

ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA *In Vitro* DE ACEITES ESENCIALES DE MOLLE (*Schinus molle*) Y MUÑA (*Minthostachys mollis* GRISEB) SOBRE *Botrytis cinerea*

María Elena León-Marrou, Sandra Pagador, Irma Yupari-Azabache y Jorge Luis Díaz-Ortega

RESUMEN

Botrytis cinerea es un hongo fitopatógeno que causa pérdidas económicas en el ámbito agroindustrial. Los aceites esenciales (AEs) son una alternativa para el control de este microorganismo y protección de productos hortofrutícolas. El objetivo de este trabajo fue determinar la actividad antifúngica *in vitro* de los AEs de las plantas de molle (*Schinus molle*) y muña (*Minthostachys mollis* Griseb) sobre *B. cinerea*. Se aplicó un diseño experimental por bloques completamente al azar con 5 tratamientos y 3 repeticiones, se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Mínima Fungicida (CMF), se trabajó con concentraciones de 0,02%; 0,05%; 0,40%; 1,60%; 6,30% de AEs de molle, muña y combinados (molle:muña de 70:30; 80:20 y 90:10), los cua-

les se aplicaron sobre *B. cinerea*. Mediante la prueba estadística Kruskal Wallis se encontró que el AE de muña presenta mejor actividad fungicida en relación al molle. El AE de muña presentó CMI y CMF frente a *B. cinerea* al 0,05% y 0,1% respectivamente, el AE de molle no reportó CMI ni CMF sobre *B. cinerea* a ninguna de las concentraciones trabajadas, así también, las combinaciones de 80:20 y 90:10 reportaron CMI y CMF a las concentraciones de 3,2% y 1,6% respectivamente. Se concluye que el AE de muña presenta actividad inhibitoria y fungicida a las concentraciones de 0,05% y 0,1% respectivamente frente a *B. cinerea*, mientras que el molle presenta actividad antifúngica solo al combinarse con el AE de muña.

Introducción

La incorporación de frutas y verduras en la dieta, constituye la base fundamental de una alimentación saludable, en ese sentido las Naciones Unidas declaró al 2021 como el Año Internacional de las frutas y verduras, ya que éstas aportan vitaminas y minerales, además de contener agua, fibra y elementos funcionales fortaleciendo nuestro sistema inmunológico (Cui *et al.*, 2021). La vida útil de las frutas y hortalizas durante la etapa postcosecha, se ve afectada por actores intrínsecos, como la respiración, transpiración, producción de etileno, actividad de agua, entre otros, así como a factores externos, como los daños mecánicos (magulladuras, cortes) los cuales

constituyen una puerta de ingreso para hongos y bacterias que afectan la calidad de los mismos, causando enfermedades como podredumbre, degradación, pérdida de sabor y malos olores (Chen *et al.*, 2021). Las enfermedades en etapa postcosecha de productos hortofrutícolas más comunes son las producidas por hongos, entre las que pertenecen los siguientes géneros: *Penicillium digitatum* (moho verde) y *Penicillium italicum* (moho azul), *Alternaria citri*, *B. cinerea* (moho gris), *Geotrichum candidum*, *Phytophthora*, *Citrophthora*, *Phomopsis*, *Diplodia*, *Rhizopus nigricans*, entre otros, siendo el hongo *B. cinerea* el de mayor extensión e importancia económica, porque genera aproximadamente 25% de pérdidas durante la cosecha

y un 37% durante el segundo pico productivo, muchas veces hasta el 70% de pérdidas durante toda la cadena productiva (Poveda *et al.*, 2020), en ese mismo contexto Hua *et al.* (2018) mencionan que *B. cinerea* es un hongo polífago con un extenso rango de hospedantes, reportándose más de 1400 especies de plantas, 596 géneros y 170 familias. *B. cinerea* se caracteriza por presentar un gran número de esporas asexuales, lo cual hace que se expanda rápidamente (Chen *et al.*, 2021). En este panorama los fungicidas sintéticos conforman una alternativa rápida para su control, sin embargo la aplicación de manera continua se enfrenta a muchos desafíos legales y ambientales (Lykogianni *et al.*, 2021), en base a ello, los

antimicrobianos de origen vegetal, incluidos los aceites esenciales, han desarrollado un interés como una posible alternativa frente a los conservantes sintéticos, debido a su naturaleza ecológica, así mismo la Food and Drug Administration (FDA) los ha clasificado como Generalmente Reconocido como Seguros (GRAS) (Bhavaniramya *et al.*, 2019). Los aceites esenciales (AEs) se definen como metabolitos secundarios volátiles de las plantas, que les proporcionan olor, sabor o ambos distintivos, producidos por más de 17.500 especies de plantas de muchas familias de angiospermas, por ejemplo, Lamiaceae, Rutaceae, Myrtaceae, Zingiberaceae y Asteraceae, pero solo unas 300 de ellas se comercializan a

PALABRAS CLAVE / Aceites Esenciales / Actividad Antifúngica / *B. cinerea* /

Recibido: 11/04/2023. Modificado: 09/06/2023. Aceptado:12/06/2023.

María Elena León-Marrou. Doctora en Ciencias de Alimentos, Universidad César Vallejo (UCV), Trujillo, Perú. Docente investigador RENACYT, Universidad César Vallejo, Trujillo, Perú.
Sandra Pagador (Autor de correspondencia). Maestra en

Ciencias, Instituto de Investigación en Ciencias y Tecnología, UCV, Perú. Docente investigador RENACYT, Instituto de Investigación Ciencia y Tecnología, UCV, Filial Trujillo, Perú. Dirección: Jr. O'Higgins #123 Buenos

Aires, Trujillo, Perú. e-mail: spagador@ucv.edu.pe

Irma Yupari-Azabache. Doctora en Administración de la Educación. Instituto de Investigación en Ciencias y Tecnología, UCV, Perú. Docente investigador RENACYT, Instituto de

Investigación en Ciencias y Tecnología, UCV, Trujillo, Perú.

Jorge Luis Díaz-Ortega. Doctor en Ciencias Biomédicas. UCV, Perú. Docente investigador RENACYT, Instituto de Investigación en Ciencias y Tecnología, UCV, Trujillo, Perú.

In Vitro* ANTIFUNGAL ACTIVITY OF MOLLE (*Schinus molle* L.) AND MUÑA (*Minthostachys mollis* GRISEB) ESSENTIAL OILS ON *Botrytis cinerea

María Elena León-Marrou, Sandra Pagador, Irma Yupari-Azabache and Jorge Luis Díaz-Ortega

SUMMARY

Botrytis cinerea is a phytopathogenic fungus that causes economic losses in the agroindustrial field. Essential oils (EOs) are an alternative for the control of this microorganism and protection of fruit and vegetable products. The objective of this research was to determine the *in vitro* antifungal activity of the EOs from molle (*Schinus molle*) and muña (*Minthostachys mollis* Griseb) plants on *B. cinerea*. For this purpose, a completely randomized block experimental design with 5 treatments and 3 replicates was applied. The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and the Minimum Fungicide Concentration (CMF) were determined, working with concentrations of 0.02%; 0.05%; 0.40%; 1.60%; 6.30% of EOs of molle, muña and combined

(molle:muña of 70:30; 80:20 and 90:10), which were applied on *B. cinerea*. Using the Krustall Wallis statistical test, it was found that the muña EO had better fungicidal activity than molle. The muña EO presented an MIC and MFC against *B. cinerea* at 0.05% and 0.1%, respectively. The molle EO did not report MIC and MFC against *B. cinerea* at any of the concentrations tested. Likewise, the 80:20 and 90:10 combinations reported MIC and MFC at concentrations of 3.2% and 1.6%, respectively. It is concluded that the muña EO presents inhibitory and fungicidal activity at concentrations of 0.05% and 0.1% respectively against *B. cinerea*, whereas molle presents antifungal activity only when combined with the muña EO.

ATIVIDADE ANTIFÚNGICA *In Vitro* DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE MOLLE (*Schinus molle*) E MUÑA (*Minthostachys mollis* GRISEB) SOBRE *Botrytis cinerea*

María Elena León-Marrou, Sandra Pagador, IrmaYupari-Azabache e Jorge Luis Díaz-Ortega

RESUMO

Botrytis cinerea é um fungo fitopatogênico que causa perdas econômicas na área agroindustrial. Os óleos essenciais (OE) são uma alternativa para o controle desse microrganismo e proteção de produtos hortofrutícolas. O objetivo deste trabalho foi determinar a atividade antifúngica *in vitro* de OEs de plantas molle (*Schinus molle*) e muña (*Minthostachys mollis* Griseb) sobre *B. cinerea*. O delineamento experimental inteiramente casualizado foi aplicado em blocos com 5 tratamentos e 3 repetições, determinando-se a Concentração Mínima Inibitória (CMI) e a Concentração Mínima de Fungicida (CMF), trabalhando com concentrações de 0,02%; 0,05%; 0,40%; 1,60%; 6,30% de OEs de molle e muña em *B. cinerea*, que foram aplicados separadamente

e combinados (molle:muña de 70:30; 80:20 e 90:10). Por meio do teste estatístico Kruskal Wallis, constatou-se que o OE de muña apresenta melhor atividade fungicida em relação ao molle. Os OE de muña apresentou um CMI e CMF contra *B. cinerea* a 0,05% e 0,1% respectivamente, OE de molle não relatou CMI ou CMF sobre *B. cinerea* em nenhuma das concentrações trabalhadas, assim como as combinações de 80: 20 e 90:10 relataram MIC e CMF em concentrações de 3,2% e 1,6%, respectivamente. Conclui-se que o OE de muña apresenta atividade inibitória e fungicida nas concentrações de 0,05% e 0,1%, respectivamente, contra *B. cinerea*, enquanto o molle apresenta atividade antifúngica apenas quando combinado com o OE de muña.

nivel industrial. Así mismo, los AEs se producen y almacenan en las plantas dentro de estructuras secretoras complejas, como glándulas, cavidades secretoras y conductos de resina, y están presentes como gotas de líquido en las hojas, tallos, flores, frutos, corteza y raíces de las mismas (Silvestre *et al.*, 2019). A pesar de contener dos o tres componentes principales en un nivel de 20 a 70 %, los AEs son mezclas muy complejas de terpenos, terpenoides y fenilpropanoides principalmente (Masyita *et al.*, 2022), también pueden contener ácidos grasos, óxidos y derivados del azufre, los cuales les proporcionan

propiedades antibacterianas y antimicóticas (Oliveira *et al.*, 2021, Hsuan-Ju *et al.*, 2022). En relación al molle (*S. molle*) y muña (*M. mollis* Griseb) son plantas oriundas del Perú. Molle es una especie de la familia Anacardiaceae, y las investigaciones sobre esta planta en su mayoría están dirigidas al ámbito de la medicina, como son el efecto anticancerígeno, actividad antihemostática, anti-séptico y actividades antimicrobianas y antifúngicas causantes de enfermedades al ser humano (Osman *et al.*, 2021). En relación con la agroindustria, la aplicación de AE de molle en frutas y hortalizas para el

control de hongos, específicamente de *B. cinerea*, existen relativamente un reducido número de investigaciones, tal como lo reportan Morales-Rabanales *et al.* (2022) quienes evaluaron las propiedades antifúngicas de películas híbridas que contienen el AE de molle y su efecto protector contra la podredumbre poscosecha del tomate. En relación con la muña, es un arbusto aromático originario de América del Sur y de gran interés farmacológico por sus beneficios (Sánchez-Tito y Collantes-Díaz, 2021) en la prevención de enfermedades en el ser humano como las causadas por *Streptococcus*

mutans, *Lactobacillus acidophilus*, *Enterococcus faecalis*, *Porphyromonas gingivales* y *Cándida albicans*. De lo anteriormente expuesto es conocida la actividad antimicrobiana de molle y muña en el campo medicinal, por lo que es posible que presenten actividad fungicida en el ámbito agroindustrial para el control de *B. cinerea*, patógeno de frutas en etapa poscosecha. Por dicha razón, el presente estudio tiene como objetivo general determinar la actividad antifúngica *in vitro* de aceites esenciales de molle y muña sobre *B. cinerea* y como objetivo específicos, caracterizar la composición del aceite

esencial de molle (*S. molle*) y muña (*M. mollis* Griseb); Determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Mínima Fungicida (CMF) de los aceites esenciales de molle y muña por separado y combinados.

Metodología

Materiales y diseño de estudio

Se utilizaron aceites esenciales de molle (*S. molle* L.) y muña (*M. mollis* Griseb) de tipo comercial de la empresa Inkalys procedentes de Arin, Calca-Valle Sagrado del Cusco, Perú. El hongo *B. cinerea* fue aislado a partir de bayas de arándanos (*Vaccinium corymbosum* L.) proporcionadas por la empresa Hortifrut, distrito Salaverry, provincia de Trujillo, departamento La Libertad, Perú. La caracterización de los AEs se realizó en el laboratorio de investigación de la Universidad Privada Antenor Orrego, Trujillo-Perú y la evaluación de la actividad fungicida de los AEs en estudio para el control de *B. cinerea* se hizo en el laboratorio de investigación de la Universidad César Vallejo, Trujillo-Perú.

Caracterización de la composición química de los AE de molle y muña

La caracterización y composición de los AE se realizó mediante espectroscopía FTIR-ATR. El espectrómetro de FTIR, es el dispositivo donde se produce la interacción entre la radiación infrarroja y la muestra a ser analizada, se acopla un accesorio de Reflexión total atenuada (ATR) que permite analizar muestras sólidas y líquidas. Para la caracterización de los multicomponentes presentes en los AEs en estudio se utilizó un espectrofotómetro infrarrojo Thermo Scientific, Modelo Nicolet ISS0. USA. Las muestras no necesitaron de preparación previa, se agregaron unas gotas del AEs y se procedió a realizar la lectura de los datos. El equipo opera con un software Spectrumare

versión 6.2.0.0055 el cual contiene una base de datos para la comparación de los grupos químicos y compuestos a identificar en el espectro de transmitancia dentro del rango de número de onda de 4000 – 400 cm^{-1} y a temperatura ambiente. (Zohra-Kiari *et al.*, 2018).

Aislamiento e identificación de *B. cinerea*

Se aplicó el método de cámara húmeda descrita por (Senthil Kumar *et al.*, 2021) el cual consiste en colocar papel filtro Whatman N° 4 en placas Petri de 150 x 25 mm procediéndose a esterilizar a 121°C durante 20 minutos a 15 libras de presión en autoclave vertical, All American®. Después de humedecer el papel filtro con agua destilada estéril, se sembraron 15 bayas de arándanos previamente lavados con hipoclorito de sodio al 1% para cada placa Petri. Se almacenaron durante 10 días a temperatura entre 22°C a 25°C en una cabina de flujo laminar Kytel HD-850, permitiendo el crecimiento endógeno del *B. cinerea* en las bayas. Posteriormente, con el micelio obtenido se realizaron cultivos mediante la técnica de siembra por vertido en placas Petri con agar papa dextrosa (PDA) Merk, Darmstadt, Alemania; y adición de ácido láctico 25% para evitar el crecimiento de bacterias (Pei *et al.*, 2019). La identificación de hongos se fundamenta en la aplicación macroscópica y microscópica, así como la utilización de claves taxonómicas específicas (Hibbett *et al.*, 2018). Dentro del análisis microscópico se consideraron factores como: tipo, forma, dimensión de conidióforo y esporas; y para el análisis macroscópico, se consideraron aspectos de la colonia como color, tipo de micelio y cambio de color de cultivo. La tinción se llevó a cabo con fucsina.

Preparación de solución madre de los AE de molle y muña

Se aplicó la metodología recomendada por Amiri *et al.*

(2022). Para la elaboración de la solución madre se colocaron 15ml de cada AE en envases color ámbar, se agregó etanol 96° Merck, y Tween 20% como surfactante, ambos en una concentración al 0,1% con respecto al volumen de los AEs para favorecer su miscibilidad en el medio de cultivo.

Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima Fungicida (CMF)

Para la determinación de CMI y CMF se aplicó la metodología recomendada por Amiri *et al.* (2022). La actividad antifúngica de los AEs de molle y muña se probaron con la técnica de alimentos envenenados, como lo sugiere Ahmadu *et al.* (2021). Se pesaron 39g de PDA que se disolvieron en 1 litro de agua destilada, manteniendo en reposo durante 10 a 15min, posteriormente, se llevó a ebullición durante 1 min y se esterilizó en autoclave a 121°C (15lbs de presión durante 15min). Se dejó enfriar a 45°C, paralelamente en matraces de 100ml, previamente esterilizados. Se adicionó de la solución madre, un volumen suficiente de cada AE para alcanzar concentraciones de 0,02%; 0,05%; 0,40%; 1,60%; 6,30% por separado y en combinaciones según las siguientes proporciones molle:muña de 70:30; 80:20 y 90:10; se aforó con PDA, y se homogenizó en un agitador magnético Isolab Modelo 613.01.001, Wertheim, Alemania; a una velocidad de 1500rpm durante 2min manteniendo la temperatura de 45°C. El preparado se colocó en cajas Petri de 90mm previamente esterilizadas y se dejaron enfriar y solidificar a temperatura ambiente durante 24 horas en la cabina de flujo laminar. Por cada tratamiento se realizaron 3 repeticiones y una muestra control de agar PDA sin AEs. Posteriormente, para la determinación de CMI y CMF se aplicó la metodología recomendada por Izadi *et al.* (2021). Del cultivo de *B. cinerea* se

extrajo con un sacabocado estéril, un disco de 6 mm de diámetro colocándose en el centro de cada placa que contenía el medio de cultivo PDA con las diferentes concentraciones de los AEs. Se cubrieron con papel parafilm y se incubaron en una cabina de flujo laminar horizontal con luz UV a temperatura ambiente. El crecimiento micelial del patógeno se determinó midiendo diariamente, durante 7 días, el diámetro de la colonia en dos direcciones en ángulos rectos, con un vernier pie de rey digital 6”, Vogel, Germany. Durante esta etapa se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de cada AE y de las mezclas en diferentes proporciones previamente establecidas. La Concentración Mínima Fungicida (CMF) de los AEs se verificó en un tiempo de 5 días mediante la observación de la recuperación del crecimiento micelial a partir de la transferencia de un disco de *B. cinerea* inhibido a placas Petri con medio de cultivo PDA no tratado.

Análisis Estadístico

Se utilizó la herramienta Microsoft Excel y el programa estadístico SPSS versión 26 para el tratamiento de los datos. Estos se analizaron descriptivamente mediante gráficos estadísticos para evaluar el comportamiento de la variable (crecimiento micelial del hongo en mm). La prueba de normalidad de Shapiro Wilk no presentó una distribución normal, por ello se aplicó la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis, para identificar la existencia de diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos T1 (AE molle), T2 (AE muña) por separado y combinados en proporciones muña:molle para T3 (70:30); T4 (80:20) y T5 (90:10). Las concentraciones de aceites esenciales utilizadas fueron 0,02%; 0,05%; 0,40%; 1,60%; 6,30%. Se realizaron comparaciones múltiples entre las concentraciones y tratamientos para determinar las más adecuadas para inhibir el

crecimiento micelial del hongo *B. cinerea* (mm).

Resultados y Discusión

Se han reportado efectos antimicrobianos bien documentados de los aceites esenciales y sus componentes químicos contra una variedad de patógenos bacterianos, fúngicos y virales. Su composición química incluye compuestos fenólicos, terpenoides, aldehídos, cetonas, éteres, epóxidos (Masyita *et al.*, 2022). En la presente investigación se caracterizaron los AEs de las plantas molle y muña con la finalidad de evaluar las propiedades antifúngicas frente al hongo *B. cinerea*.

En la Tabla I se observa que el AE de molle empleado presenta como principales componentes monoterpénicos al α -felandreno (42,28%) y mirceeno (16,40%) en tanto que el de muña está constituido principalmente por mentona (32,54%) y pulegona (16,04%). En ambos AEs se presentaron aditivos fluidos de característica apolar (Ligroina o hidrocarburos de 5 y 6 carbonos) empleados con la finalidad de solubilizar, mantener la uniformidad del producto y reducir la viscosidad de los mismos. Para el caso del AE comercial de molle también se detecta la presencia de aceite esencial de *Boswellia trees* sp. (Frankincense essential oil) utilizado para mejorar su aroma.

El quimiotipo monoterpénico principal mentona/pulegona en el aceite de muña utilizado en el presente estudio puede variar en su composición porcentual, tal es así que algunos investigadores encontraron variabilidad química en muestras de Argentina, donde además de estos dos monoterpénicos, también hay presencia de otros quimiotipos, como es el caso de dihidrocarvona/carvona, acetato de carvacilo/carvacrol, en unos con alto contenido de limoneno y en otros linalol (Van Baren *et al.*, 2014). La mayor proporción de mentona presente en el AE de muña, procedente de Cusco – Perú, probablemente se debe a la acción de una reductasa

TABLA I
COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS AEs COMERCIALES DE MOLLE (*Schinus molle* L.) Y MUÑA (*Minthostachys mollis* GRISEB) PROCEDENTES DE CUSCO PERÚ

Aceite esencial	Componente	Porcentaje (%)
Molle comercial	α -felandreno	42,28
	Mirceeno	16,40
	Ligroin Mineral spirits	20,93
	Frankincense Essential oil	20,39
Muña comercial	(-)-Mentona	32,54
	R-(+)-Pulegona	16,04
	Poli(4-metil-1-hexen-3-ona:4-metil-1-penten-3-ona), 7:3	32,04
	Isopar C (dimetilhexanos y trimetilpentanos), Exxon	19,38

Fuente: Elaboración propia a partir de datos obtenidos mediante espectroscopía FTIR-ATR.

TABLA II
COMPARACIONES DE LA ACTIVIDAD FUNGIESTÁTICA ENTRE LAS CONCENTRACIONES DE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS DE LOS AES DE MUÑA Y MOLLE SOBRE EL CRECIMIENTO MICELIAL DE *B. cinerea*

Comparación entre concentraciones	Tratamientos				
	T1	T2	T3 70:30	T4 80:20	T5 90:10
6,30%-1,60%	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
6,30%-0,40%	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
6,30%-0,05%	0,372	1,000	1,000	1,000	1,000
6,30%-0,02%	0,241	0,023*	1,000	1,000	1,000
6,30%-control	0,007**	0,001**	0,000**	0,000**	0,000**
1,60%-0,40%	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
1,60%-0,05%	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
1,60%-0,02%	0,914	0,023*	1,000	1,000	1,000
1,60%-control	0,044*	0,001**	0,000**	0,000**	0,000**
0,40%-0,05%	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
0,40%-0,02%	1,000	0,023	1,000	1,000	1,000
0,40%-control	0,675	0,001**	0,000**	0,000**	0,000**
0,05%-0,02%	1,000	0,023*	1,000	1,000	1,000
0,05%-control	1,000	0,001**	0,000**	0,000**	0,000**
0,02%-control	1,000	1,000	0,058	0,009**	0,009**

AEs: Aceites esenciales; (*) $p < 0,05$: significativa; (**) $p < 0,01$: altamente significativas según prueba estadística de Kruskall Wallis. T1: AE molle, T2: AE muña, y proporciones Muña:Molle en T3, T4 y T5.

dependiente de Nicotinamida Adenina Dinucleótido Dihidrogenado (NADPH) que convierte pulegona en mentona, ruta final en el proceso biosintético de terpenoides, y en la que los otros compuestos mencionados están en las etapas iniciales (Loolaie *et al.*, 2017), un aspecto a conocer del metabolismo para la caracterización y en la variación del aceite esencial.

En cuanto al quimiotipo α -felandreno y mirceeno caracterizado en AE comercial de molle, este también puede

diferir, como lo determinado en Brasil por Gomes *et al.* (2013) en cuatro quimiotipos, en uno de ellos hay predominio de sabineno; el segundo, más numeroso, se caracterizó por la presencia de α - y β -pineno; el tercer grupo presentó altos contenidos de α -cadinol; y el cuarto grupo se caracterizó por las altas concentraciones de mirceeno. Estas variaciones de la composición química, reflejan la influencia de diferentes orígenes geográficos, condiciones climáticas, fisiológicas y actividad

metabólica de las plantas y muchos otros factores (Khalilipour y Demar, 2014).

La Tabla II reporta la existencia de diferencias significativas ($p < 0,05$) en el crecimiento micelial (mm) del hongo *B. cinerea*, tanto en la muestra control como en los tratamientos con AE de molle y muña con sus diferentes concentraciones. Durante los 7 días de incubación no se observó crecimiento micelial en el AE de muña a partir de la CMI de 0,5%, mientras que el AE de molle no presentó CMI a

ninguna de las concentraciones trabajadas.

En la Figura 1 se reporta la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) expresada en el crecimiento micelial (mm) del hongo *B. cinerea* en relación a las concentraciones (%) de los AEs de muña y molle (0,02%; 0,05%; 0,4%; 1,6%; 6,30% y la muestra control), aplicados por separado y combinados en diferentes proporciones, e incubados durante 7 días. Todas las concentraciones trabajadas presentaron una CMI en comparación al control.

En la Figura 1a se observa la tendencia del crecimiento micelial del *B. cinerea* de las 5

concentraciones de AE de molle trabajadas, respecto a la muestra control, este no presentó CMI, sin embargo sí hubo diferencias significativas sobre el crecimiento micelial entre las diferentes concentraciones aplicadas ($p < 0,05$). En la más alta concentración 6,3% se obtiene un crecimiento micelial de 7,1 mm, a diferencia del control donde se obtiene un crecimiento micelial de 50,68 mm, observándose una reducción aproximada del 86%. Por otra parte, con la concentración más baja de 0,02% el crecimiento micelial solo se reduce en 33%. Con respecto a la Figura 1b, el AE de muña presenta una CMI a una

concentración de 0,05%, en tanto que al 0,02% se observa un crecimiento micelial del 40% respecto al control durante el tiempo de incubación, lo que demuestra que existe una diferencia significativa ($p < 0,05$; Tabla II) sobre la actividad fungistática de las CMI de AEs tratados por separado. El AE de muña tiene mayor efecto inhibitorio sobre *B. cinerea*, debido a la presencia de mentona y pulegona que son más activos que α -felandreno y mirreno presentes en molle (Sánchez-Tito y Collantes-Díaz, 2021). Esta mayor actividad antifúngica de mentona en comparación a los otros monoterpenos en AEs de otras plantas ha sido observado frente a hongos patógenos de la piel e incluso *in vitro* frente a *B. cinerea* (Fajinmi *et al.*, 2019).

En relación a las combinaciones de AEs de muña y molle (70:30; 80:20; 90:10), en los resultados reportados en las Figuras 1c, 1d y 1e, existe una ligera sinergia de la actividad inhibitoria de los AEs, pero no es estadísticamente significativa ($p > 0,05$) como se muestra en la Tabla II. Esto se asemeja a los resultados mostrados por Amiri *et al.* (2022) quienes evaluaron la eficiencia de la composición química de algunos AEs sobre el *B. cinerea*, y demostraron que debido a los compuestos terpenoides tienen actividad antifúngica y que mayoritariamente están presentes en la familia de las Lamiaceae del que forma parte la muña (Boulogne *et al.*, 2012). El AE de molle sin embargo no causa una inhibición del hongo *B. cinerea* al 100%, en ninguna de las concentraciones trabajadas, por lo que requiere una mayor concentración del AE (Elshafie *et al.*, 2016); así también lo indica el estudio de López-Meneses *et al.* (2018), donde muestran que este AE tampoco causa inhibición al 100% en otros tipos de hongos, y esto es debido a que sus monoterpenos principales tienen menor actividad antifúngica.

El daño a las membranas de los microorganismos, el colapso de la bomba de protones, la granulación del citoplasma y la ruptura de la cadena de transporte de electrones y la inhibición de otros procesos dentro de la célula fúngica, como la síntesis de proteínas, glucanos y ergosterol, son algunos eventos posiblemente relacionados con la propiedad antifúngica de los AEs (Fajinmi *et al.*, 2019). En la Tabla III se observa que el AE de molle no presenta actividad fungicida en ninguna de las concentraciones trabajadas, a comparación de la muña que la CMF es de 0,1%. En relación a las combinaciones de los AEs de muña y molle, los tratamientos 80:20 y 90:10 presentan una CMF de 3,2% y 1,6 % respectivamente. Se ha demostrado que los AEs del género *Schinus* incrementan el efecto fungicida cuando son combinados con los fungicidas comerciales y AE de tomillo, frente a especies de *Fusarium* (Sampietro *et al.*, 2014), esto es similar a lo observado en el presente estudio cuando se combinó el AE de molle y de muña frente a *B. cinerea*.

En la Tabla IV se evidencia que el AE de muña tiene actividad inhibitoria (CMI) y fungicida (CMF) sobre *B. cinerea* a concentraciones de 0,05% y de 0,1% respectivamente, el AE molle no presentó actividad inhibitoria (CMI) ni fungicida (CMF) sobre *B. cinerea* a ninguna de las concentraciones trabajadas en el presente estudio. En otras investigaciones se ha observado que los AEs de las plantas de la familia Lamiaceae tienen mayor capacidad inhibitoria en determinados hongos en comparación con la del AE de *Tymus vulgaris*, caracterizado por su alto contenido en compuestos fenólicos y de potente actividad antifúngica, el mismo que también se le ha comparado con plantas de la familia Anacardiaceae, como es el caso del género *Schinus*, siendo estas de menor poder antifúngico (Sampietro *et al.*, 2014).

Diversas plantas identificadas con actividad fungicida (CMF) y fungistática (CMI) no han sido aplicadas en el campo

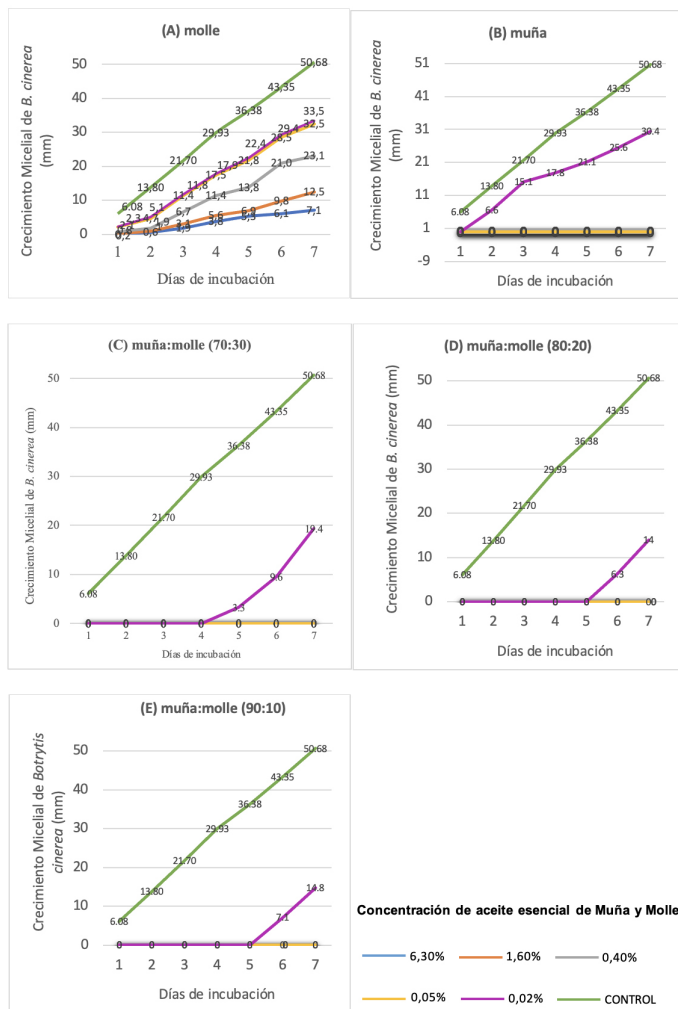


Figura 1. Crecimiento micelial de *B. cinerea* (mm) con diferentes concentraciones de aceite esencial de molle y muña por separado y combinados, durante 7 días.

TABLA III
VERIFICACIÓN DE LA CMF DE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS DE LOS AEs DE MUÑA Y MOLLE FRENTE *B. cinerea*

Concentraciones inhibidas (%)	Crecimiento fúngico				
	AE Muña	AE Molle	AEs Muña/Molle 70:30	AEs Muña/Molle 80:20	AEs Muña/Molle 90:10
6,3	-	+	+	-	-
3,2	-	+	+	-	-
1,6	-	+	+	+	-
0,8	-	+	+	+	+
0,4	-	+	+	+	+
0,2	-	+	+	+	+
0,1	-	+	+	+	+
0,05	+	+	+	+	+

CMF: Concentración Mínima Fungicida; AEs: Aceites Esenciales; Resultado (-): sin crecimiento micelial; (+): crecimiento micelial.

TABLA IV
CMI Y CMF DE LOS AEs DE MOLLE Y MUÑA SOBRE *B. cinerea*

Tratamiento	CMI (%)	CMF (%)
T1 AE Molle	-	-
T2 AE Muña	0,05	0,1
T3 AEs Muña/Molle 70:30	0,05	-
T4 AEs Muña/Molle 80:20	0,05	3,2
T5 AEs Muña/Molle 90:10	0,05	1,6

AEs: Aceite esenciales; CMI: Concentración Mínima Inhibitoria; CMF: Concentración Mínima Fungicida.

agroindustrial como es el caso de molle y muña utilizados de manera experimental frente a *B. cinerea*, por lo cual podrá ser de mayor utilidad el AE de muña, por sus principios activos, especialmente en la elaboración de películas antifúngicas para la protección de alimentos.

Conclusión

Se demostró actividad antifúngica en el AE de muña expresado en su acción fungistática a una CMI de 0,05% y su acción fungicida a una CMF de 0,1% frente *B. cinerea* y una acción fungicida a una concentración mínima de 0,1% respecto a la muestra control. El AE de molle no presentó actividad fungistática ni fungicida a ninguna de las concentraciones trabajadas. Con respecto a las diferentes combinaciones de los aceites esenciales

de molle y muña no se evidencian diferencias significativas entre las mismas.

REFERENCIAS

Ahmadu T, Ahmad K, Ismail S, Rashed O, Asib N, Omar D (2021) Antifungal efficacy of moringa oleifera leaf and seed extracts against *botrytis cinerea* causing gray mold disease of tomato (*Solanum Lycopersicon L.*). *Brazilian Journal of Biology* 81: 1007–1022. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.233173>

Amiri A, Sourestani M, Mortazavi S, Kiasat A, Ramezani Z (2022) Efficiency of chemical composition of some essential oils against *Botrytis cinerea*, the pathogen of post-harvest strawberry fruits. *Journal of Food Measurement and Characterization* 16: 66–75. <https://doi.org/10.1007/s11694-021-01133-z>

Bhavanirama S, Vishnupriya S, Al-Aboody MS, Vijayakumar R, Baskaran D (2019) Role of essential oils in food safety: Antimicrobial and antioxidant applications. *Grain & Oil*

Science and Technology 2: 49–55. <https://doi.org/10.1016/j.gaost.2019.03.001>

Boulogne I, Petit P, Ozier-Lafontaine H, Desfontaines L, Loranger-Merciris G (2012) Insecticidal and antifungal chemicals produced by plants: a review. *Environmental Chemistry Letters* 10: 325–347. <https://doi.org/10.1007/s10311-012-0359-1>

Chen T, Ji D, Zhang Z, Li B, Qin G, Tian S (2021) Advances and Strategies for Controlling the Quality and Safety of Postharvest Fruit. *Engineering* 7: 1177–1184. <https://doi.org/10.1016/j.eng.2020.07.029>

Cui X, Ma D, Liu X, Zhang Z, Li B, Xu Y, Chen T, Tian S (2021) Magnolol inhibits gray mold on postharvest fruit by inducing autophagic activity of *Botrytis cinerea*. *Postharvest Biology and Technology* 180: 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2021.111596>

Elshafie HS, Ghanney N, Mang SM, Ferchichi A, Camele I (2016) An *In Vitro* Attempt for Controlling Severe Phytopathogens and Human Pathogens Using Essential Oils from Mediterranean Plants of Genus *Schinus*. *Journal of Medicinal Food* 19: 266–273. <https://doi.org/10.1089/jmf.2015.0093>

Fajinmi OO, Kulkarni MG, Benická S, Čavar-Zeljko S, Doležal K, Tarkowski P, Finnie JF, Van-Staden J (2019) Antifungal activity of the volatiles of *Agathosma betulina* and *Coleonema album* commercial essential oil and their effect on the morphology of fungal strains *Trichophyton rubrum* and *T. mentagrophytes*. *South African Journal of Botany* 122: 492–497. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.03.003>

Gomes V, Agostini G, Agostini F, Atti dos Santos AC, Rossato M (2013) Variation in the essential oils composition in Brazilian populations of *Schinus molle* L. (Anacardiaceae). *Biochemical Systematics and Ecology* 48: 222–227. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2013.01.003>

Hibbett DS, Blackwell M, James TY, Spatafora JW, Taylor JW, Vilgalys R (2018) Phylogenetic taxon definitions for *Fungi*, *Dikarya*, *Ascomycota* and *Basidiomycota*. *IMA Fungus* 9: 291–298. <https://doi.org/10.5598/imafungus.2018.09.02.05>

Hua L, Yong C, Zhanquan Z, Boqiang L, Guozheng Q, Shiping T (2018) Pathogenic mechanisms and control strategies of *Botrytis cinerea* causing post-harvest decay in fruits and vegetables. *Food Quality and Safety* 2: 111–119. <https://doi.org/10.1093/fqsafe/fyy016>

Hsuan-Ju L, Yi-Ling L, Bo-Bin H, Yu-Ting L, Hao-Kai L, Wen-Jung L, Tze-Chia L, Ya-Chin Tsui, Hong-Ting VL (2022) Solid- and vapour-phase antifungal activities of six essential oils and their applications in postharvest fungal control of peach (*Prunus persica* L. Batsch). *LWT – Food Science and Technology* 156: 113031. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.113031>

Izadi M, Moosawi-Jorf S, Nikkhah M, Moradi S (2021) Antifungal activity of hydrocolloid nano encapsulated *Carum copticum* essential oil and *Peganum harmala* extract on the pathogenic fungi *Alternaria alternate*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 116: 101714. <https://doi.org/10.1016/j.pmp.2021.101714>

Khalilipour A, Dejam M (2014) Essential oil composition of pennyroyal (*Mentha pulegium* L.) From Southern Iran. *Journal of Herbal Drugs* 5: 33–37. https://journals.iau.ir/article_638633_18dd5ccbccfd-38685595b05ee1bclfad.pdf

Loolae M, Moasefi N, Rasouli H, Adibi H (2017) Peppermint and Its Functionality: A Review. *Archives of Clinical Microbiology* 8: 1–16. <https://www.itmedicalteam.pl/articles/peppermint-and-its-functionality-a-review-102523.html>

López-Meneses A, Plascencia-Jatomea M, Lizardi-Mendoza J, Fernández-Quiroz D, Rodríguez-Félix F, Mouriño-Pérez R, Cortez-Rocha M (2018) *Schinus molle* L. essential oil-loaded

- chitosan nanoparticles: Preparation, characterization, antifungal and anti-aflatoxigenic properties. *LWT – Food Science and Technology* 96: 597–603. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.06.013>
- Lykogianni M, Bempelou E, Karamaouna F, Aliferis K (2021) Do pesticides promote or hinder sustainability in agriculture? The challenge of sustainable use of pesticides in modern agriculture. *Science of the Total Environment* 795: 148625. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148625>
- Masyita A, Mustika R, Dwi A, Yasir B, Rahma N, Bin T, Nainu F, Simal-Gandara J (2022) Terpenes and terpenoids as main bioactive compounds of essential oils, their roles in human health and potential application as natural food preservatives. *Food Chemistry: X* 13: 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100217>
- Morales-Rabanales Q, Coyotl-Pérez W, Rubio-Rosas E, Cortes-Ramírez G, Sánchez JF, Villarruano N (2022) Antifungal properties of hybrid films containing the essential oil of *Schinus molle*: Protective effect against postharvest rot of tomato. *Food Control* 134: 108766. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108766>
- Oliveira JG, Da Cruz G, Buranelo M, Cordeiro HM, Ferreira MD (2021) Essential oils as natural fungicides to control rhizopus stolonifer-induced spoiled of strawberries. *Biointerface Research in Applied Chemistry* 11: 13244–13251. <https://doi.org/10.33263/BRIAC115.1324413251>
- Osman E, Morsi E, El-Sayed M, Gobouri A, Abdel-Hameed E (2021) Identification of the volatile and nonvolatile constituents of *Schinus molle* (L.) fruit extracts and estimation of their activities as anticancer agents. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 11: 163–171. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2021.110719>
- Pei YG, Tao QJ, Zheng XJ, Li Y, Sun XF, Li ZF, Qi XB, Xu J, Zhang M, Chen HB, Chang XL, Tang HM, Sui LY, Gong GS (2019) Phenotypic and genetic characterization of *Botrytis cinerea* population from kiwifruit in Sichuan Province, China. *Plant Disease* 103: 748–758. <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-18-0707-RE>
- Poveda J, Barquero M, González F (2020) Insight into the microbiological control strategies against *Botrytis cinerea* using systemic plant resistance activation. *Agronomy* 10: 1822. <https://doi.org/10.3390/agronomy10111822>
- Sampietro D, Belizan M, Baptista Z, Vattuone M, Catalán C (2014) Essential Oils from *Schinus* Species of Northwest Argentina: Composition and Antifungal Activity. *Natural Product Communications* 9: 1019–1022. <https://doi.org/10.1177/1934578X1400900734>
- Sánchez-Tito MA, Collantes-Díaz I (2021) Actividad antimicrobiana de fracciones obtenidas del aceite esencial de *Minthostachys mollis* frente a patógenos orales. *Revista Habanera de Ciencias Médicas* 20: 1–6. <https://revhabanera.sld.cu/index.php/rhab/article/view/3971/2901>
- Senthil CM, Jacob TK, Devasahayam S, Geethu C, Hariharan V (2021) Characterization and biocontrol potential of a naturally occurring isolate of *Metarhizium pingshaense* infecting *Conogethes punctiferalis*. *Microbiological Research* 243: 126645. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126645>
- Silvestre WP, Livinalli NF, Baldasso C, Tessaro IC (2019) Pervaporation in the separation of essential oil components: A review. *Trends in Food Science and Technology* 93: 42–52. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.09.003>
- Van Baren CM, Di Leo P, Elechosa MA, Molina AM, Juárez MA, Martínez A, Perelman S, Bandoni, AL (2014) New insights into the chemical biodiversity of *Minthostachys mollis* in Argentina. *Biochemical Systematics and Ecology* 57: 374–383. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2014.09.004>
- Zohra-Kiari F, Meddah B, Meddah A (2018) *In vitro* study on the activity of essential oil and methanolic extract from Algerian *Nigella sativa* L. Seeds on the growth kinetics of micro-organisms isolated from the buccal cavities of periodontal patients. *The Saudi Dental Journal* 30: 312–323. <https://doi.org/10.1016/j.sdentj.2018.05.011>