

ACTIVIDAD ANTIBIOTICA DE UNA FITOALEXINA AISLADA DE *CYPHOMANDRA BETACEA* (CAV.) SENDT

ANTIBIOTIC ACTIVITY ON ONE PHYTOALEXIN ISOLATED OF *CYPHOMANDRA BETACEA* (CAV.) SENDT

Fernando Echeverri L.*
 Fernando Torres R.*
 Gloria Cardona R.*
 Luis H. Gallego P.*
 Jairo López C.*

RESUMEN

Del tomate de árbol (*Cyphomandra betacea*) afectado por el hongo *Colletotrichum gloeosporioides* se aislaron dos fitoalexinas, una de las cuales es el ácido benzoico. Este compuesto muestra una alta actividad fungistática contra el hongo causante de la enfermedad.

ABSTRACT

Benzolic acid is a phytoalexin in Cyphomandra betacea attacked by Colletotrichum gloeosporioides. This compound showed fungice and fungistatic activity against this pathogen and may be used for control of this fungus.

INTRODUCCION

Las fitoalexinas son sustancias producidas por las plantas ante el ataque de microorganismos o por contacto con sustancias químicas. Recientemente se han postulado como potenciales fungicidas, bien sea aplicándolas como tales o induciendo su producción con carbohidratos específicos (Echeverri, 1988).

El tomate de árbol, *Cyphomandra betacea*, es ampliamente consumido en el país y recientemente comenzó a exportarse a Estados Unidos y a Europa. Sin embargo, desde hace aproximadamente cuatro años el hongo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz ataca las plantaciones y origina pudrición de los frutos, tanto verdes como maduros, disminuyendo considerablemente su producción. Esto ha traído desagradables consecuencias sociales y económicas y principalmente ecológicas, puesto que para su control se aplican grandes cantidades de fungicidas tóxicos, sin que se haya logrado aún una sustancia que efectivamente erradique este agente patógeno.

En esta investigación se trata de determinar la presencia de fitoalexinas en los frutos atacados por el

agente patógeno y de establecer su actividad antibiótica contra el mismo.

MATERIALES Y METODOS

Los frutos de tomate de árbol se colectaron en agosto de 1986 y mayo de 1987, en el municipio de Enterríos.

De 150 kg de frutos afectados se seleccionaron las partes en las cuales comienza a desarrollarse la enfermedad, lo que se detecta por la aparición de pequeñas manchas rojizas en su superficie. Estos fragmentos se licuaron con etanol y posteriormente se centrifugaron. El sobrenadante se concentró a un tercio de su volumen y se extrajo con acetato de etilo, que por último se concentró a sequedad, previo secado con sulfato de sodio. De manera similar se procedió con frutos enteros y sanos.

A los extractos de los tomates sanos y afectados se les realizó cromatografía en capa fina, usando sílica gel 0.25 mm, usando como eluentes éter etílico y una mezcla de éter etílico y acetato de etilo (1:1,

* Profesores, Depto de Química, Univ. de Antioquia, Medellín, Colombia.

v/v), revelando las placas con vapores de yodo u observándolas a la luz ultravioleta.

Al extracto de los tomates afectados se les realizó otra cromatografía en una columna de sílica gel (4.5 x 90 cm), eluyendo con diclorometano y mezclas de éste con acetato de etilo.

Para el caso de los ensayos microbiológicos se hicieron tres repeticiones para cada tratamiento (0, 5, 10, 25 y 50 ppm de ácido benzoico) y se leyeron los porcentajes de crecimiento hasta los 14 días.

RESULTADOS Y DISCUSION

En los cromatogramas en capa fina de los extractos de los tomates sanos y afectados se detectaron en estos últimos, por comparación, dos sustancias, una de $R_f = 0.80$ que reveló con vapores de yodo como una mancha marrón, y otra de $R_f = 0.65$ que no reveló con yodo y se observó a la luz ultravioleta como una mancha oscura.

En la cromatografía en columna del extracto de los tomates afectados se obtuvieron, de las fracciones eluidas con diclorometano, 15 mg de un sólido blanco con punto de fusión 105°C y $R_f = 0.65$. Dicha sustancia se identificó como ácido benzoico por ^1H RMN, espectrometría de masas, Infrarrojo y co-cromatografía en capa fina. Su presencia se corroboró por comparación con un patrón auténtico en cromatografía en capa fina y de gases. De las fracciones eluidas con una mezcla de diclorometano y acetato de etilo se aisló otro compuesto, el cual se repurificó por cromatografía preparativa y correspondió a un cromeno nuevo en la literatura, cuya elucidación estructural es objeto de otra publicación (Echeverri *et al.*, 1988).

Se han reportado varios derivados del ácido benzoico como fitoalexinas en manzanas (Raa, 1968) y papas (Kúc *et al.*, 1956), pero se debate si son producidos directamente por la planta como un mecanismo de defensa o bien son un producto de la hidrólisis de enzimas microbianas sobre la pared celular vegetal. En nuestro caso la poca cantidad aislada ($1.3 \times 10^{-5}\%$) y su ausencia en frutos sanos parecen indicar que efectivamente es producido naturalmente como consecuencia del ataque del hongo.

En los ensayos microbiológicos se observó que a 50 ppm hubo inhibición total del crecimiento y a 25 ppm

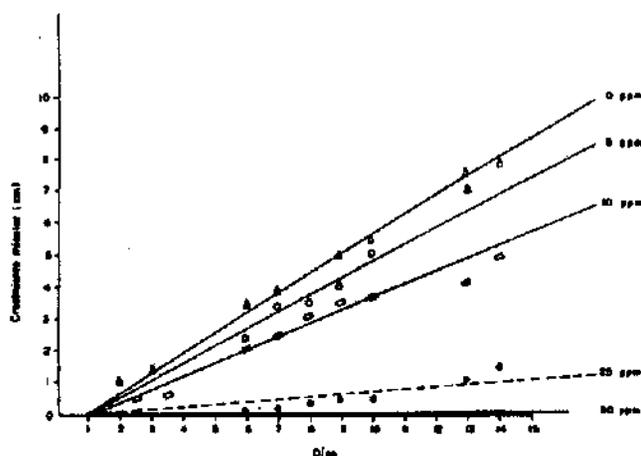


Fig. 1. Efecto del ácido benzoico sobre la germinación de esporas de *C. gloeosporioides* Penz.

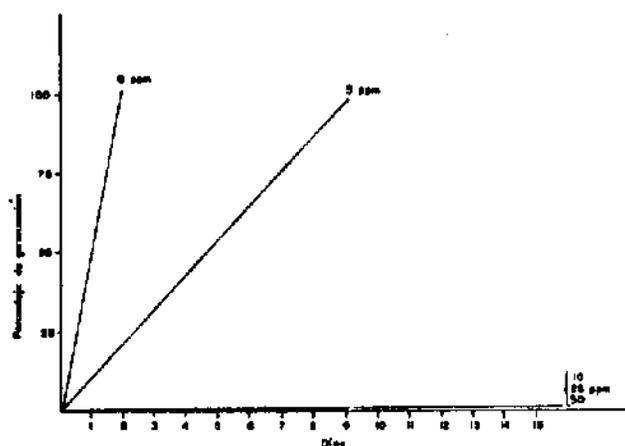


Fig. 2. Efecto del ácido benzoico sobre el crecimiento micelar de *C. gloeosporioides* Penz.

comenzó a presentarse crecimiento a partir del sexto día (fig. 1).

Con relación a la germinación hasta 10 ppm hubo inhibición total y a 5 ppm las esporas comenzaron a germinar en un 70% a partir del sexto día, mientras que en el testigo, que no contenía fitoalexina, hubo 100% de germinación a partir del segundo día (fig. 2).

Las concentraciones examinadas superan ampliamente la dosis permisible de ácido benzoico en alimentos y bebidas, la cual es de 1000 mg/kg (Anónimo, 1978) y ello, unido a sus propiedades fungicidas y principalmente fungistáticas, además de su bajo costo y fácil aplicación, hacen a este compuesto una alternativa atractiva para combatir el hongo causante de la pudrición de los frutos del tomate de árbol.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Colciencias y a la Universidad de Antioquia la financiación de este trabajo, a los doctores Antonio González (Universidad de La

Laguna) y Diego Cortés (Universidad de Valencia), de España, por los espectros de masas y ^1H RMN, y a la doctora Amilbia Posada (Universidad Nacional, Medellín), por los análisis microbiológicos.

LITERATURA CITADA

Anónimo. 1978. Norma Icontec, 1453.

Echeverri, F. 1988. Productos naturales biológicamente activos. Imprenta Univ. de Antioquia, Medellín. 2a. ed., 128 p.

Echeverri, F., G. Cardona, L. H. Gallego, J. López y F. Torres. 1988. Phytoalexins from *Cyphomandra betacea* (Solanaceae). Spectroscopy Int. J. (Aceptado).

Kúc, J., R. E. Henze, A. Ullstrup y J. Quackenbush. 1956. Chlorogenic and caffeic acids as a fungistatic agents produced by potatoes in response to inoculation with *Helminthosporium carbonum*, J. Amer. Chem. Soc. 78: 3123-3125.

Raa, J. 1968. Polyphenols and natural resistance of apple leaves against *Venturia inaequalis*. Neth. J. Pl. Pathol. 74: 37-45.