inhibición de crecimiento del micelio.  
 D<sub>c</sub>: Diámetro del crecimiento del micelio en la caja de Petri correspondiente al control.  
 D<sub>t</sub>: Diámetro del crecimiento del micelio en la caja de Petri correspondiente al tratamiento.

#### 2.5. Análisis de datos

Los resultados obtenidos se evaluaron en el programa IBM® SPSS® Statistics versión 23, se realizó un análisis de regresión lineal univariado, para determinar el efecto de cada tratamiento en el crecimiento del micelio. Posterior a la evaluación de los datos por ANOVA, las diferencias significativas entre los tratamientos se determinaron mediante prueba de comparación múltiple de Duncan.

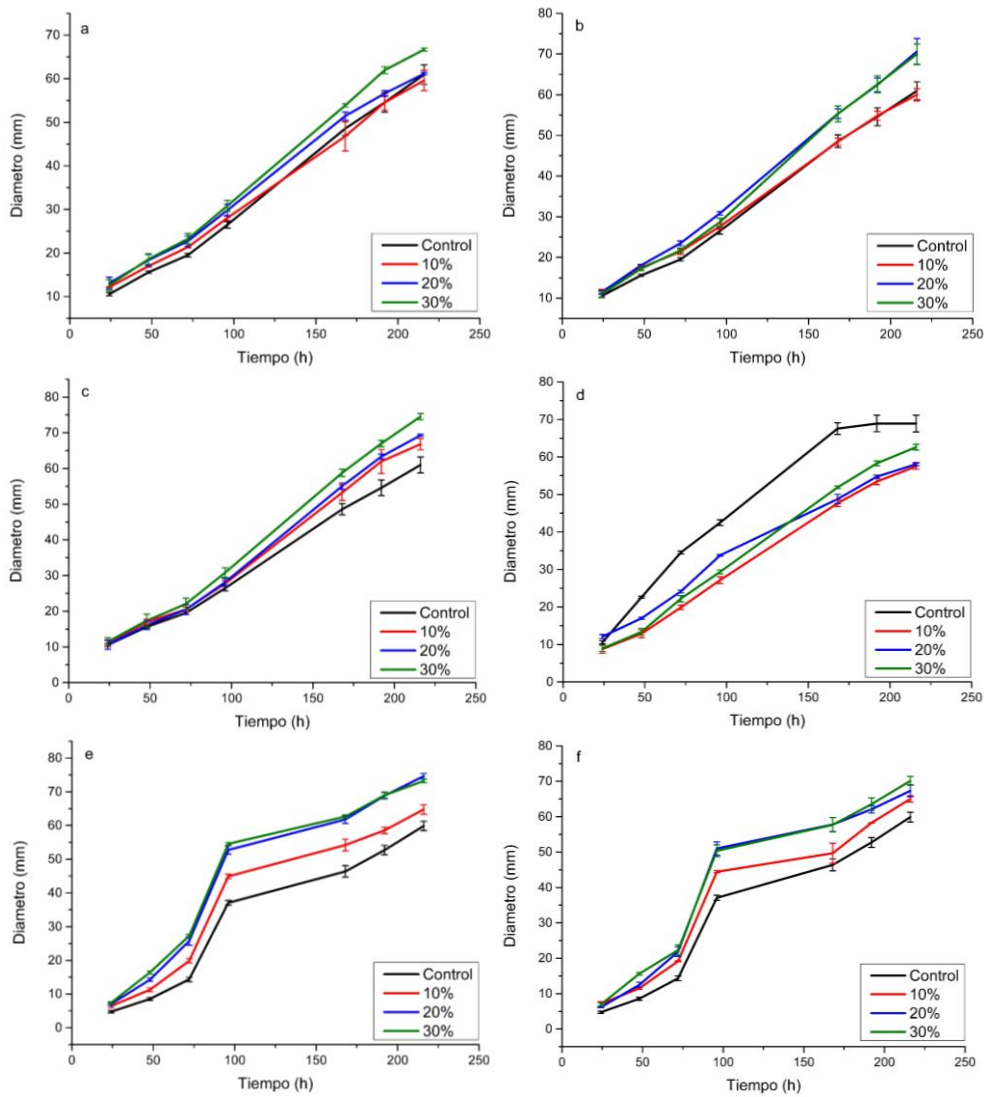
### 3. Resultados y discusión

En la actualidad se está incrementando la búsqueda de métodos de control más amigables con el medioambiente para la eliminación de fitopatógenos. El uso de extractos vegetales para el control de hongos fitopatógenos en el marco de una agricultura sostenible constituye una alternativa prometedora, debido a su bajo costo, efectividad y no contaminar el ambiente.

En el presente estudio se evaluó el efecto de los extractos acuosos y etanólicos, sobre el crecimiento del micelio de dos hongos fitopatógenos. Se realizaron medios extracto-agar nutritivo a tres diferentes concentraciones (10 %, 20 % y 30 %) y se registró el crecimiento del micelio cada 24 h por un periodo de 10 días. Las mediciones se usaron para determinar el porcentaje del crecimiento de las cepas con el objetivo de determinar cuál de los extractos acuosos ejercía un mayor efecto sobre los diferentes hongos fitopatógenos. Los resultados en este estudio no mostraron porcentajes de inhibición para las dos cepas de hongos analizadas, si no que más bien tuvo el efecto contrario al esperado, ya que los extractos estudiados promovieron el crecimiento micelial de ambos hongos (Fig. 3 y 4).

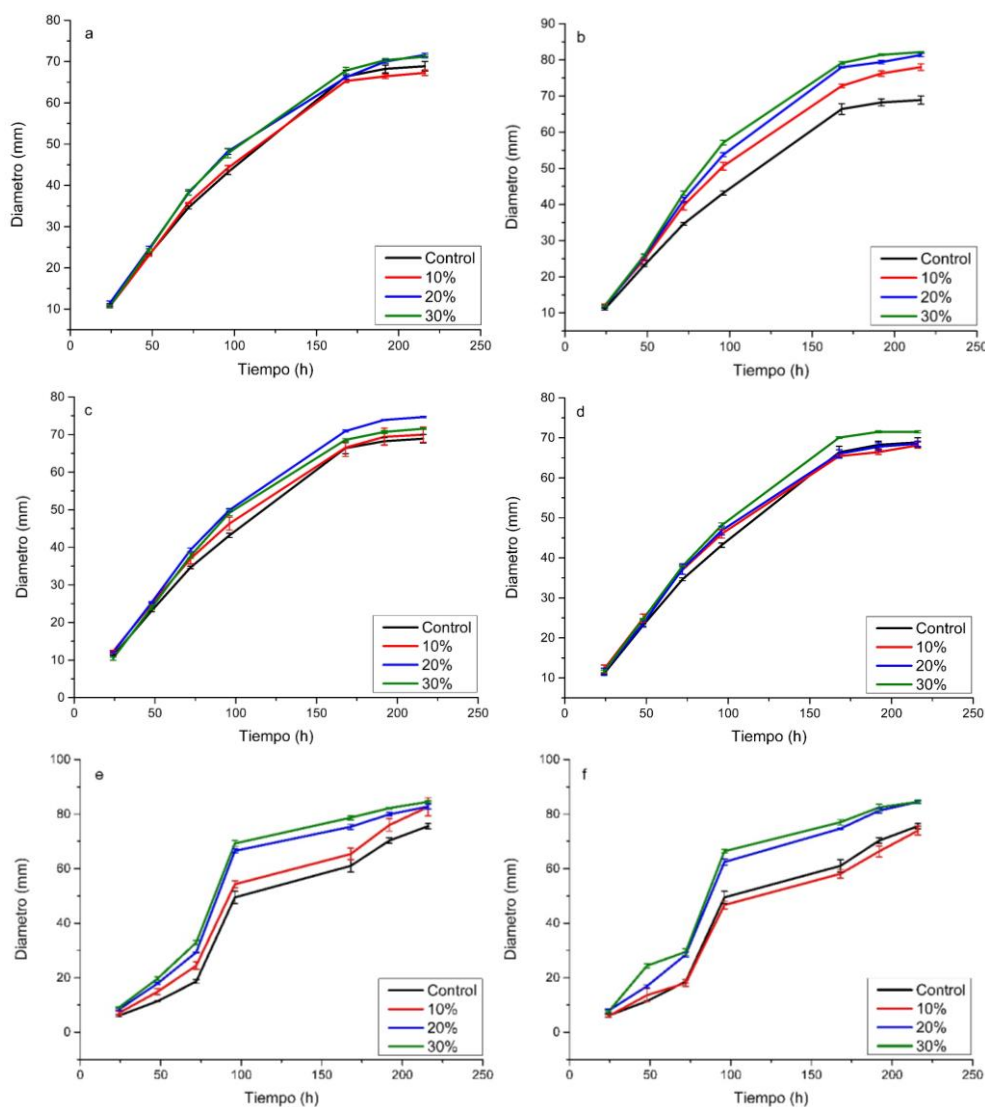
En nuestro estudio el efecto de los extractos obtenidos mediante los métodos de decocción y maceración acuosa de *C. imbricata* sobre el crecimiento de *Aspergillus* sp. fue muy semejante en las tres concentraciones evaluadas a lo largo del tiempo de evaluación (Fig. 3a y c). Sin embargo, las diferentes concentraciones de los extractos etanólicos de *C. imbricata* provocaron un aumento del crecimiento micelial en relación con la concentración utilizada a partir de 24 h de la inoculación (Fig. 3e). No obstante, cuando los extractos de *C. leptocaulis* fueron inoculados con la misma especie se observaron crecimientos miceliales diferenciales (Fig. 3b, d y f). El efecto del extracto obtenido de la decocción mostró un incremento en el crecimiento de *Aspergillus* sp. desde las 125 h (Fig. 3b), sin embargo, en el extracto obtenido de la maceración acuosa de *C. leptocaulis* el grupo control fue el que presentó un crecimiento exponencial desde las 24 h después de la inoculación hasta las 170 h, mientras que las concentraciones presentaron una tendencia similar en el crecimiento en todo el tiempo de evaluación (Fig. 3d). Finalmente, cuando se analizó el crecimiento de *Aspergillus* sp. con el extracto etanólico de *C. imbricata* se observó un comportamiento en el crecimiento similar al observado para el extracto etanólico analizado de *C. leptocaulis* (Fig. 3e y f).





**Figura 3.** Efecto de los diferentes extractos sobre el crecimiento del micelio de *Aspergillus* sp. a. decocción de *C. imbricata*, b. decocción de *C. leptocaulis*, c. acuosa de *C. imbricata*, d. acuosa de *C. leptocaulis*, e. etanólica de *C. imbricata* y f. etanólica de *C. leptocaulis*.

**Figure 3.** Effect of the different extracts on the growth of the mycelium of *Aspergillus* sp. a. decoction of *C. imbricata*, b. decoction of *C. leptocaulis*, c. aqueous of *C. imbricata*, d. aqueous of *C. leptocaulis*, e. ethanolic of *C. imbricata* and f. ethanolic of *C. leptocaulis*.

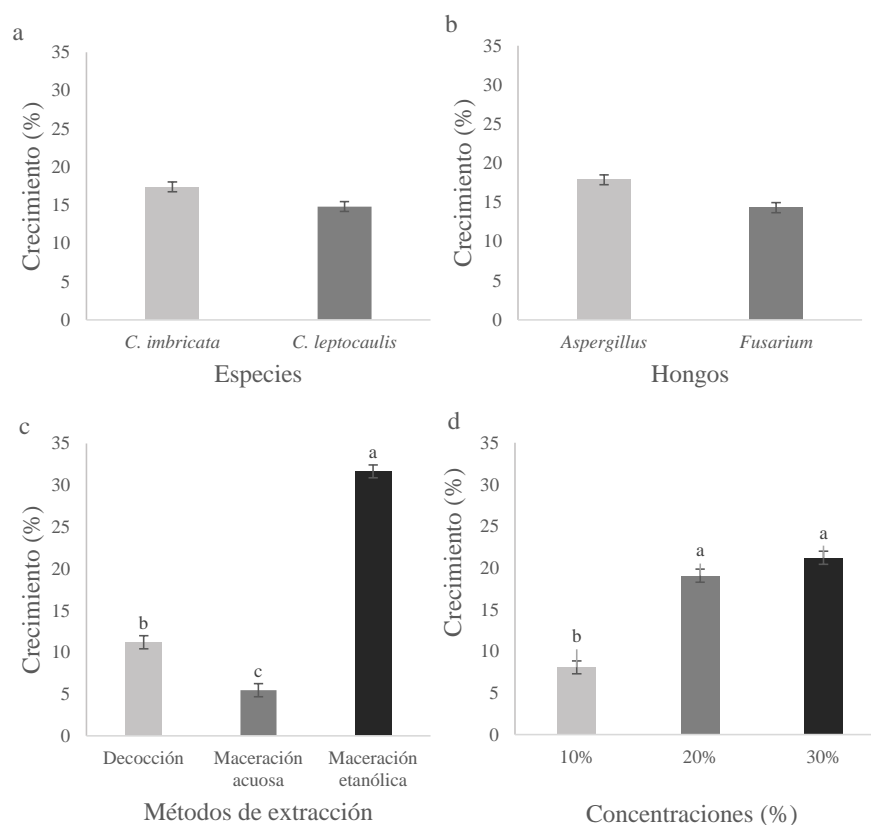


**Figura 4.** Efecto de los diferentes extractos sobre el crecimiento del micelio de *Fusarium* sp. a. decocción de *C. imbricata*, b. decocción de *C. leptocaulis*, c. acuosa de *C. imbricata*, d. acuosa de *C. leptocaulis*, e. extracción etanólica de *C. imbricata* y f. etanólica de *C. leptocaulis*.

**Figure 4.** Effect of the different extracts on the growth of the mycelium of *Fusarium* sp. a. decoction of *C. imbricata*, b. decoction of *C. leptocaulis*, c. aqueous of *C. imbricata*, d. aqueous of *C. leptocaulis*, e. ethanolic of *C. imbricata* and f. ethanolic of *C. leptocaulis*.

Respecto al crecimiento de *Fusarium* sp., el efecto de los métodos de extracción de decocción y maceración de *C. imbricata* sobre el crecimiento de *Aspergillus* sp. fue muy semejante en las tres concentraciones evaluadas a lo largo del tiempo (Fig. 4a y c), sin embargo, al igual que en *Aspergillus* sp., las diferentes concentraciones de los extractos etanólicos de *C. imbricata* mostraron un aumento del crecimiento micelial conforme aumenta la concentración de extracto utilizada a partir de 24 h después de la inoculación (Fig. 4e). El extracto obtenido de la decocción de *C. leptocaulis* presentó un incremento en crecimiento después de las 50 h (Fig. 4b), sin embargo, los extractos obtenidos por maceración acuosa presentaron un crecimiento muy semejante en las tres concentraciones evaluadas (Fig. 4d). Finalmente, el crecimiento de *Fusarium* sp. en el medio con la extracción etanólica de *C.*

*leptocaulis* muestra un comportamiento similar que con en la extracción etanólica de *C. imbricata*, con un crecimiento con comportamiento sigmoideo en el que el mayor crecimiento se da entre las 72 y 96 h (Fig. 4e y f). Nuestros resultados también indicaron diferencias significativas entre los extractos de las dos plantas, siendo los extractos de *C. imbricata* los que presentaron una mayor promoción del crecimiento con respecto a la obtenida de *C. leptocaulis* (Fig. 5a).



**Figura 5.** Efecto de los extractos sobre crecimiento de dos hongos fitopatógenos. a. Efecto de la especie. b. Efecto en los dos hongos. c. Efecto del método de extracción. d. Efecto de la concentración.

**Figure 5.** Effect of the extracts on the growth of two phytopathogenic fungi. a. effect of the species. b. effect on the two fungi. c. effect of the extraction method. d. effect of concentration.

Cuando se analizó el crecimiento micelial teniendo en cuenta el género de los hongos, *Aspergillus* sp. fue la cepa que presentó la mayor promoción del crecimiento en todos los tratamientos, mientras que *Fusarium* sp. presentó el menor crecimiento (Fig. 5b). Así mismo, se observó que el extracto que presentó una mayor promoción de crecimiento micelial fue el extracto etanólico, seguido de los extractos obtenidos de la decocción y de los obtenidos por maceración acuosa (Fig. 5c). Al analizar el efecto de la concentración se observó que la concentración del 30 % fue la que presentó una mayor promoción del crecimiento micelial, seguida de la concentración del 20 % y 10 % (Fig. 5d).

En este estudio se observó una promoción del crecimiento micelial de un 14.3 % para cepa de *Fusarium* sp. Estos resultados fueron similares a los obtenidos en estudios previos de nuestro grupo, donde los extractos acuosos de *C. imbricata* promovieron el crecimiento micelial en un 1.3 al 18.82 %

de *Fusarium* sp. (Fong, 2017). Además, estos resultados fueron más altos a los resultados obtenidos de extractos acuosos de cladodios de *O. engelmannii* y *O. macrocentra*, los cuales promovieron el crecimiento micelial de *F. oxysporum* en un 8.1 % (Fong, 2017). No obstante, estos resultados fueron más bajos a los resultados del análisis de extractos obtenidos por decocción de harina de semilla de *C. cajan*, *V. radiata* y *V. unguiculata*; los cuales promovieron el crecimiento micelial en un 126 %, 62.9 % y 52.6 %, respectivamente, sobre la cepa de *F. oxysporum* (Moros et al., 2003). Así mismo, fueron más bajos a los determinados por Iturbide et al. (2017) donde encontraron que los extractos obtenidos de *Lilium* promovieron el crecimiento micelial de *F. oxysporum* de 41 % al 79 %. Nuestros resultados también mostraron una promoción del crecimiento micelial de un 17.8 % para cepa de *Aspergillus* sp. Estos resultados fueron más elevados a los determinados por Terrones (2013) donde encontró que los extractos etanólicos de frutos de *C. annuum* promovieron el crecimiento de *A. niger* en un 5 %. En nuestro estudio se observó una promoción del crecimiento micelial de las dos cepas de hongos fitopatógenos (Fig. 5). Estos resultados fueron contradictorios a los efectos observados en otros estudios de extractos de especies de la familia cactácea. Los extractos de aceite de semillas de *O. ficus indica*, inhibieron el crecimiento del micelio de hongos como *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp. y *Fusarium* sp. (Khémiri et al., 2019). Así mismo, extractos fenólicos obtenidos de frutos de *O. oligacantha* inhibieron el crecimiento de *C. gloeosporioides* en 4.15 mm (Solís-Silva et al., 2018). Además, los extractos metanólicos de frutos de *O. dillenii* inhibieron en un 100% a *A. niger*, *C. albicans*, *M. fruticola*, *A. polytricha*, *C. raphigera* y *A. oligospora* a las concentraciones de 1000 µg/mL y 500 µg/mL (Sharavana et al., 2013). Igualmente, extractos de *A. retusus* inhibieron el crecimiento micelial en 1.8 cm de *M. gypseum* y 1.4 cm a *M. nanum* a la concentración de 500 mg/mL (Rodríguez-Garza et al., 2010). El extracto metanólico de *S. pruinosus* inhibió el crecimiento de *M. gypseum* (2.2 cm), *M. nanum* (3.6 cm), *M. canis* (2.2 cm) y *M. cookei* (3.3 cm) a las concentraciones de 500, 250 y 125 mg/mL. También los extractos etanólicos y acuosos de cladodios de *C. deficiens* mostraron efectos inhibitorios del crecimiento micelial de *A. solani*, *F. moniliforme*, *C. gloeosporioides*, *B. maydis*, *F. oxysporum* y *F. oxysporum* f. sp. *cubense* (Zapata et al., 2003).

Aunque en este estudio no se determinó la composición de los compuestos vegetales que se extrajeron de los cladodios de las dos especies de *Cylindropuntias*, se ha documentado que el método más económico para la extracción de compuestos con actividad biológica en plantas es el método basado en la extracción con agua, la cual puede realizarse a través de diversos procedimientos como la maceración, la infusión y la decocción. En estos métodos el material vegetal se tritura y tras la exposición al agua las paredes celulares se reblandecen de tal manera que se liberan compuestos solubles como antocianinas, almidones, taninos, saponinas, terpenoides, polipéptidos y lectinas (Pandey and Tripathi, 2014). La maceración se realiza introduciendo el material vegetal en agua destilada a temperatura ambiente durante no más de 24 h y la decocción consiste en introducir el material en agua hirviendo y dejarlo en ebullición por 20 min (Guerra, 2005). Otro método de extracción es el uso de solventes orgánicos menos polares que el agua como el etanol, el metanol y la acetona. Estos presentan la ventaja sobre las extracciones con agua de obtener compuestos fitoquímicos que no son solubles en agua como ciertos taninos, polifenoles, poliacetilenos, flavonoides, terpenoides, esteroides y alcaloides (Pandey and Tripathi, 2014). En otros extractos acuosos se han extraído compuestos como flavonoides, azúcares, fenoles, terpenoides y proteínas, mientras que en extractos etanólicos compuestos como saponinas, glucósidos y proteínas (Padmalochana and Rajan, 2014). También se han encontrado en los extractos etanólicos saponinas, y en los acuosos glucósidos y esteroides (Bargah, 2015). Aunque no existen muchos estudios de la caracterización de los compuestos en extractos vegetales de cactáceas varios autores han encontrado que los extractos metanólicos de opuntias está caracterizada por presentar compuestos como flavonoides, taninos, alcaloides y glucósidos (Rodríguez-Garza et al., 2010, Sharavana et al., 2013).

Así mismo, la caracterización cualitativa de extractos metanólicos de *S. pruinosus* estuvieron formadas por grupos carbonilo, oxidrilos fenólicos, esteroides, metilesteroides, cumarinas, sesquiterpenlactonas, flavonoides, alcaloides, y saponinas (Treviño et al., 2012).

Los hongos se alimentan de las alta cantidad de azúcares que son una fuente predominante de carbono durante el proceso de la infección en plantas (Solomon et al., 2003). Así mismo, el mucílago de las cactáceas está compuesto por polisacáridos (Koubaa et al., 2015), los cuales podrían ser extraídos en los extractos de *C. imbricata* y *C. leptocaulis* y ser fuente de nutrientes para los dos hongos analizados promoviendo el crecimiento micelial de ambas cepas. Sin embargo, en un estudio de la caracterización de grupos funcionales en extractos de los cilindros de *C. imbricata* se ha encontrado que están constituidos por flavonoides, taninos, cumarinas y lactonas (De la Sota Esparza, 2017).

#### 4. Conclusiones

Los extractos de cladodios de *C. imbricata* y *C. leptocaulis* promovieron el crecimiento micelial de *Fusarium* sp. y *Aspergillus* sp. en condiciones *in vitro*. Los extractos de *C. imbricata* mostró los mayores porcentajes del crecimiento micelial que los observados para los extractos de *C. leptocaulis*. Además, *Fusarium* sp. presentó los porcentajes más altos de crecimiento micelial a los observados para *Aspergillus* sp. En cuanto al tipo de extractos, el etanólico mostró los porcentajes más altos en ambos hongos en comparación que los de decocción y maceración acuosa. Las concentraciones del 20 y 30 % fueron las que mostraron los mayores crecimientos en ambos hongos.

#### Agradecimientos

Este proyecto fue financiado con fondos propios y con el apoyo de la infraestructura del Laboratorio de Reproducción del Departamento de Ciencias Químico Biológicas del Instituto de Ciencias Biomédicas de la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez.

#### Conflicto de interés

Los autores de este escrito no tienen conflicto de intereses en la publicación de estos resultados.

#### 5. Referencias

- Anderson, E. F. (2001). The cactus family. In Timber Press. Portland, Oregon.
- Angulo, E. M., Armenta, R. E., García, E. R., Carrillo, F. J., Salazar, V. E. & Valdez, T. J. (2009). Extractos de semilla *Swietenia humilis* Zucc. con actividad antifúngica en *Rhizopus stolonifer* (Enhermb) vuill. Revista Mexicana de Fitopatología, 27, 84-92.
- Baker, M., Parfitt, B. D., & Rebman, J. (2012). *Cylindropuntia*. In B. G. Baldwin, D. Goldman, D. J. Keil, R. Patterson, T. J. Rosatti, & D. Dieter Wilken (Eds.), The Jepson Manual. Vascular Plants of California (2nd ed.). Berkeley: University of California Press.
- Bargah, R. K. (2015). Preliminary test of phytochemical screening of crude ethanolic and aqueous extract of *Moringa pterygosperma* Gaertn. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 4, 7-9.
- Barnett, H. L., & Hunter, B. B. (1998). Illustrated Genera of Imperfect Fungi (4th ed.). St. Paul: APS Press.

- Bustamante, E., & Búrquez, A. (2005). Fenología y biología reproductiva de las cactáceas columnares. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas*, 50, 68-80.
- Deltoro-Torró, V., Gómez-Serrano, M. A., Laguna Lumbreras, E. & Novoa Pérez, A. 2014. Bases para el control del cactus invasor *Cylindropuntia pallida*. Colección Manuales Técnicos de Biodiversidad, 5. Conselleria d'Infraestructures, Territori i Medi Ambient. Generalitat Valenciana. Valencia, España, 78 pp.
- De la Sota Esparza, G. E. (2017). Evaluación del efecto antidiabético in vitro e in vivo de los extractos de las semillas y penca de *Opuntia engelmannii* y *Cylindropuntia imbricata*, semillas de *Theobroma cacao* y la raíz de *Ibervillea sonorae* (Tesis Doctoral, Universidad Autónoma de Nuevo León).
- Dingra, D. & J. Sinclair. 1985. Basic Plant Pathology Methods. Editorial CRC Press. 448 pp.
- Domijan, A., Feraica, M., Jurjevic, Z., Ivil, D. & Cvjetkovic, B. (2005). Fumonisin B1, fumonisin B2, Zearalenone and ochratoxin A contamination of maize in Croatia. *Food Additives and Contaminants*, 22, 677-680.
- Fong, P. E. (2017). Actividad antifúngica de tres especies de Opuntioideas de Samalayuca, Chihuahua (Tesis licenciatura, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez).
- Gamboa, A. R., Hernández, C. F., Guerrero, R. E., Sánchez, A. A. & Lira, S. R. (2003). Inhibición del crecimiento micelial de *Rhizoctonia solani* Kühn y *Phytophthora infestans* mont (De Bary) con extractos vegetales metanólicos de hojasesn (*Flourensia cernua* D.C). *Revista Mexicana de Fitopatología*, 21, 13-18.
- Guerra, C. E. A. (2005). Obtención, caracterización y evaluación de las propiedades fisicoquímicas de los extractos fluidos, blandos y secos, así como de las tinturas del rizoma y de la fronda de calahuala (*Phlebodium pseudoaureum*) a nivel de laboratorio (Tesis de Licenciatura, Universidad de San Carlos Guatemala).
- Guerrero, R. E., Solís, G. S., Hernández, C. F., Flores, O. A., Sandoval, L. V. & Jasso, C. D. (2007). Actividad biológica in vitro de extractos de *Flourensia cernua* D. C. en patógenos de postcosecha: *Alternaria alternata* (FR:FR) keissl. *Colletotrichum gloeosporioides*. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 25, 48-53.
- Guzmán, U., Arias, S., & Dávila, P. (2003). Catalogo cactáceas mexicanas. México: Universidad Autónoma de México. CONABIO, México, 315 pp.
- Hunt, D. (2016). CITES. Cactaceae Checklist (3rd ed.). Royal Botanic Gardens Kew. & International Organization for Succulent Plant Study, Kew, 174 pp.
- Iturbide, Z. A. S., Colinas, L. M. T. B., Lozoya, S. H., Medina, M. S. A., & Ayala, A. J. (2017). Evaluación in vitro de extractos del género *Lilium* para el control de *Fusarium oxysporum*. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 35, 611-622.
- Khémiri, I., Essghaier, H. B., Sadfi, Z. N., Ben, G. N., & Bitri, L. (2019). The antimicrobial and wound healing potential of *Opuntia ficus indica* L. inermis extracted oil from Tunisia. *Evidence Based Complementary and Alternative Medicine*, 1-10.
- Koirala, P., Kumar, S., Yadar, B. K. & Premarajan, K. C. (2005). Occurrence of aflatoxin in some of the food and feed in Nepal. *Indian Journal of Medical Sciences*, 59, 331-336.
- Koubaa, M., Ktata, A., Barba, F. J., Grimi, N., Mhemdi, H., Bouaziz, F., Chaabouni, S. E. (2015). Water-soluble polysaccharides from *Opuntia stricta* Haw. fruit peels: recovery, identification, and evaluation of their antioxidant activities. *Institute of Agrophysics*, 29, 299-306.
- Lebgue, K. T., Viramontes, O. O., Soto, C. R., Quiñones, M. M., Balderrama, C. S., & Aviña D. Y. (2011). Cactáceas endémicas y raras del Estado de Chihuahua, México. *Tecnociencia Chihuahua*, 5, 27-33.
- Lopes, M. C. & Martins, V. C. (2008). Fungal plant pathogens in Portugal: *Alternaria dauci*. *Revista Iberoamericana de Micología*, 25, 254-256.

- López, B. A., López, B. S., Vázquez, B. M., Rodríguez, H. S., Mendoza, E. M. & Padrón, C. E. (2005). Inhibición del crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* Schlechtend. F. SO. *lycopersici* (Sacc.) Snyder y Hasen, *Rhizoctonia solani* Kühn y *Verticillium dahliae* Kleb. mediante extractos vegetales acuosos. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 23, 183-190.
- Martínez, J. F., & Molina, F. F. (2013). Mecanismos de propagación de una población de *Cylindropuntia fulgida* del Desierto Sonorense. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas*, 58, 36-48.
- Moros, A. H., Fontalvo, J., Niño, L., Sánchez, J., Delgado, A., & Villalobos, R. (2003). Crecimiento de *Macrophomina phaseolina* y *Fusarium oxysporum* en medios de cultivo de harina de semillas de frijol *Vigna inguiculata* (L.) Walp., frijol chino *Vigna Radiata* L. y quinchoncho *Cajanus cajan* (L.) Millsp. *Ciencia*, 11, 14-21.
- Padmalochana, K., & Rajan, M. S. D. (2014). Antimicrobial activity of aqueous, ethanol and acetone extract of *Sesbania grandiflora* leaves and its phytochemical characterization. *International Journal of Pharma Sciences and Research*, 5, 957-962.
- Pandey, A., & Tripathi, S. (2014). Concept of standardization, extraction and pre phytochemical screening strategies for herbal drug. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2, 115-119.
- Pinkava, D. J. (1999). Cactaceae cactus family: Part three: *Cylindropuntia* (Engelm.) Knuth chollas. *Journal of the Arizona-Nevada Academy of Science*, 32, 32–47.
- Pinto, N. de C., & Scio, E. (2014). The biological activities and chemical composition of *Pereskia* species (Cactaceae). A Review. *Plant Foods for Hum Nutr.*, 69, 189-195.
- Pose, G., Ludemann, V., Segura, J. & Fernández, P. V. (2004). Mycotoxin production by *Alternaria* strains isolated from tomatoes affected by blackmold in Argentina. *Mycotoxin Research*, 20, 80-86.
- Rodríguez, A. T., Morales, D., Ramírez, M. A. 2000. Efecto de extractos vegetales sobre el crecimiento in vitro de hongos fitopatógenos. *Cultivos Tropicales*, 21, 79-82.
- Rodríguez-Garza, R. G., Morales R., M. E., Verde S., M. J., Oranday C., A., Rivas M., C., Núñez G., M. A., Treviño N., J. F. (2010). Actividad antibacteriana y antifúngica de las especies *Ariocarpus kotschoubeyanus* (Lemaire) y *Ariocarpus retusus* (Scheidweiler) (Cactaceae). *Revista Mexicana de Ciencias Farmaceuticas*, 41, 55-59.
- Sharavana, K. A. P., Vanitha, J., Venkateshwaran, K., Srikanth Reddy, K., & Karthikeyan, D. (2013). Antibacterial and Antifungal Activity of *Opuntia dillenii* (Cactaceae) Fruit Extract. *Journal of Environmental Nanotechnology*, 2, 5-12.
- Solís-Silva, R., Reyes, M. A., Madariaga, N. A., Campos, M. R. G., Medina, P. G., & Cenobio, G. A. D. J. (2018). Evaluación de la actividad antifúngica y antioxidante de una nanoemulsión W/O de *Opuntia oligacantha* y aceite esencial de *Citrus X sinensis*. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 3, 182-187.
- Solomon, P. S., Tan, K., & Oliver, R. P. (2003). The nutrient supply of pathogenic fungi; a fertile field for study. *Molecular Plant Pathology*, 4, 203–210.
- Terrones, G. (2013). Efecto antifúngico del extracto etanólico de frutos secos de *Capsicum annuum* var. *annuum* “pimentón” sobre el crecimiento de *Alternaria solani*, *Fusarium oxysporum* y *Aspergillus niger*. *Sagasteguiana*, 1, 31–40.
- Treviño, J. F., Rodríguez, R. G., Verde, M. J., Morales, M. E., Garza, R. A., Rivas, C., & Oranday, A. (2012). Actividad antifúngica de *Stenocereus pruinosus* y *Echinocereus stramineus*. *Revista Mexicana de Ciencias Farmaceuticas*, 43, 42-48.
- Valero, G. J., González Díaz, C. A., & González F. R. (2014). Efecto de los extractos de hojas de plantas de gobernadora (*Larrea tridentata*), hojaseen (*Flourensia cernua*) y encino (*Quercus pungens*), sobre el crecimiento micelial in vitro de hongos fitopatógenos. *Acta Universitaria*, 24, 13-19.

Zapata, R., Sanabria, M. E., & Rodríguez, D. (2003). Reducción del desarrollo de hongos fitopatógenos con extracto de cardón lefaria (*Cereus deficiens* Otto & Diert). *Interciencia*, 28, 302-306.

© 2020 TECNOCENCIA CHIHUAHUA. Todos los derechos reservados.