



EVALUACIÓN DEL ACEITE DE GERANIO (*PELARGONIUM GRAVEOLANS* L.) POR SU CAPACIDAD ANTIFÚNGICA *IN VITRO* CONTRA *MONILINIA* *FRUCTICOLA*

Stegmayer, María Inés¹

¹CONICET, Cultivos Intensivos, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Litoral

Área: Ciencias Naturales

INTRODUCCIÓN

La podredumbre marrón es una grave enfermedad causada por el patógeno fúngico *Monilinia fructicola*, que afecta a los frutos de carozo desde el período de floración hasta las etapas de poscosecha y almacenamiento (Martini y Mari, 2014). Su amplia diseminación resulta en grandes pérdidas económicas que van desde el 20 al 40% de la producción según se trate de países más o menos industrializados. El uso descontrolado de fungicidas comerciales como los benzimidazoles y el captan (entre otros), han provocado la aparición de cepas resistentes como también la pérdida de efectividad de estos productos. Su clasificación como patógeno de moderado riesgo por la FRAC (*Fungicide Resistance Action Committee*) (Brent y Hollomon, 1998) hace que sean necesarios nuevos estudios para la búsqueda de alternativas a los fungicidas sintéticos.

OBJETIVOS

Evaluar el aceite esencial de *Pelargonium graveolans* L. (geranio) como posible antifúngico frente al patógeno *Monilinia fructicola*.

METODOLOGÍA

Se cosechó geranio cultivado en condiciones de invernadero en el Centro de Cultivos Intensivos y Forestales (C.E.C.I.F), rico en compuestos bioactivos según cita la literatura, en el verano 2017 (Dimitri y Parodi, 1977) (Figura 1). Utilizando un destilador Clevenger (Figura 2) fabricado según normas farmacopeicas, se realizaron destilaciones por arrastre con vapor de agua y se obtuvo el aceite esencial.

Por otro lado, se aisló y caracterizó una cepa del patógeno proveniente de duraznos afectados de la zona.

M. fructicola fue identificado y caracterizado por el



Figura 1: *P. graveolans* L. (geranio) en cultivo

Título del proyecto: **Aplicación de extractos de plantas para el control de patógenos fúngicos que afectan en la poscosecha de frutas con importancia económica regional.**

Instrumento: PICT 2259

Año convocatoria: 2015

Organismo financiador: Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT)

Director/a: Marcos G. Derita

departamento de Fitopatología de la Estación Experimental San Pedro del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Argentina, con el código: INTA-SP345

Placas de Petri de vidrio estériles de 60 mm de diámetro fueron cubiertas con 20 mL de medio APD y una vez solidificado el mismo, se colocó en el centro, 10 μ L de inóculo fúngico en concentración de 10^5 a 10^6 UFC (Unidades Formadoras de Colonias) mL^{-1} (Álvarez-Castellanos y col, 2001).



Figura 2:
Destilador tipo
Clavenger

Una vez evaporada el agua de la solución de conidios inoculada, en el centro de la tapa de la placa de Petri se depositaron 15 μ L de aceite esencial de geranio o agua (experimento control). Dicha cantidad de aceite esencial corresponde a una concentración de 1000 ppm teniendo en cuenta el volumen de la placa de Petri. Las placas de Petri así preparadas, fueron incubadas de forma invertida, de manera que el aceite esencial que se evapora entre en contacto con el medio de cultivo donde está creciendo el hongo. Las medidas de la superficie del micelio desarrollado en cada placa, fueron calculadas mediante el programa ImageJ (Rasband y col, 2011), una vez que el micelio de las placas control cubrió por completo la superficie del medio. Se realizaron experimentos por triplicado, de manera que se obtuvo un valor promedio de los diámetros de crecimiento fúngico que permitieron calcular el porcentaje de inhibición según la siguiente ecuación (1):

$$I\% = 100(C - M)/C \quad (1)$$

Siendo I% el porcentaje de inhibición, C el promedio de los diámetros de las 3 placas control y M el promedio de los diámetros de las 3 placas con muestra de aceite esencial.

Análisis de la composición química: el aceite esencial fue sometido a cromatografía gaseosa acoplada a espectroscopia de masas (CG-EM) con el objetivo de identificar sus principales componentes. Los compuestos fueron identificados mediante comparación de los espectros de masas con la base de datos NIST 2011 que dispone el equipo.

Las muestras fueron analizadas con un Cromatógrafo gaseoso Agilent modelo 7890B acoplado a un Espectrómetro de Masas Agilent modelo 5977^a, columna: HP-5MS UI (30m x 0.25mm con 0.25 μ m de film). Las condiciones de corrida fueron las siguientes: Inyector 250 °C-Temperatura de la columna: 160 °C mantenido por 3 min, llevando a 5 °C/min hasta 30 °C-Tiempo de corrida: 31 min. EM: full SCAN: 50-400. Volumen de inyección: 1 μ L- Split: 1:20.

RESULTADOS

Se cosecharon 652,7 g de material vegetal fresco correspondiente a hojas y se obtuvo 2 mL de aceite esencial, esto representa un rendimiento de 0,31%.

El resultado de los porcentajes de inhibición del patógeno se detalla en la tabla 1.

Tabla 1: porcentaje de inhibición del aceite de geranio contra el patógeno *M. fructicola* según la metodología ensayada

				Promedio	Porcentaje de inhibición
Control (cm ²)	22.449	22.955	23.192	22.865	0%
Aceite esencial de Geranio (cm ²)	0.000	0.000	0.000	0.000	100%

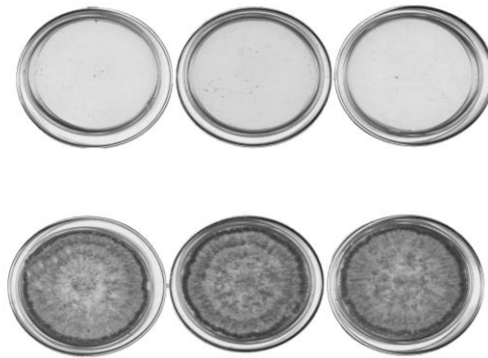


Figura 3: Porcentajes de inhibición de *M. fructicola*

El aceite de geranio se caracterizó de acuerdo con la presencia de sustancias volátiles cuyo porcentaje en la misma fuese mayor al 1%. La figura 4, muestra el cromatograma obtenido.

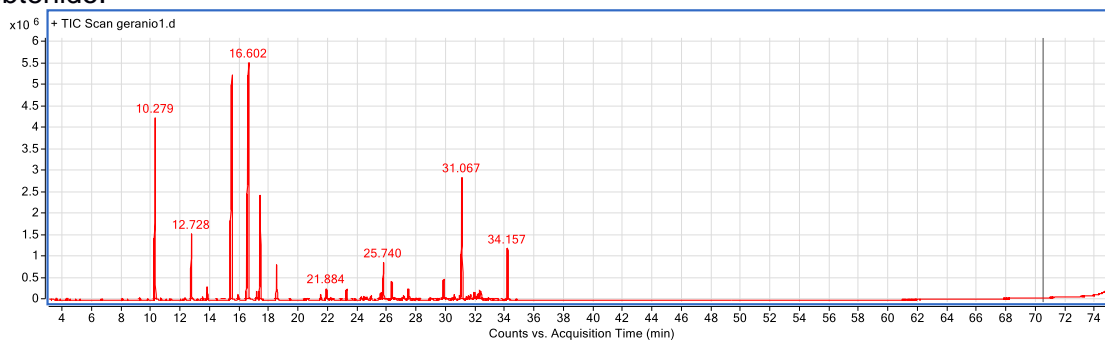


Figura 4: Cromatograma obtenido mediante CG-EM del aceite esencial de geranio.

En la tabla 2 se muestra la composición química, los tiempos de retención de los compuestos según el cromatograma de arriba (figura 4) y el porcentaje de los mismos en la muestra de aceite de geranio.

Tabla 2: Composición química, tiempos de retención en el cromatograma y porcentaje en la mezcla de la muestra de aceite de geranio.

Compuesto	Tiempo de retención en el cromatograma (min)	Porcentaje en la mezcla (%)
-----------	--	-----------------------------

Geraniol	16,602	24,89
Citronelol	15,469	19,50
β -Linalol	10,279	10,92
γ -Eudesmol	31,067	8,93
Formiato de citronelilo	17,392	6,30
Isomentona	12,728	3,73
Tiglato de geraniol	34,157	3,30
D-Germacreno	25,740	2,55
Formiato de geraniol	18,496	2,14

En la figura 5 se muestran las estructuras químicas de los compuestos más abundantes en el aceite de geranio.

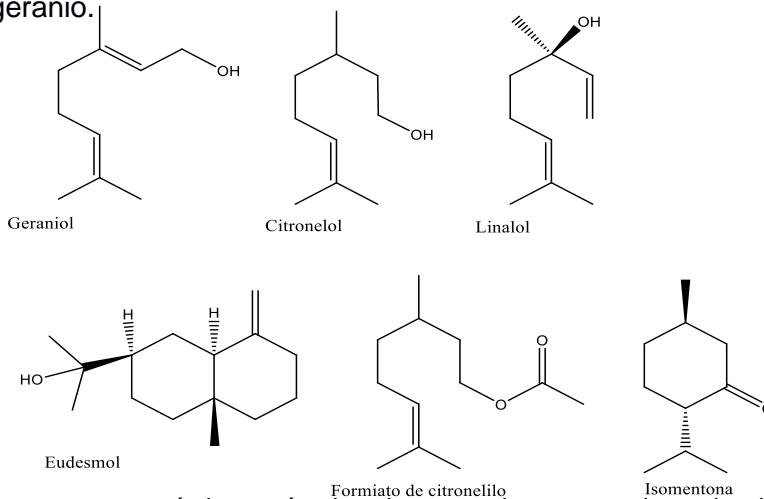


Figura 5: compuestos químicos más abundantes en la muestra de aceite de geranio.

CONCLUSIONES

Estos resultados sustentan la hipótesis de que es posible el uso de productos naturales menos tóxicos para el tratamiento de infecciones fúngicas en duraznos, al mismo tiempo que desafían su puesta a punto en modelos *in vivo*.

BIBLIOGRAFÍA BÁSICA

- Brent, K. J., y Hollomon, D. W.** 1998. Fungicide resistance: the assessment of risk . Brussels: Global Crop Protection Federation, 1-48
- Dimitri, M. J., y Parodi, L. R.** 1977. Enciclopedia argentina de agricultura y jardinería (No. 630). Acme
- Martini, C., y Mari, M.** 2014. Monilinia fructicola, Monilinia laxa (Monilinia rot, brown rot). In Postharvest Decay, 233-265.
- Alvarez-Castellanos, P. P., Bishop, C. D., & Pascual-Villalobos, M. J.** 2001. Antifungal activity of the essential oil of flowerheads of garland chrysanthemum (*Chrysanthemum coronarium*) against agricultural pathogens. *Phytochemistry*, 57(1), 99-102.
- Rasband, W. S., Image, J., & US National Institutes of Health.** 1997. 2011, ". ImageJ64," US National Institutes of Health, Bethesda, MD.