

Efecto antifúngico de compuestos fenólicos del grano de maíz sobre el desarrollo *in vitro* de *Fusarium verticillioides*

Antifungal effect of phenolic compounds from maize grain on the *in vitro* development of *Fusarium verticillioides*

Norma Yadira Zacamo-Velázquez^{1*}, Javier Ireta-Moreno², Yolanda Salinas-Moreno², Ricardo Zacamo-Velázquez³

¹ Instituto Tecnológico José Mario Molina Pasquel y Henríquez campus Zapotlanejo. Av. Tecnológico No. 300 Predio Huejotitlán. Zapotlanejo, Jalisco, México.

² INIFAP Campo Experimental Centro Altos de Jalisco. Av. Biodiversidad No. 2470. Tepatitlán de Morelos, Jalisco, México.

³ Universidad de Guadalajara. Centro Universitario de los Altos. Carretera a Yahualica, Km. 7.5 Tepatitlán de Morelos, Jalisco. México

*Correspondencia: norma.zacamo@zapotlanejo.tecmm.edu.mx

DOI: <https://doi.org/10.54167/tch.v19i1.1754>

Recibido: 02 de enero de 2025; Aceptado: 31 de marzo de 2025

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

Editor de Sección: Dr. Guillermo Fuentes-Dávila

Resumen

La coloración del grano de maíz se debe a la presencia de diversos compuestos fenólicos (CF), los cuales contribuyen a la tolerancia de las infecciones por hongos. El objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad antifúngica *in vitro* de extractos de maíz de líneas segregantes de color, de la cruza B49xPeruano(N), sobre el desarrollo de *Fusarium verticillioides*. Las mazorcas se clasificaron por color de grano utilizando un colorímetro. De los granos clasificados se obtuvo el espesor del pericarpio y los extractos fenólicos de cada línea. El ensayo de inhibición se hizo por la técnica de dilución en placa y de cada extracto se cuantificó la concentración de fenoles solubles totales (FST), flavonoides (Flav), y proantocianidinas (PAs). Se obtuvieron siete segregantes de color, de los cuales los extractos de los segregantes C2 y C3 presentaron un efecto fungistático significativamente mayor que el resto. El grano C1 presentó un mayor espesor de pericarpio, y su extracto tuvo una mayor concentración de FST, FLAV y PAs. Se encontró una correlación significativa entre las variables de concentración de CF y la inhibición de *F. verticillioides*. Una mayor concentración de compuestos fenólicos y una mayor inhibición del crecimiento del hongo se observó con maíces rojos en

comparación con maíces blancos y amarillos. Estos resultados comprueban el efecto fungistático de los compuestos fenólicos del maíz sobre este fitopatógeno.

Palabras clave: *Zea mays*, *Fusarium*, Compuestos fenólicos.

Abstract

The color of corn kernels is due to the presence of various phenolic compounds (PC), which contribute to the tolerance of fungal infections. The objective of this work was to evaluate the *in vitro* antifungal capacity of maize extracts from color segregant lines of the B49xPeruvian(N) cross, on the development of *Fusarium verticillioides*. Cobs were sorted by kernel color with a colorimeter. From the sorted kernels, pericarp thickness and phenolic extracts were obtained for each line. The inhibition assay was done by the plate dilution technique, and from each extract, the concentration of total soluble phenols (TSP), flavonoids (Flav), and proanthocyanidins (PAs) was quantified. Seven color segregants were obtained, from which the extracts of segregants C2 and C3 presented a significantly greater fungistatic effect than the rest. The C1 grain presented a higher pericarp thickness and its extract had a higher concentration of FST, FLAV and PAs. A significant correlation was found between the variables of CF concentration and inhibition of *F. verticillioides*. A higher concentration of phenolic compounds and a higher growth inhibition of the fungus were found with red corn compared to white and yellow corn. These results prove the fungistatic effect of corn phenolic compounds on this phytopathogen.

Keywords: *Zea mays* L, *Fusarium*, Phenolic compounds.

1. Introducción

La producción de maíz (*Zea mays* L.) se enfrenta a grandes desafíos, refiriendo de manera particular a las plagas y enfermedades. A nivel mundial se reportan pérdidas en rendimiento de hasta el 30 % (Porras, 2024) y baja calidad de grano a causa de las infecciones por hongos (Flores, 2024). Dentro de los patógenos más importantes se citan las especies del género *Fusarium* principalmente la especie *verticillioides* (*F. verticillioides* (Sacc.) Nirenberg), que es un patógeno del maíz y de otros cultivos alimentarios. Este hongo cosmopolita afecta a la planta durante todo su ciclo de cultivo, desde la etapa de germinación hasta la cosecha (Alberts *et al.*, 2016). El patógeno se desarrolla en la planta y se manifiesta finalmente en la mazorca como pudrición de grano.

Durante su crecimiento y desarrollo, *F. verticillioides* produce toxinas denominadas fumonisinas (Yu *et al.*, 2022), que están relacionadas con enfermedades en porcinos y equinos. En el ser humano, su ingesta se asocia con la deficiencia del desarrollo del tubo neural y cánceres de esófago e hígado (Marrez y Ayeshe, 2022). Las fumonisinas producidas por *F. verticillioides* son del tipo B, que se consideran las más tóxicas por su carácter cancerígeno (Zheng *et al.*, 2020).

Los compuestos fenólicos (CF) son producidos por las plantas como parte de sus mecanismos de defensa y han sido estudiados por sus propiedades antioxidantes (Ramírez *et al.*, 2022) antimicrobianas (Aourach *et al.*, 2021) y antifúngicas en los cultivos para alimentación humana y animal (Bernardi *et al.*, 2018). El grano de maíz acumula cantidades elevadas de CF, con niveles superiores a los observados en otros granos como trigo (*Triticum aestivum* L. y *Triticum durum* Desf.)

y arroz (*Oryza sativa* L.) (Adom y Liu, 2002). Los CF más abundantes en el grano de maíz son los ácidos fenólicos, que se encuentran predominantemente en forma ligada, esterificados a componentes de pared celular y concentrados en el pericarpio (Salinas *et al.*, 2017a); otros CF son los flavonoides, que predominan en forma soluble o extractable, y pueden ser incoloros como algunos flavonoles y flavanoles, o bien coloridos como las antocianinas y los flobafenos (Salinas *et al.*, 2017b).

Entre los flavonoides del grano de maíz destacan las proantocianidinas, que son monómeros, oligómeros y polímeros de flavan-3-ol. Las proantocianidinas (PAs) monoméricas carecen de color (catequina, epicatequina, epigallocatequina, entre otras), pero al polimerizarse adquieren un tono rojo ladrillo y se denominan taninos condensables (Schofield *et al.*, 2001). La oxidación de las PAs da lugar a los flobafenos (FBF) que son oligómeros o polímeros de los flavan 4-ols. Comúnmente se cuantifican de manera conjunta con las PAs, dadas sus similitudes estructurales y de polaridad. El contenido de PAs es mayor en el grano de maíz rojo ladrillo en relación al maíz azul morado (Luna, 2011).

Las actividades biológicas asociadas a PAs y FBF de maíz son similares a las que se adjudican a los flavonoides. Sin embargo, diversos estudios relacionan la acumulación de FBF en el grano de maíz con tolerancia a la infestación por *Fusarium*. Un estudio con variedades de maíz de diferentes colores de grano mostró que los granos rojo ladrillo, con mayor acumulación de FBF (polímeros de flavan 4-ols) fueron menos proclives a la producción de fumonisina B (Pilu *et al.*, 2011). Venturini *et al.* (2016) señalan una posible relación entre el nivel de flavonoides en el pericarpio del grano de maíz con diferentes pigmentaciones, con la tolerancia a producción de fumonisinas por *F. verticillioides*.

El objetivo de este estudio fue evaluar la capacidad antifúngica *in vitro* de extractos de maíz de líneas segregantes de color, de la cruce B49xPeruano(N), sobre el desarrollo de *Fusarium verticillioides*.

2. Materiales y métodos

2.1 Material vegetal

Se utilizaron siete líneas de maíz segregantes de color, de la población B49N-RC1-CO-TL-2016-990#, obtenida de la cruce B49 X Peruano(N) = B49 N. Esta cruce se realizó en el Campo experimental Centro Altos de Jalisco en Tepatitlán de Morelos, Jalisco, México, perteneciente al Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, ubicado en las coordenadas 20°49'01"N 102°43'59"O y a una altitud de 1806 msnm. Se cosecharon alrededor de 300 mazorcas, que se separaron por color. Las mazorcas de cada color se desgranaron manualmente y el grano de cada color (1-2 kg) se guardó en bolsas de papel y se mantuvo en refrigeración hasta su análisis. Las variantes de color analizadas se muestran en la Fig. 1.



Figura 1. Variabilidad en el color del grano observado en la población B49N RC1 CO TL 2016 990#.

Figure 1. Variability in grain color of the corn population B49N RC1 CO TL 2016 990#.

2.2 Características físicas del grano

Color. Se determinó el color del grano con el colorímetro Hunter Lab mini scan (EZ Plus modelo 450/0-L) en la escala CIE $L^*a^*b^*$. El grano se colocó sobre una base de plastilina, de acuerdo con lo descrito por Salinas-Moreno *et al.* (2021). Se obtuvieron los valores L^* , a^* , y b^* , con estas dos últimas variables se calculó el ángulo de tono Hue mediante la fórmula: $\text{Hue} = \tan^{-1}(b^*/a^*)$. El índice de saturación de color se obtuvo de la expresión: $\text{Croma} = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2}$ (McGuire, 1992).

Espesor de pericarpio (EP). Se realizó en diez granos, a los que se les removió con un bisturí el pericarpio. Se tomó el espesor en mm de cinco capas de pericarpio de la cara contraria al germen, con un micrómetro digital (digimatic Mitutoyo 293). El resultado se dividió entre cinco para obtener el dato de una capa de pericarpio. La medición de EP se realizó por duplicado y los resultados se expresaron en micras.

2.3 Extracción de compuestos fenólicos (CF) del grano

Cada muestra de grano separada por color se sometió a un desengrasado previo a su molienda para obtener los extractos de CF. El grano se fracturó con ayuda de un martillo y el germen se cortó en pedacitos, la muestra completa se colocó en un cartucho de papel filtro Whatman N° 1 y se sometió a extracción en equipo Soxhlet por 8 h a 40 °C, con éter de petróleo como solvente (Merck, Toluca, MX). Posteriormente, las muestras se mantuvieron en estufa a 60 °C por 24 h para eliminar restos de solvente, y se molieron en un molino ciclónico (UDY Corp.) provisto de una malla 0.05 mm. Las harinas obtenidas se colocaron en frascos ámbar que se cerraron herméticamente y se colocaron en refrigeración. La extracción de CF se realizó al día siguiente, ya que, una vez molida la muestra, los CF se degradan con facilidad.

La extracción se realizó a partir de 1 g de harina que se mezcló con 20 mL de una mezcla de acetona: agua: ácido acético en proporciones 90:9.5:0.5, que es el solvente adecuado para extraer PAs y FBF. La muestra se sonicó por 15 min en un baño sonicador (Branson modelo 2510R-MT, EUA), y después se colocó por 1 h en un agitador horizontal (Gyrotory shaker modelo G10, US). La muestra se centrifugó (Hettich modelo D-78532, Alemania) por 15 min a 4000 rpm. El sobrenadante se filtró con papel Whatman N° 4, se midió el volumen del sobrenadante el cual se colocó en tubos de vidrio que se sellaron con parafilm y protegidos de la luz con papel aluminio, se conservaron en congelación antes de su análisis (Salinas *et al.*, 2017b).

2.4 Cuantificación de CF en los extractos

Fenoles solubles totales (FST). Se utilizó el método de Folin-Ciocalteu (FC) (Singleton y Rossi, 1965), donde 100 µL del extracto, se mezclaron con 125 µL del reactivo FC y se dejó reaccionar por 6 min; posteriormente se agregaron 1250 µL de Na_2CO_3 y 1525 µL de agua destilada. La muestra se agitó en Vortex y se dejó en reposo por 90 min a temperatura ambiente y en oscuridad. Luego se centrifugó y se midió su absorbancia en un espectrofotómetro (Perkin-Elmer Lambda 25 UV/Vis) a 760 nm. El contenido de FST se calculó con base a una curva patrón de ácido ferúlico. Los resultados se expresaron como mg equivalentes de ácido ferúlico (EAF) por 100 g de muestra seca. Los análisis se realizaron por duplicado.

Proantocianidinas (PAs). Se cuantificaron por el método 4-dimetilaminocinamaldehído (DMAC) descrito por Wallace y Giusti, (2010). A 200 μ L del extracto colocados en un tubo de ensayo se le añadieron 1000 μ L de reactivo DMAC (Sigma-Aldrich) al 2 % [previamente preparado con metanol grado HPLC (Sigma-Aldrich) acidificado con ácido sulfúrico 2N]; inmediatamente se agregaron 1800 μ L de metanol grado HPLC para completar 3 mL. La muestra se agitó en vortex y se dejó reaccionar en oscuridad por 30 min. Se midió la absorbancia en un espectrofotómetro a 640 nm. Se preparó una curva estándar de catequina (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA). Los resultados se reportaron como mg de catequina equivalentes por kg de muestra seca (mg EC/kg MS). Los análisis se realizaron por duplicado.

Flavonoides (FLAV). Se utilizó la técnica del cloruro de aluminio descrita por Sumczynski *et al.* (2017). Se mezclaron 8.5 mL de metanol al 20 % (metanol/agua) con 850 μ L del extracto y 375 μ L NaNO₂ 0.5 M en un tubo de ensayo. Se agitó vigorosamente en vortex y se dejó reaccionar en oscuridad por 5 min, transcurrido este tiempo se adicionaron 375 μ L de cloruro de aluminio, se agitó nuevamente en vortex y se mantuvo en oscuridad por 5 min. Posteriormente se agregaron 2.5 mL de NaOH 1M, se agitó nuevamente y se dejó reaccionar por 10 min. Finalmente, la muestra se centrifugó a 4000 rpm por 10 min y se determinó la absorbancia a 506 nm en el espectrofotómetro. Se elaboró una curva estándar de catequina y los resultados se expresaron en mg equivalentes de catequina por kg de muestra seca (mg EC/kg MS).

2.5 Preparación de inóculo fúngico

Para el inóculo fúngico se utilizó una cepa de *F. verticillioides* aislada de maíz. La cepa fue seleccionada de trabajos anteriores por su capacidad de infección según Zacamo *et al.* (2023). Para reactivar la cepa, se preparó medio de cultivo agar-papa-dextrosa (APD) (Bioxon). Se disolvieron 39 g de medio de cultivo deshidratado en 1 L de agua destilada, se colocó en un agitador magnético (Lab-tech) a 50 °C para obtener una solución homogénea. Ya disuelto, se esterilizó en autoclave (Yamato, SM200, Japón) a 121 °C por 20 min. El medio de cultivo estéril se vació en cajas Petri de 10 cm de diámetro y se dejó solidificar. Cuando el medio de cultivo solidificó, se obtuvo un explante de la cepa original con un sacabocados de 1,2 cm de diámetro, el explante se colocó al centro de cada una de cinco cajas Petri con medio de cultivo APD. Las cajas Petri se sellaron con parafilm y se mantuvieron en condiciones ambientales de temperatura entre 18 – 27 °C por 8 días.

2.6 Ensayo de inhibición por dilución en placa

Los extractos se concentraron en un rotavapor (Buchi R-215, Vacuum pump V-700, EUA) para eliminar el solvente, hasta llegar a un volumen de 1 mL. Previamente se preparó medio de cultivo APD de acuerdo al apartado anterior, el medio de cultivo se dividió en alícuotas de 10 mL, se pusieron en tubos de ensayo y se esterizaron en autoclave (Yamato, SM200, Japón) a 121 °C por 20 min. Los tubos con el medio de cultivo ya estéril se dejaron enfriar hasta una temperatura de 40 °C $\pm$ 5 °C, y se les agregó 0.5 mL del extracto concentrado, se agitaron vigorosamente en vortex y se vaciaron en placa de plástico de 5 cm de diámetro. Una vez que solidificó la mezcla de medio de cultivo con el extracto, las cajas se inoculaban con un explante de la cepa de *F. verticillioides* de ocho días de crecimiento. El explante se obtuvo con un sacabocados circular de 1.2 cm de diámetro y se colocó al centro de cada caja Petri. Se agregó un testigo positivo con Itraconazol 0.5 mL (20 ppm)

(Senosiain) de acuerdo a los resultados de Salinas *et al.* (2023), y un testigo negativo, al cual se agregó 0.5 mL de agua estéril en lugar de extracto (Ochoa *et al.*, 2012). La evaluación se hizo con dos repeticiones por cada tratamiento. El procedimiento de este apartado se llevó a cabo dentro de la campana de flujo laminar.

El diámetro de crecimiento *F. verticillioides* se midió cada 48 h. El porcentaje de inhibición se calculó de acuerdo a Moreno *et al.* (2011), con la ecuación 1:

$$\text{Ec. 1} \quad \text{Porcentaje de inhibición} = \frac{(\text{Área del testigo} - \text{Área del tratamiento})}{(\text{Área del Testigo})} \times 100$$

2.7 Diseño experimental y análisis de datos

Con los datos se realizó análisis de varianza con un diseño completamente al azar, ajustado al modelo $Y_{ij} = \mu_0 + T_i + E_{ij}$, en donde los tratamientos fueron los diferentes granos de maíz de las muestras. Al obtener diferencias significativas se aplicó la prueba post hoc Tukey ($\alpha=0.05$). Posterior a esto, se realizó un análisis de correlación de Pearson y un análisis de regresión con las concentraciones de FST, FLAV, y PAs y la variable porcentaje de inhibición. Los datos se analizaron en el programa estadístico SAS versión 9.3.

3. Resultados y discusión

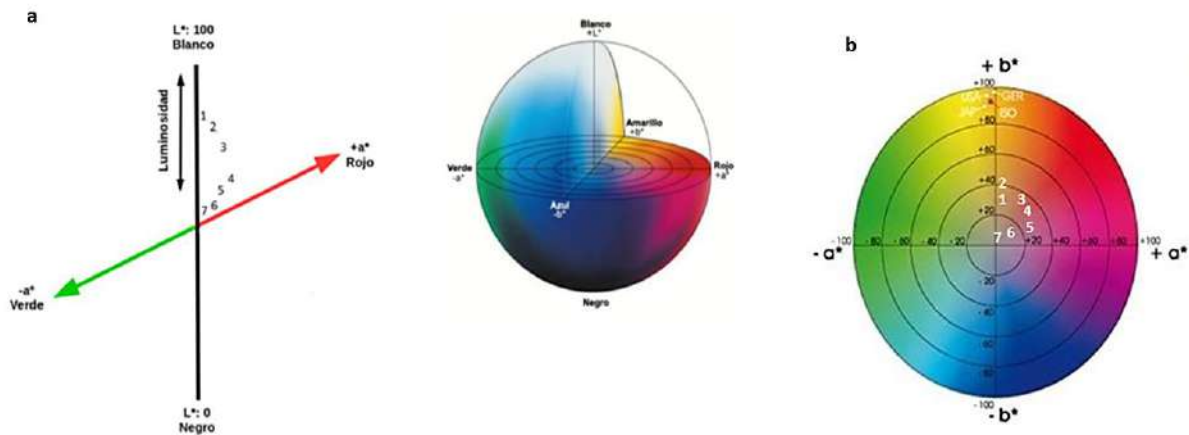
3.1 Color de grano

Cada una de las tonalidades fue clasificada por sus características de color (Tabla 1). Cada grupo de maíces se situó de acuerdo a su luminosidad en el plano que corresponde al valor de L^* y a^* (Fig 2a). Los siete grupos de maíces se situaron en el rango entre 18 y 73 %, del grupo C1 al C3 presenta una menor luminosidad por debajo los grupos C4 al C7 (Fig. 2a). En el plano a^*b^* se ubican los grupos de acuerdo a la pureza de color, los grupos de semillas C1 al C4 presentaron una mayor pureza de color que los grupos C5, C6 y C7.

Tabla 1. Variables de color de grano en las segregaciones observadas en la población de maíz B49N-RC1-CO-TL-2016-990#.**Table 1.** Grain color variables in segregations in the corn population B49N-RC1-CO-TL-2016-990#.

Maíces	Variables de color de grano				
	L*(%)	a*	b*	Hue°	Croma
C1	18 ± 2	4 ± 1	2 ± 0.5	208 ± 3	5 ± 1
C2	20 ± 3	14 ± 1	7 ± 1	202 ± 2	16 ± 2
C3	31 ± 3	20 ± 2	17 ± 2	155 ± 3	26 ± 2
C4	31 ± 4	24 ± 4	20 ± 2	158 ± 4	31 ± 2
C5	40 ± 5	24 ± 3	31 ± 3	118 ± 3	39 ± 3
C6	54 ± 6	18 ± 2	33 ± 3	91 ± 4	38 ± 4
C7	73 ± 6	3 ± 1	29 ± 2	16 ± 2	29 ± 2

Medias de 20 mazorcas por tratamiento medidas con un colorímetro hunter mini scan EZ. L*=luminosidad a*=verde/rojo-morado. b*=amarillo/azul. Hue ángulo= 0° rojo-morado, 90° amarillo, 180° verde, 360° azul. Croma=grado de gris

**Figura 2.** Grupos de maíces situados por su valor de L* a* b* que caracterizan el color de grano. L*=luminosidad. a*=verde/rojo-morado. b*=amarillo/azul. Croma=grado de gris. Hue ángulo=0° rojo-morado, 90° amarillo, 180° verde, 360° azul.**Figure 2.** Maize groups ranked by L* a* b* value characterizing kernel color. L*=luminosity. a*=green/red-purple. Chroma=degree of gray. b*=yellow/blue. Hue angle=0° red-purple, 90° yellow, 180° green, 360° blue.

3.2 Espesor de pericarpio (EP)

El análisis de varianza del EP de los granos de maíz analizado mostró diferencias significativas. El EP tuvo una variación desde 83.9 hasta 147.4 μm . La comparación de medias mostró cuatro grupos siendo el maíz C1 el que presentó un mayor espesor (147.4 μm), seguido del C3 (123.7 μm), C5 (113.7 μm), C4 (111.7 μm), C2 (93.2 μm) y finalmente C6 y C7 (85 y 83.9 μm) (Fig 3).

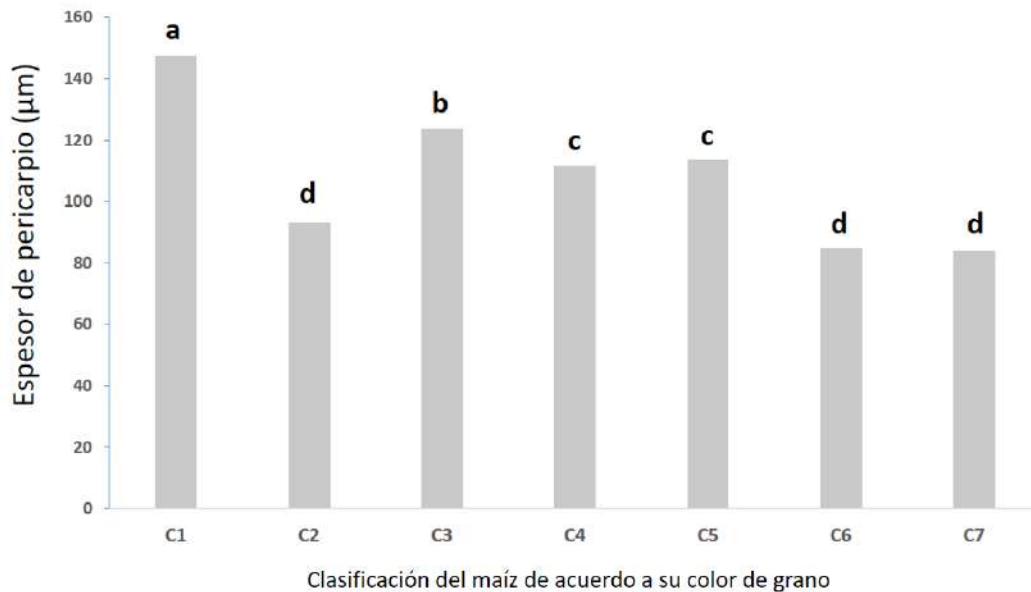


Figura 3. Espesor de pericarpio de los granos de maíz de la población B49N-RC1-CO-TL-2016-990# clasificados de acuerdo a su color de grano. Barras con letra diferente indica grupos diferentes

Figure 3. Pericarp thickness of corn grains from population B49N-RC1-CO-TL-2016-990# classified according to grain color. Bars with different letters indicate different groups.

3.3 Análisis de compuestos fenólicos de granos de maíz

El análisis de varianza reveló diferencias estadísticas entre las muestras analizadas para las variables fenólicas consideradas (Tabla 2).

La presencia de los compuestos fenólicos (FST) fue diferente estadísticamente entre las muestras de maíz analizadas. Los valores más elevados se observaron en C1 y C2, que son las muestras de grano morado, en tanto que no existió diferencia entre las muestras C3 a C7. Las muestras C3 y C4 corresponden a grano color rojo ladrillo. Los valores de FST obtenidos se ubican por arriba del rango de 988.9 - 2257.6 μg , equivalentes de ácido gálico (EAG)/g de muestra seca reportado por Luna (2011), en cinco maíces de grano rojo ladrillo. Aunque el autor antes mencionado utilizó el mismo solvente de extracción que en el presente estudio, las diferencias se atribuyen a que los resultados se reportan en función del contenido de ácidos fenólicos diferentes. Según Ramírez *et al.* (2021), los FST

del grano de maíz reportados en función del ácido ferúlico son mayores que cuando se reportan en función del ácido gálico.

Tabla 2. Análisis de varianza de los compuestos fenólicos en las diferentes coloraciones del grano de maíz.

Table 2. Analysis of variance of the phenolic compounds in the different colorations of the corn grain

Variable	Cuadrados medios	Media (µg/g)	R ²	C.V.
Fenoles solubles totales (FST)	59.4 **	1908.2	0.96	7.41
Flavonoides (FLAV)	43.43**	596	0.95	13.49
Proantocianidinas (PAs)	43.92**	46.8	0.95	20.18

** Diferencias estadísticas significativas R² Coeficiente de determinación. C.V. Coeficiente de variación

**Significant statistical differences. R² Coefficient of determination. C.V. Coefficient of variation

Un patrón similar se observó para el contenido de PAs, en donde las muestras C1 y C2 fueron las de mayor concentración y estadísticamente diferentes al resto de las muestras C3-C7, con menores valores. La concentración de PAs representa del 1.3 al 3.5 % de los FST y del 20 al 45 % está representado por la concentración de flavonoides (Tabla 3).

Tabla 3. Contenido de compuestos fenólicos en extractos de grano de maíz con diferentes colores de la población B49N-RC1-CO-TL-2016-990#.

Table 3. Content of phenolic compounds in extracts of corn grain with different colors of the population B49N-RC1-CO-TL-2016-990#.

Extracto	FST µg/g eq AF/gMS	Flav µg/g eq AF/gMS	PAs µg/g eq CAT/gMS
C1	3203.1 ^a	1220.63 ^a	112.13 ^a
C2	2229.6 ^b	651.07 ^b	83.30 ^b
C3	1819.6 ^c	538.33 ^{bc}	38.600 ^c
C4	1575.7 ^c	664.47 ^b	28.53 ^c
C5	1543.40 ^c	399.90 ^c	23.33 ^c
C6	1472.1 ^c	347.07 ^c	22.16 ^c
C7	1533.3 ^c	336.47 ^c	21.100 ^c

Valor promedio de tres repeticiones. FST: Fenoles solubles totales Flav: Flavonoides PAs: Proantocianidinas AF: ácido ferúlico MS: Materia seca CAT: catequina. Letras diferentes indica grupos diferentes.

Average value of three repetitions. FST: Total soluble phenols Flav: Flavonoids PAs: Proanthocyanidins AF: ferulic acid MS: Dry matter CAT: catechin. Different letters indicate different groups.

3.4 Ensayo de inhibición *in vitro* de los extractos fenólicos sobre *F. verticillioides*

Se observaron diferencias altamente significativas entre los extractos de las 7 líneas de maíz segregantes de color y su efecto sobre el desarrollo vegetativo de *F. verticillioides*. La diferencia se mantuvo durante los 8 días de medición.

Los mayores porcentajes de inhibición se observaron en los extractos del uno al cinco, se observó una mayor inhibición a las 96 h; la inhibición disminuyó a las 144 y 192 h, lo cual se puede atribuir a la pérdida de estabilidad de los compuestos. De acuerdo con Flores *et al.* (2018), los extractos fenólicos pierden su estabilidad a temperatura ambiente (20-30 °C). Durante la experimentación, las cajas Petri se mantuvieron a temperatura ambiente para permitir el crecimiento natural del hongo en el medio de cultivo (Tabla 4, Fig. 4).

Tabla 4. Efecto inhibitorio de los extractos fenólicos sobre el crecimiento radial de *F. verticillioides* en medio de cultivo APD desde las 48 hasta las 192 h.

Table 4. Inhibitory effect of phenolic extracts on radial growth of *F. verticillioides* in APD culture medium from 48 to 192 h.

Extracto	Inhibición (%)			
	48 h	96 h	144 h	192 h
C1	51± 9.7 ^a	65 ± 3.9 ^a	54 ± 1.7 ^a	15 ± 3.9 ^a
C2	57 ± 8.6 ^a	67 ± 5.8 ^a	55 ± 7.0 ^a	18 ± 2.7 ^a
C3	57 ± 8.6 ^a	66 ± 2.3 ^a	54 ± 4.2 ^a	15 ± 3.8 ^{ab}
C4	42 ± 4.4 ^{ab}	56 ± 2.9 ^{ab}	43 ± 1.9 ^a	4 ± 1 ^{ab}
C5	42 ± 4.5 ^{ab}	52 ± 5.6 ^{ab}	18 ± 3.1 ^{bc}	0 ± 1 ^b
C6	36 ± 4.8 ^{ab}	30 ± 6.4 ^b	10 ± 2.7 ^c	0 ± 0.5 ^b
C7	46 ± 6.3 ^{ab}	45 ± 4.8 ^{ab}	24 ± 1.1 ^b	0 ± 1 ^b
Itraconazol	26 ± 2.63 ^b	28 ± 2.8 ^b	17 ± 2.3 ^c	0 ± 0.5 ^b

Valor promedio de dos repeticiones. Diferentes letras indican diferentes grupos estadísticos (Tukey, $\alpha=0.05$).

Average value of two repetitions. Different letters indicate different statistical groups (Tukey, $\alpha=0.05$).

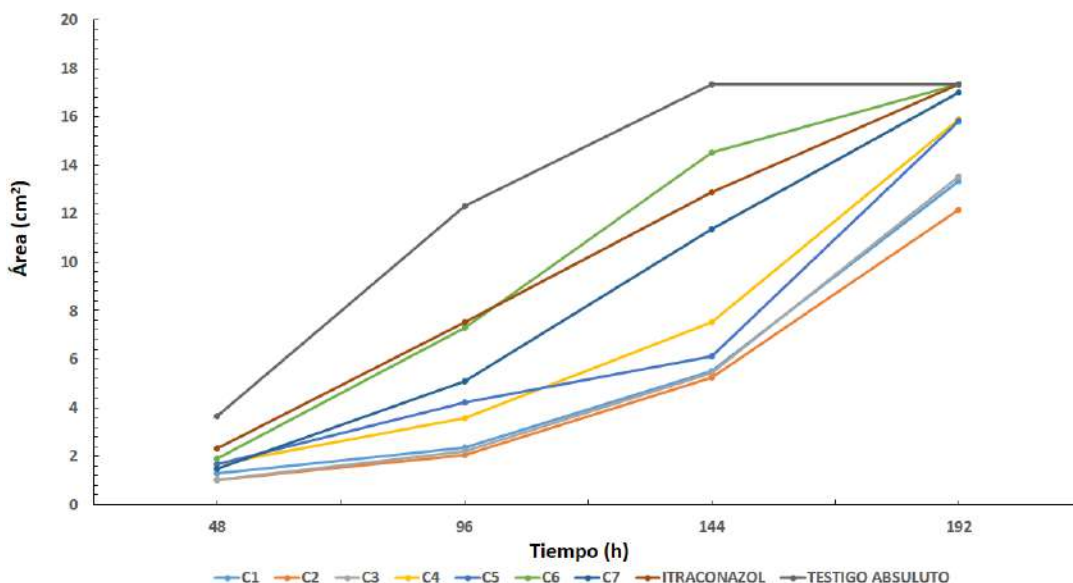


Figura 4. Crecimiento micelial de *F. verticillioides* en presencia de los extractos de compuestos fenólicos del grano de maíz de la población B49N-RC1-CO-TL-2016-990#.

Figure 4. Mycelial growth of *F. verticillioides* in the presence of extracts of phenolic compounds from corn grain of population B49N-RC1-CO-TL-2016-990#.

Los extractos de las semillas C6 y C7 mostraron una mayor inhibición a 48 h de incubación y disminuyó en las 72, 96 y 120 h del experimento. El testigo positivo debería inhibir aún más que los extractos fenólicos, sin embargo, se observó que la concentración de 20 ppm no fue suficiente para disminuir el crecimiento del hongo.

En general en el ensayo *in vitro* se observó que los extractos fenólicos de los maíces C2 y C3 retardan el crecimiento micelial de *F. verticillioides* en mayor porcentaje (57 %), es decir, tiene un efecto fungistático sobre *F. verticillioides*. Seguido de estos se encuentra el extracto del grano C1, que a pesar de tener una mayor concentración de fenólicos inhibió 6.0 % menos que los extractos del grano C2 y C3. El extracto C1 se obtuvo del color de grano azul-morado, este color es dado principalmente por la concentración de antocianinas, entre las que se encuentran cianidina-3- β -glucósido, pelargonidina-3- β -glucósido y peonidina-3- β -glucósido.

Rosas *et al.* (2021) reportaron que el extracto obtenido de *Ligustrum lucidum* W.T. Aiton mostró una inhibición alta sobre especies de *Fusarium in vitro* (>80 %). Los autores indican que se requirió una CL_{50} menor, comparada con los extractos de *Sorghum bicolor* (L.) Moench. y *Moringa oleífera* Lam. El perfil polifenólico realizado por cromatografía líquida de alta resolución acoplada a la espectrometría de masas (HPLC-MS), mostró que una de las diferencias en el contenido de fenólicos fue la ausencia de antocianinas en el extracto que presentó una mayor efectividad.

La inhibición de *F. verticillioides* puede deberse a lo siguiente: Los compuestos fenólicos actúan sobre la membrana lipídica de *F. verticillioides*, al entrar en contacto con el hongo, modifican la permeabilidad de la membrana celular. Debido a esta modificación, se provoca la fuga de moléculas intracelulares (Gallegos *et al.*, 2022). Aourach *et al.* (2021) observaron malformaciones en el micelio

de *F. oxysporum* Schlecht. expuesto a compuestos fenólicos, así como la formación de septos irregulares en las hifas y conidios no germinados. Por otro lado, según Villa *et al.* (2015) *Fusarium* produce enzimas pectolíticas que se consideran las primeras enzimas producidas para penetrar la pared celular e infectar al huésped, y los flavonoides del tipo catequinas son los responsables de inactivar estas enzimas.

Las variables FST, Flav y PAs presentaron una correlación significativa ($p < 0.0015$) y fuerte (< 0.90), entre sí, esto es de esperarse porque, en la mezcla de los FST se encuentran contenidas las PAs y Flav. Así mismo, FST, FLAV y PAs mostraron una correlación significativa y directamente proporcional a la inhibición del crecimiento vegetativo de *F. verticillioides* (0.71) (Fig. 5).

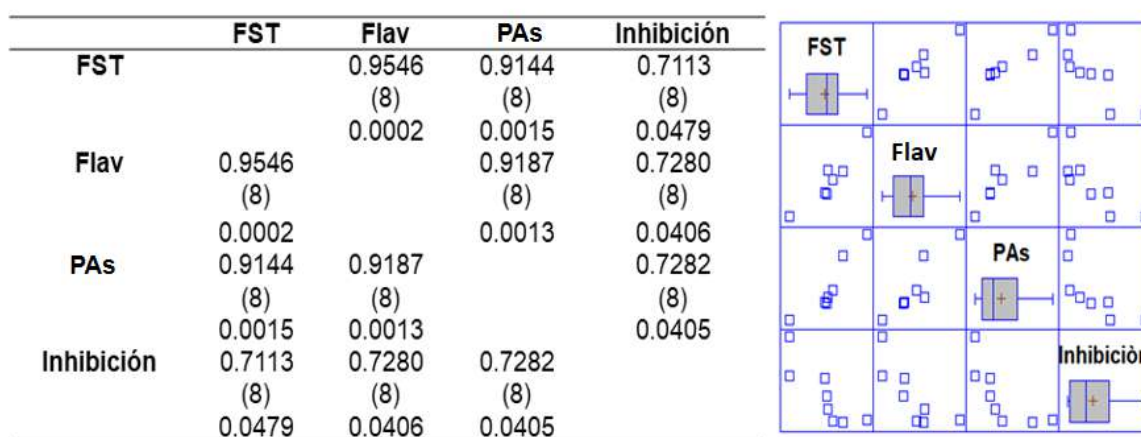


Figura 5. Análisis de correlación de las variables FST, Flav, y PAs de la población B49N-RC1-CO-TL-2016-990# con la inhibición del crecimiento de *F. verticillioides*.

Figure 5. Correlation analysis of the variables FST, Flav, and PAs of the population B49N-RC1-CO-TL-2016-990# with growth inhibition of *F. verticillioides*.

También se observó una regresión positiva entre la concentración de FST, Pas, FLAV, y el porcentaje de inhibición, esto es, a mayor concentración de fenoles aumentó el porcentaje de inhibición.

Los fenoles solubles se encuentran en mayor concentración en el germen del maíz, seguido del pericarpio y finalmente en el endospermo (Cabrera *et al.*, 2009), en su totalidad explican el 57 % de la inhibición sobre *F. verticillioides*; estos fenoles se pueden dividir en fenoles libres, glicosilados y esterificados (Cabrera *et al.*, 2009).

Dentro de la fracción soluble de los fenoles esterificados, se pueden localizar trazas de ácidos fenólicos. Los fenoles ligados son el ácido ferúlico, ácido p-cumárico y ácido sinápico (Urías *et al.*, 2016). El ácido ferúlico puede disminuir la biomasa de *F. verticillioides* hasta un 27 % (Ferrigo *et al.*, 2021); se requiere una concentración de ácido ferúlico de 1,000,000 $\mu\text{g/kg}$ para alcanzar una inhibición del 64 % sobre *F. graminearum* Schwabe (Schöneberg *et al.*, 2018).

Dentro de los fenoles esterificados se encuentran los flavonoides, que son parte de los fenoles solubles totales, y estos en conjunto explican el 52 % de la inhibición obtenida. Dentro de los flavonoides se pueden encontrar los flavonoles, flavonas, antocianidinas y los flavanos (Martínez *et al.*, 2002). La inhibición del desarrollo vegetativo de *F. verticillioides* causado por la presencia de los compuestos fenólicos, depende de varios factores como la naturaleza de los compuestos, la concentración, además de que se reporta que dicha inhibición se logra porque los compuestos fenólicos actúan en sinergia (Aourach *et al.*, 2021) (Fig. 6).

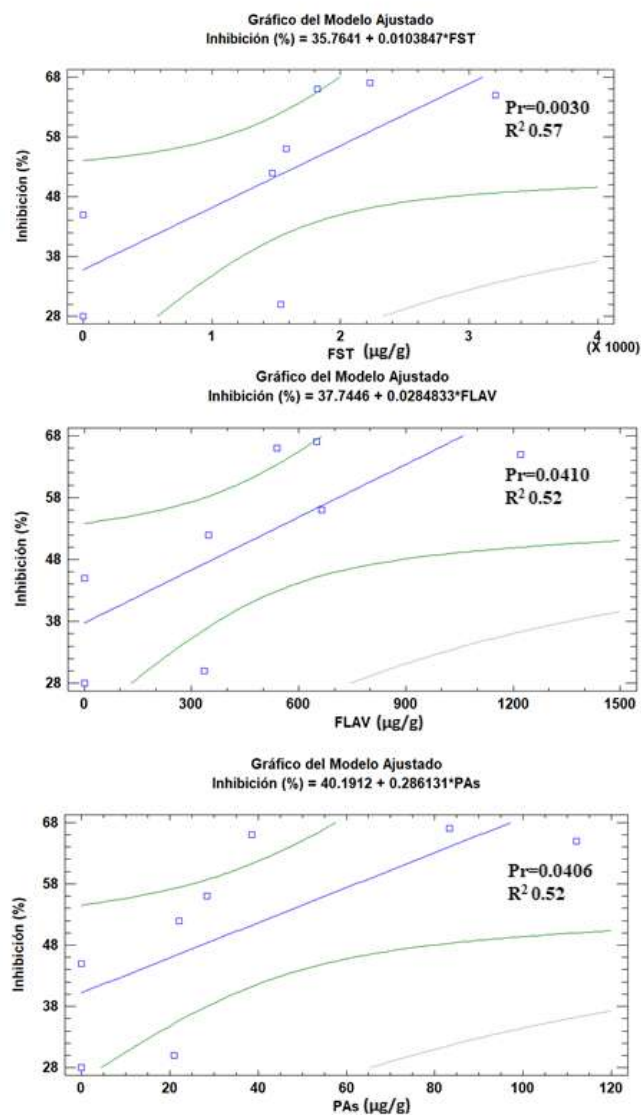


Figura 6. Análisis de regresión de las variables inhibición *in vitro* (%) y concentración de compuestos fenólicos de la población B49N-RC1-CO-TL-2016-990#.

Figure 6. Regression analysis of the variables *in vitro* inhibition (%) and concentration of phenolic compounds of the population B49N-RC1-CO-TL-2016-990#.

4. Conclusiones

Los resultados del ensayo *in vitro*, mostraron que los extractos fenólicos de los maíces de color rojo presentaron una mayor inhibición sobre el crecimiento radial de *Fusarium verticillioides*. Los extractos de los maíces de coloración blanca y amarilla presentaron una menor inhibición, al hacer la comparación con los extractos de maíces rojos. Esta capacidad se atribuye a la concentración de compuestos fenólicos, ya que la población B49N-RC1-CO-TL-2016-990#, aunque presenta diferente coloración de grano, los maíces son genéticamente muy parecidos.

Los extractos fenólicos son una alternativa para el control de *F. verticillioides*, sin embargo, es prioridad su caracterización como responsables de brindar esta tolerancia. Por otro lado, el uso de extractos vegetales es una alternativa para el control de hongos en los productos agrícolas. En este trabajo se observó que algunos extractos mostraron un control sobre el crecimiento del hongo durante los 8 días evaluados.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Campo Experimental Centro Altos de Jalisco, del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, por el apoyo para la realización de este estudio.

Conflicto de interés

Los autores reportan no tener conflicto de intereses para la publicación de estos resultados.

5. Referencias

- Adom, K.K., & Liu, R.H. (2002). Antioxidant Activity of Grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50 (21): 6182-6187. <https://doi.org/10.1021/jf0205099>
- Alberts, J. F., Van Zyl, W. H., & Gelderblom, W. C. (2016). Biologically Based Methods for Control of Fumonisin-Producing *Fusarium* Species and Reduction of the Fumonisin. *Frontiers in Microbiology*, 7: 548. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00548>
- Aourach, M., Barbero, G. F., González de Peredo, A. V., Diakite, A., El Boukari, M., & Essalmani, H. (2021). Composition and antifungal effects of aqueous extracts of *Cymbopogon citratus*, *Laurus nobilis* and *Santolina chamaecyparissus* on the growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis*, *Archives of Phytopathology and Plant Protection* 54(19-20): 2141-2159. <https://doi.org/10.1080/03235408.2021.1922169>
- Bernardi, J., Stagnati, L., Lucini, L., Rocchetti, G., Lanubile, A., Cortellini, C., De Poli, G., Busconi, M., & Marocco, A. (2018). Phenolic Profile and Susceptibility to *Fusarium* Infection of Pigmented Maize Cultivars. *Frontiers in Plant Science* 9:1189. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01189>
- Cabrera-Soto, M. L., Salinas-Moreno, Y., Velázquez-Cardelas, G. A., & Espinosa-Trujillo, E. (2009). Contenido de fenoles solubles e insolubles en las estructuras del grano de maíz y su relación con

- propiedades físicas. *Agrociencia*, 43(8): 827-839. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=30215547005>
- Ferrigo, D., Bharti, S., Mondin, M., & Raiola, A. (2021). Effect of Naturally Occurring Compounds on Fumonisin Production and fum Gene Expression in *Fusarium verticillioides*. *Agronomy*, 11(6): 1060. <https://doi.org/10.3390/agronomy11061060>
- Flores-Aguilar, E. & Flores-Rivera, E.P. (2018). Estabilidad de antocianinas, fenoles totales y capacidad antioxidante de bebidas de maíz morado (*Zea mays* L.) y uña de gato (*Uncaria tomentosa* sp). *Información Tecnológica*, 29(2): 175-184. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642018000200175>
- Flores, J. M. (2024). Control *in vitro* de *Fusarium verticillioides* mediante extractos vegetales adicionados con carbón activado y nano partículas de hidróxido de silicio. (Tesis de licenciatura, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro). <https://repositorio.uaaan.mx/xmlui/handle/123456789/49854>
- Gallegos-Flores, P. I., Delgadillo-Ruiz, L., Bañuelos-Valenzuela, R., Echavarría-Chairez, F., Valladares-Carranza, B., & Meza-López, C. (2022). Inhibition of bacterial mobility by terpenoid compounds and plant essential oils. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 25(1). <http://dx.doi.org/10.56369/tsaes.3914>
- Luna, R. K. Y. (2011). Variabilidad en el contenido de antocianinas y proantocianidinas en granos de maíz azul y rojo. (Tesis de licenciatura. Departamento de ingeniería agroindustrial. Universidad Autónoma Chapingo). 63p.
- McGuire, R. G. (1992). Reporting of objective color measurements. *HortScience* 27 (12): 1254-1255. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.27.12.1254>
- Marrez, D.A. & Ayes, A.M. (2022). Mycotoxins: The threat to food safety. *Egyptian Journal of Chemistry*, 65(1): 353-372. <https://doi.org/10.21608/EJCHEM.2021.80490.3987>
- Martínez-Flórez, S., González-Gallego, J., Culebras, J. M., & Tuñón, M. J. (2002). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición Hospitalaria*, 17(6): 271-278. https://www.researchgate.net/publication/237359143_Los_flavonoides_propiedades_y_acciones_antioxidantes
- Moreno-Limón, S., González-Solís, L. N., Salcedo-Martínez, S. M., Cárdenas-Ávila, M. L., & Perales-Ramírez, A. (2011). Efecto antifúngico de extractos de gobernadora (*Larrea tridentata* L.) sobre la inhibición *in vitro* de *Aspergillus flavus* y *Penicillium* sp. *Polibotánica*, (32): 193-205. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-27682011000200012&lng=es&tlng=es
- Ochoa-Fuentes, Y. M., Cerna-Chávez, E., Landeros-Flores, J., Hernández-Camacho, S., & Delgado-Ortiz, J. C. (2012). Evaluación *in vitro* de la actividad antifúngica de cuatro extractos vegetales metanólicos para el control de tres especies de *Fusarium* spp. *Phyton* (Buenos Aires), 81(1): 69-73. https://www.revistaphyton.fund-romuloraggio.org.ar/vol81/9-OCHOA_FUENTES.pdf
- Porras-Bautista, O. O. (2024). Plagas y enfermedades del cultivo de maíz con énfasis en *Fusarium* spp. en el Valle del Mezquital, Hidalgo. (Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro). <https://repositorio.uaaan.mx/xmlui/handle/123456789/49844>

- Pilu, R., Cassani, E., Sirizzotti, A., Petroni, K., & Tonelli, C. (2011). Effect of flavonoid pigments on the accumulation of fumonisin B1 in the maize kernel. *Journal of Applied Genetics*, 52: 145-152. <https://doi.org/10.1007/s13353-010-0014-0>
- Ramírez-García, O., Salinas-Moreno, Y., Santillán-Fernández, A., & Sumaya-Martínez, M. T. (2022). Screening antioxidant capacity of Mexican maize (*Zea mays* L.) landraces with colored grain using ABTS, DPPH and FRAP methods. *Cereal Research Communications* 50: 1075-1083. <https://doi.org/10.1007/s42976-021-00221-6>
- Rosas-Jauregui, I. A., Hernandez-Castillo, F. D., Palomo-Ligas, L., Martínez-Alemán, S. R., Ascacio-Valdés, J. A. y Rodríguez-Herrera, R. (2021) «Polifenoles de diferentes fuentes vegetales y su efecto in vitro contra patógenos del garbanzo», *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. México, ME, 12(8), pp. 1415–1427. <https://doi.org/10.29312/remexca.v12i8.2742>
- Salinas Moreno, Y., Hernández Martínez, V., Trejo Téllez, L. I., Ramírez Díaz, J. L., & Iñiguez Gómez, O. (2017a.). Composición nutricional y de compuestos bioactivos en tortillas de poblaciones nativas de maíz con grano azul/morado. *Revista Mexicana De Ciencias Agrícolas*, 8(7): 1483-1496. <https://doi.org/10.29312/remexca.v8i7.525>
- Salinas-Moreno, Y., García-Salinas, C., Ramírez-Díaz, J. L., & Alemán-de la Torre, I. (2017b.). Phenolic Compounds in Maize Grains and Its Nixtamalized Products. In: Marcos Soto-Hernandez, Mariana Palma-Tenango and Maria del Rosario Garcia-Mateos (Eds.) Phenolic Compounds - Natural Sources, Importance and Applications. Chapter 8. Published by *Intech*. 215-232 pags. <http://dx.doi.org/10.5772/66893>
- Salinas-Moreno, Y., Ramírez-Díaz, J. L., Alemán-de la Torre, I., Bautista-Ramírez, E., & Ledesma-Miramontes, A. (2021). Evaluación de dos procedimientos de medición de color en granos de maíces pigmentados. *Revista Mexicana De Ciencias Agrícolas*, 12(7):1297-1303, <https://doi.org/10.29312/remexca.v12i7.2276>
- Singleton, V.L., & Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16: 144-158. <https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144>
- Schofield, P., Mbugua, D.M. & Pell, A.N. (2001). Analysis of condensed tannins: a review. *Animal Feed Science and Technology*, 91 (1-2): 21-40. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(01\)00228-0](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(01)00228-0)
- Schöneberg, T., Kibler, K., Sulyok, M., Musa, T., Bucheli, T. D., Mascher, F., & Vogelgsang, S. (2018). Can plant phenolic compounds reduce *Fusarium* growth and mycotoxin production in cereals? *Food Additives & Contaminants: Part A*, 35(12): 2455-2470. <https://doi.org/10.1080/19440049.2018.1538570>
- Sumczynski, D., Kotàsková, E., Orsavová, J., & Valášek, P. (2017). Contribution of individual phenolics to the antioxidant activity and *in vitro* digestibility of wild rice (*Zizania Aquatica* L.). *Food Chemistry*, 218: 107–115. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.060>
- Uriás-Orona, V., Basilio-Heredia, J., Muy-Rangel, D., & Niño-Medina, G. (2016). Ácidos fenólicos con actividad antioxidante en salvado de maíz y salvado de trigo. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 3(7): 43-50. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-90282016000100005&lng=es
- Venturini, G., Babazadeh, L., Casati, P., Pilu, R., Salomoni, D., & Toffolatti, S. L. (2016). Assessing pigmented pericarp of maize kernels as possible source of resistance to *Fusarium* ear rot, *Fusarium*

- spp. infection and fumonisin accumulation. *International Journal of Food Microbiology*, 227: 56-62. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.03.022>
- Villa-Martínez, A., Pérez-Leal, R., Morales-Morales, H. A., Basurto-Sotelo, M., Soto-Parra, J. M., & Martínez-Escudero, E. (2015). Situación actual en el control de *Fusarium* spp. y evaluación de la actividad antifúngica de extractos vegetales. *Acta Agronómica*, 64(2): 194-205. <https://doi.org/10.15446/acag.v64n2.43358>
- Wallace, T. C., & Giusti, M. M. (2010). Evaluation of parameters that affect the 4-dimethylaminocinnamaldehyde assay for flavanols and proanthocyanidins. *Journal of Food Science*, 75(7): C619-C625. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01734.x>
- Yu, Y., Li, Y., Zhang, Q., Zha, Y., Lu, S., Yang, Y., Li, P., & Zhou, Y. (2022). Colorimetric immunoassay via smartphone based on Mn²⁺-Mediated aggregation of AuNPs for convenient detection of fumonisin B1. *Food Control*, 132: 108481. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108481>
- Zacamo-Velázquez, N. Y., Ireta-Moreno, J., Salinas-Moreno, Y., Gómez-Rodríguez, V. M., Ramírez-Vega, H., & Martínez-Loperena, R. (2023). Variabilidad morfológica/patogénica de *Fusarium verticillioides* en la Ciénega/Chapala, México y evaluación de técnicas de inoculación. *Agronomía Mesoamericana*, 34(1): 49679. <http://dx.doi.org/10.15517/am.v34i1.49679>
- Zheng, Y., Zhao, B., Zhang, H., Jia, H., & Wu, M. (2020). Colorimetric aptasensor for fumonisin B1 detection by regulating the amount of bubbles in closed bipolar platform. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 877: 114584. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2020.114584>

2025 TECNOCENCIA CHIHUAHUA.

Esta obra está bajo la Licencia Creative Commons Atribución No Comercial 4.0 Internacional.



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>