



ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DEL EXTRACTO EN ACETONA ASISTIDO POR ULTRASONIDO Y FRACCIONES ENRIQUECIDAS EN ALQUILRESORCINOLES DE *Hordeum vulgare* L. CONTRA *Fusarium oxysporum*

Antifungal activity of ultrasound-assisted acetone extract and alkylresorcinol-enriched fractions from *Hordeum vulgare* L. against *Fusarium oxysporum*

Oscar D. Plazas-Jiménez y Ericsson Coy-Barrera[✉]

ABSTRACT. Phenolic lipids are a series of natural origin compounds which are produced, among others, by species of the family Poaceae, such as barley (*Hordeum vulgare* L.). Such compounds have been described with significant antimicrobial properties. Therefore, as part of a program for the search for antifungal compounds, an acetone extract and depurated fractions were obtained from grain flour of barley (andina variety) and tested *in-vitro* against *Furarium oxysporum*. The acetone extract showed high alkylresorcinols content compared to previous works, whose chromatographic profile led to identify at least eight major alkylresorcinols. The purification of the extract (monitored with specific reveler) led to obtain three alkylresorcinol-enriched fractions. Both the crude extract and the purified fractions showed antifungal activity at different levels, with a dose-dependent response. Thus the treatments showed ED₅₀ values were between 3,3-24,0 µg mL⁻¹. However, enriched fractions showed greater activity to that of crude extract, indicating that the direct effect of alkylresorcinols on the phytopathogen is representative to inhibit their growth. All of the above mentioned facts suggest these compounds as good candidates for controlling this phytopathogen.

RESUMEN. Los lípidos fenólicos son una serie de compuestos de origen natural que son producidos, entre otros, por especies de la familia Poaceae, como es el caso de la cebada (*Hordeum vulgare* L.). Tales compuestos se han descrito en algunos trabajos con propiedades antimicrobianas importantes. Por tanto, como parte de un programa de búsqueda de compuestos anti fúngicos, se realizó la evaluación de la actividad *in-vitro* contra *Furarium oxysporum* del extracto en acetona y de tres fracciones depuradas, obtenidas a partir de la harina de granos de la variedad andina de cebada. En comparación con trabajos previos, el extracto en acetona presentó contenidos más altos de alkylresorcinoles, cuyo perfil cromatográfico permitió identificar al menos ocho alkylresorcinoles mayoritarios. La depuración del extracto bajo monitoreo con revelador específico, llevó a la obtención de tres fracciones enriquecidas en alkylresorcinoles. Tanto el extracto crudo como las fracciones depuradas mostraron actividad anti fúngica a diferentes niveles, con respuesta dependiente de la dosis. Así, los valores de ED₅₀ de tales tratamientos estuvieron entre 3,3-24,0 µg mL⁻¹. Las fracciones enriquecidas mostraron mayor actividad, indicando que el efecto directo de los alkylresorcinoles sobre el fitopatógeno es representativo para inhibir su crecimiento. Todo lo anterior sugiere a estos compuestos como buenos candidatos para ser estudiados en trabajos futuros en el control de este fitopatógeno.

Key words: Poaceae, antifungal properties, phenolic compounds, lipids

Palabras clave: Poaceae, propiedades antimicrosicas, compuestos fenólicos, lípidos

Laboratorio de Química Bioorgánica, Facultad de Ciencias Básicas y Aplicadas, Universidad Militar Nueva Granada

✉ ericsson.coy@unimilitar.edu.co

INTRODUCCIÓN

Los alquilresorcinoles se definen químicamente como lípidos fenólicos no isoprenoides. Su estructura consiste de un anillo de benceno con dos grupos hidroxilo en posiciones 1,3 y generalmente una cadena alifática en la posición 5, que puede variar desde C_1 hasta C_{29} y estar saturada e insaturada. Son moléculas anfipáticas, lo cual depende del largo de la cadena alifática, la saturación y los grupos funcionales presentes (1).

Algunos autores notifican la presencia de alquilresorcinoles en 11 familias de plantas, dos familias de algas, tres géneros de musgos, dos familias de hongos, tres familias de bacterias y una especie de esponja marina (2). En el caso de las plantas, los alquilresorcinoles se acumulan en la cutícula de las hojas, botones florales, frutos y semillas.

Dentro de las especies vegetales más reconocidas, por sus altos contenidos de alquilresorcinoles, se destaca a la familia Poaceae, cuyos ejemplares más representativos son la cebada (*Hordeum vulgare* L.), trigo (*Triticum aestivum* L.), centeno (*Secale cereale* L.), triticale (\times *Triticum secale*), arroz (*Oryza sativa* L.), maíz (*Zea mays* L.), mijo (*Pennisetum americanum* L.) y avena (*Avena sativa* L.) (3).

La cebada es cultivada en Colombia, en zonas con alturas entre 1800-3200 metros sobre el nivel del mar y temperaturas de 18-11 °C, con un área de 6,372 ha. No obstante, la cebada no es un producto principal de cultivo.

Actualmente se hacen grandes esfuerzos para mejorar su oferta y demanda, ya sea para el consumo humano o animal, como para la industria cervecera. Sumado a esto se encuentra el hecho de que sean buenas fuentes de alquilresorcinoles, ya que en varios casos se ha descrito que una de las razones químicas para que las semillas de cebada sean resistentes a hongos, es la presencia de alquilresorcinoles (4). Esto abre la posibilidad de considerar estos compuestos como posibles entidades químicas para el control de hongos, entre los que se encuentra *Fusarium oxysporum* Schlecht., un hongo causante de enfermedades en plantas de interés comercial en Colombia y otros países (5).

Varios trabajos coinciden en explicar que la bioactividad de los alquilresorcinoles está determinada por su naturaleza anfipática, la cual les permite interactuar con un amplio número de moléculas, células y estructuras tisulares (1, 2). Por tanto, algunos estudios han sido enfocados a la evaluación de la capacidad de los alquilresorcinoles para inhibir el crecimiento *in-vitro* de microorganismos.

En esos estudios se destaca la actividad antifúngica contra *Aspergillus niger* Tiegh., *A. parasticus* Speare, *A. versicolor* (Vuill.) Tirab., *Penicillium chrysogenum* Thom, *P. roqueforti* Thom,

Fusarium culmorum (W.G. Sm.) Sacc., *Rhizoctonia solani* J.G. Kühn, *R. cerealis* E.P. Hoeven, *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl., *Cladosporium cucumerinum* Ellis & Arthur, *Trichophyton mentagrophytes* (C.P. Robin) R. Blanch. y *Saccharomyces cerevisiae* Meyen ex E.C. Hansen (2, 6).

Otros autores concluyen que los alquilresorcinoles son importantes y eficientes entidades químicas con propiedades antimicrobianas, los cuales podrían estar jugando un papel conveniente en la protección contra patógenos durante la formación de semillas y la biocenosis de plántulas (6, 7). Por consiguiente, con el propósito de aportar información relacionada con la actividad antifúngica de alquilresorcinoles de fuentes conocidas, en el presente trabajo se estableció un diseño experimental dirigido a la evaluación *in-vitro* contra *F. oxysporum* del producto obtenido a partir de la harina de cebada, mediante la extracción con acetona, asistido por ultrasonido, y de tres fracciones enriquecidas en alquilresorcinoles.

Este trabajo se constituye en el primer estudio sobre la composición en términos de alquilresorcinoles de cebada cultivada en Colombia y de la actividad de alquilresorcinoles contra *F. oxysporum*.

MATERIALES Y MÉTODOS

MATERIAL BIOLÓGICO

El material vegetal de cebada—*H. vulgare* L., genotipo Andino, caracterizado por espigas de seis carreras, grano cubierto y masa de 100 granos=4,83±0,35 g (8)—fue cultivado bajo fertilización orgánica y sin productos agrícolas sintéticos, en bloques completamente al azar con tres repeticiones, en el predio de cultivo experimental del Campus Nueva Granada (suelo arcilloso (pH 8,0), 16 °C, 2600 m s. n. m.). El cultivo se estableció conforme a lo notificado en un trabajo previo (8).

Las muestras de grano entero (ca. 2000 granos con pericarpio y endospermo), se recogieron de plantas adultas por triplicado. Las muestras colectadas fueron liofilizadas, y una vez secas, se molieron en un triturador de cuchillas (Marca Waring, Modelo 2.5 Qt) hasta harina, luego se mantuvieron a -20 °C hasta su posterior análisis.

El fitopatógeno (*F. oxysporum*) se mantuvo crioconservado en caldo nutritivo:glicerol 70:30 a -20 °C y fue reactivado en placas contentivas de agar nutritivo a 25 °C, durante 48 h cuando se requirió su uso.

EXTRACCIÓN

Para la extracción con acetona de la harina de cebada se siguió la metodología descrita en el trabajo desarrollado por Magnucka, *et al.* (1). La mencionada extracción consistió en tomar una muestra de la harina (80 g) y someterla a extracción asistida por ultrasonido

con acetona (120 mL). La extracción consistió de tres ciclos de sonicación de 15 min en un equipo Elmasonic S30H. El extracto obtenido se filtró a través de papel filtro (Papel Whatman No 4) y posteriormente se concentró a sequedad, a presión reducida (40°C) en un rotaevaporador IKA Digital 10.

OBTENCIÓN DE FRACCIONES ENRIQUECIDAS EN ALQUILRESORCINOLES

Una cantidad (5,0 g) del extracto en acetona se fraccionó por cromatografía en columna (CC), sobre gel de sílice (SiO₂), eluyendo con una mezcla de cloroformo:acetona:metanol 90:10:1 v/v/v a un flujo de 0,5 mL min⁻¹. Las fracciones se colectaron en viales de vidrio y fueron monitoreadas por cromatografía en capa delgada (CCD) (eluidas con cloroformo:acetona:metanol 82:15:3 v/v/v y reveladas con Fast Blue RR® al 0,5 %). Luego de la elución, se reunieron las fracciones con perfil en CCD similar, a partir de la evidencia de la presencia de alquilesorcinol.

CUANTIFICACIÓN COLORIMÉTRICA DE ALQUILRESORCINOLES EN EXTRACTOS Y FRACCIONES

Para la cuantificación colorimétrica de alquilesorcinol en los extractos y fracciones de harina de cebada, se tomó por separado 1 mL de una disolución de 1 mg mL⁻¹ del extracto o fracción en metanol, se agregaron 100 µL de Na₂CO₃ al 10 %; luego se adicionaron 3 mL de una disolución de FBRR al 0,01 % y 20 minutos después se midió la absorbancia a 480 nm (9). Cada medida se realizó por triplicado. Las medidas de absorbancia obtenidas se transformaron a valores de concentración en una curva de calibración previamente construida, utilizando olivetol (en µg mL⁻¹) como patrón de referencia (y=0,1601x; R²=0,9997). Los resultados se expresaron como µg equivalentes de olivetol/g de material seco (MS) (± intervalo de confianza a 95 %).

ANÁLISIS POR HPLC-ESI-MS

La disolución del extracto y las fracciones (100 µg mL⁻¹) se analizaron en un cromatógrafo Shimadzu UFLC con una bomba LC20AD y un detector UV SPD20A acoplado con interface ESI en modo positivo a un espectrómetro de masas de alta resolución marca Bruker, modelo Micro ToF-QII. La corrida cromatográfica para todos los extractos se realizó en una columna marca Phenomenex® modelo Luna C18 de 5 µm de tamaño de partícula y de dimensiones 250X100 mm.

La fase móvil utilizada para el análisis fue una mezcla de metanol (fase A) y 0,05 % de ácido trifluoroacético (TFA) en agua (fase B), en gradiente de elución (fase B: 50 % de 0-2 min; 50-100 % de 2-20 min; 100 % de 20-24 min; 100-50 % de 24-26 min; 50 % de 26-30 min).

La identificación tentativa se llevó a cabo mediante el análisis de los espectros de masas, recuperados del TIC, el análisis de la fórmula condensada a través de las medidas de masa exacta y por comparación con datos encontrados en literatura.

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIUFÚNGICA

La actividad antifúngica *in-vitro* se evaluó contra *F. oxysporum*. El medio de cultivo Agar Papa Dextrosa (PDA) se suplementó a diferentes concentraciones (100,0-0,01 µg mL⁻¹) de los extractos y las fracciones obtenidas de *H. vulgare*.

Lo anterior se realizó por una mezcla directa entre el medio (PDA antes de solidificar) y el tratamiento (el extracto en acetona o las fracciones F1-F3), adicionando la cantidad requerida de medio y de tratamiento, para conseguir la concentración a evaluar. Esta mezcla se agitó fuertemente hasta obtener una dispersión homogénea antes de solidificar.

Los medios suplementados se adicionaron en cajas Petri de 6 cm de diámetro y luego se colocó un disco de 2 mm, obtenido a partir de una colonia del fitopatógeno en el centro de la caja (10). Cada ensayo consistió de un diseño aleatorizado con tres repeticiones (cada una con tres réplicas) comparado contra un testigo (PDA sin tratamiento). Como control positivo se usó prochloraz®.

Los ensayos se dieron por terminados, una vez que el crecimiento micelial del testigo alcanzó el borde de la caja. Al finalizar la prueba se realizó el análisis de datos calculando el porcentaje de inhibición (InC).

$$\%InC = \left[\frac{\text{área crecimiento micelial testigo} - \text{área crecimiento micelial tratamiento}}{\text{área crecimiento micelial testigo}} \right] * 100$$

Al finalizar el ensayo se registró también el número de conidios (en cámara de Neubauer) en los distintos tratamientos evaluados, para calcular el porcentaje de inhibición de producción de conidios:

$$(InE) (\%InE = \left[\frac{\text{conidios/cm}^2 \text{ del testigo} - \text{conidios/cm}^2 \text{ tratamiento}}{\text{conidios/cm}^2 \text{ testigo}} \right] * 100)$$

donde:

Esporas/cm² = # conidios

* área de crecimiento del hongo para cada tratamiento o testigo.

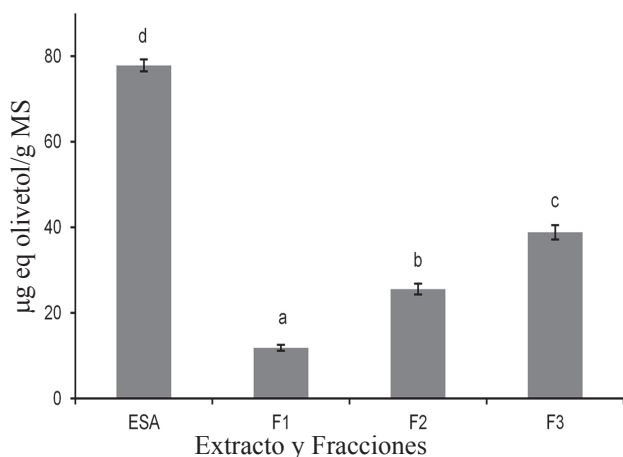
ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Con el fin de determinar si había diferencias (p<0,05) entre las variables respuesta evaluadas, los resultados de contenido total de alquilesorcinol (CTA) y actividad antifúngica se compararon con sus réplicas, utilizando las pruebas de ANOVA y TUKEY (11). Para este fin se utilizó el software estadístico R versión 3.2.5 (12). Adicionalmente, con los datos de inhibición se determinó la dosis efectiva media (ED₅₀) mediante una regresión no lineal con el programa Graph Pad Prism 5.0 (13).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

ALQUILRESORCINOLES EN CEBADA ANDINA

La extracción con acetona proporcionó un rendimiento de 9,1 mg extracto por g de material seco. En la Figura 1 se observa que el CTA para *H. vulgare*, genotipo Andino cultivado en Colombia, posee un valor de $77,8 \pm 1,4 \mu\text{g g}^{-1}$ de material seco. Este resultado es comparable con lo encontrado en otros estudios previos, donde se describe que el valor CTA para cebada puede encontrarse entre 41-210 $\mu\text{g g}^{-1}$ base seca (4). No obstante, el resultado encontrado fue mayor que los contenidos determinados en accesiones de origen polaco (14), pero menor a los encontrados en otras gramíneas como el trigo (1).



Valores expresados como el promedio de tres réplicas \pm intervalo de confianza.

Los valores con diferente letra indican que son significativamente diferentes ($p < 0,05$), según la prueba de Tukey (11).

Figura 1. Contenido total de alquilresorcinoles (CTA) para el extracto soluble en acetona (ESA) y las fracciones obtenidas por cromatografía en columna

A partir del análisis por HPLC-ESI-HRMS se obtuvo el cromatograma de iones totales (TIC) mostrado en la Figura 2a. En este TIC se observan 22 señales cromatográficas. No obstante, se encontró que no todos los compuestos detectados corresponden a alquilresorcinoles, entre los que se consideran algunos fenólicos y triglicéridos (datos no mostrados).

Bajo un análisis detallado de los espectros de masas y la fórmula condensada, deducida por la determinación de su masa exacta, se identificaron ocho compuestos de tipo alquilresorcinol, indicados por números resaltados en el perfil cromatográfico del extracto (Figura 2a).

En la Tabla I se muestran los ocho alquilresorcinol identificados, con los valores de masa exacta, fórmula molecular deducida y el nombre del alquilresorcinol identificado.

En trabajos previos se analizaron los alquilresorcinol presentes en cebada por cromatografía de gases, acoplada a espectrometría de masas (GC-MS). Este tipo de análisis requiere una previa derivatización para obtener los productos trimetilsilados de los alquilresorcinol para que puedan ser analizados por GC. En tales trabajos se encontraron series homólogas de cadena saturada de $C_{15:0}$ a $C_{25:0}$, siendo mayoritarios los compuestos $C_{21:0}$ y $C_{25:0}$ (14). No obstante, en el ESA de la variedad andina se encontraron tres alquilresorcinol conocidos, pero no identificados antes en muestras de cebada: el $C_{12:1}$ (1), $C_{14:1}$ (2) y el $C_{18:0}$ (5). Esto puede deberse al uso de la sonicación como ayuda en la extracción, permitiendo remover tales compuestos de la matriz vegetal.

De todos los compuestos detectados en el ESA, aquellos con mayor área correspondieron a $C_{15:0}$ (3), $C_{17:0}$ (4), $C_{19:0}$ (6) y $C_{21:0}$ (7), los cuáles podrían ser considerados como mayoritarios.

OBTENCIÓN DE FRACCIONES ENRIQUECIDAS EN ALQUILRESORCINOLES

A partir de la cromatografía en columna se obtuvieron tres fracciones enriquecidas en alquilresorcinol (F1-F3), con valores de R_f en CCD de 0,81, 0,62 y 0,44, respectivamente.

La cuantificación del CTA mostró que la F3 posee el mayor contenido ($38,8 \mu\text{g eq olivetol g}^{-1}$ de MS) en comparación con las otras fracciones (Figura 1), indicando que el ESA es abundante en compuestos saturados de cadena larga. Así mismo, estas tres fracciones también se analizaron por HPLC-ESI-HRMS cuyos TIC se muestran en la Figura 2b-d, respectivamente. En estos perfiles se aprecia la buena separación alcanzada en las fracciones, obteniendo para cada fracción tres grupos de alquilresorcinol, lo cual es un indicativo de la depuración de los extractos.

La fracción 3, por su complejidad, agrupó el mayor número de compuestos, entre los que se encuentran los alquilresorcinol 5-8 en mezcla con algunos triglicéridos. Las fracciones 2 y 3 consistieron en mezclas de dos alquilresorcinol equivalentes a 1-2 y 3-4, respectivamente.

Otras señales presentes en el TIC del ESA no se presentan en las fracciones dado que la depuración del extracto se basó en el monitoreo con el revelador específico para alquilresorcinol.

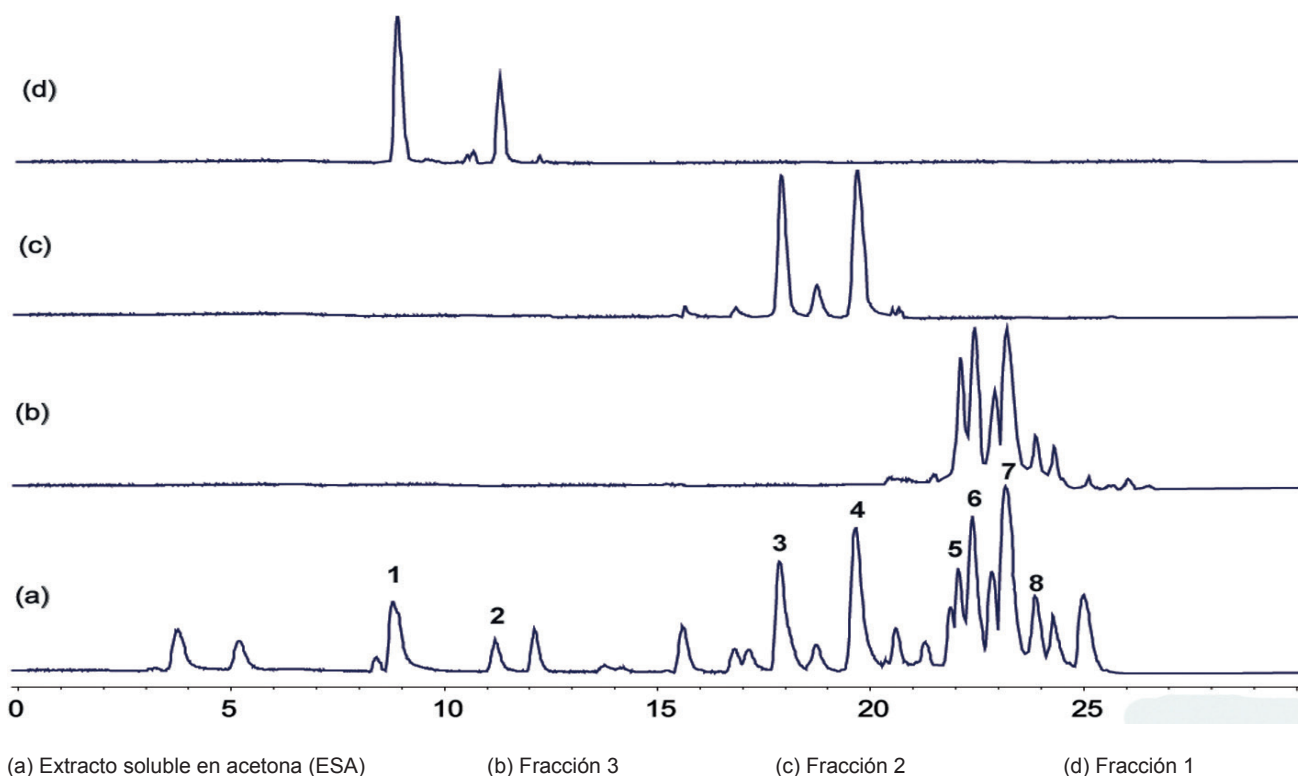


Figura 2. Cromatograma de iones totales (TIC) obtenido por HPLC-ESI-HRMS para los extractos y fracciones obtenidas de *H. vulgare*

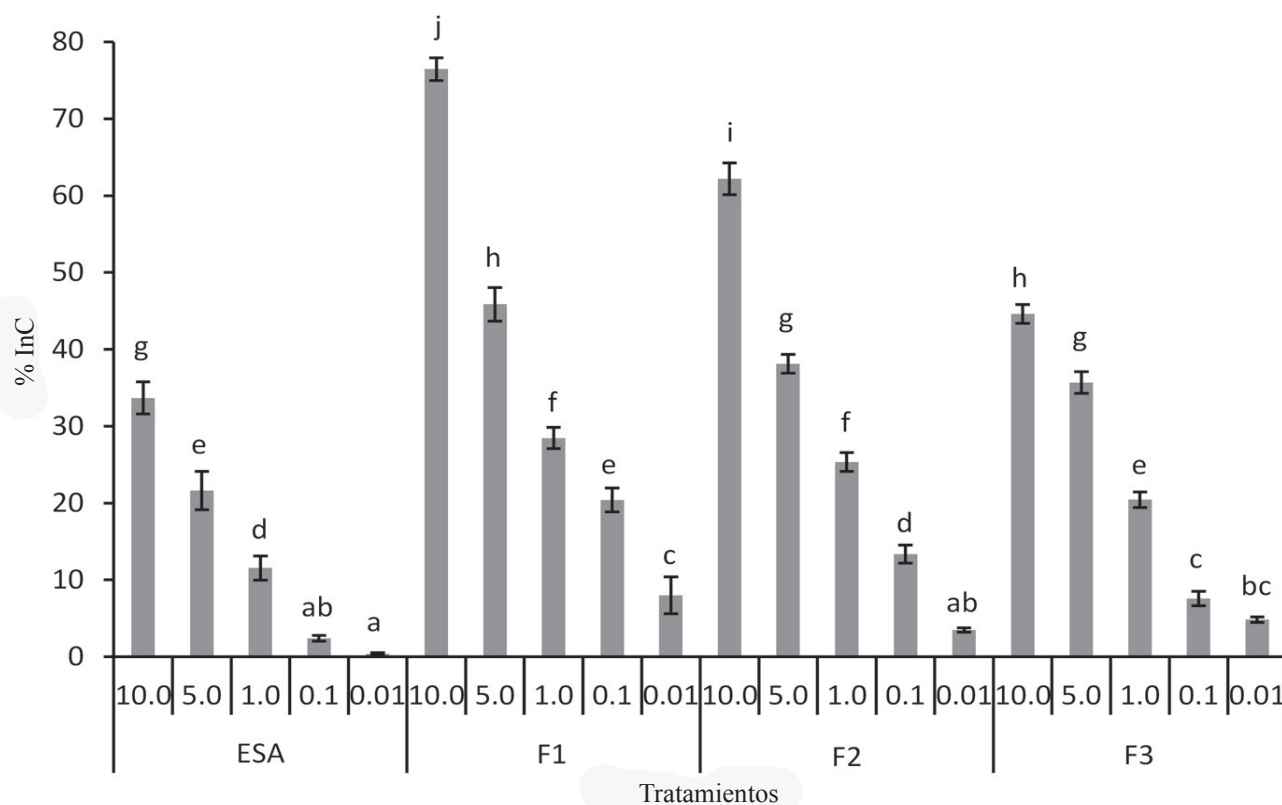
Tabla I. Alquilresorcinoles identificados en el extracto soluble en acetona y fracciones de *H. vulgare* L.

No	[M+H] ⁺ (m/z)	Fórmula molecular	Cadena lateral (serie homóloga)	Nombre
1	277,2163	C ₁₈ H ₂₈ O ₂	C _{12:1}	dodecenilresorcinol
2	305,2485	C ₂₀ H ₃₂ O ₂	C _{14:1}	tetradecenilresorcinol
3	321,2789	C ₂₁ H ₃₆ O ₂	C _{15:0}	pentadecilresorcinol
4	349,3112	C ₂₃ H ₄₀ O ₂	C _{17:0}	heptadecilresorcinol
5	363,3260	C ₂₄ H ₄₂ O ₂	C _{18:0}	octadecilresorcinol
6	377,3426	C ₂₅ H ₄₄ O ₂	C _{19:0}	nonadecilresorcinol
7	405,3741	C ₂₇ H ₄₈ O ₂	C _{21:0}	hencosilresorcinol
8	433,4038	C ₂₉ H ₅₂ O ₂	C _{23:0}	tricosilresorcinol

ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA

En la Figura 3 se muestran los resultados del porcentaje InC para cada uno de los tratamientos. En ella se observa que el ESA presenta un comportamiento dependiente de la dosis empleada, con valores entre 0,5-34,0% de inhibición a dosis entre 0,01 y 10,0 µg mL⁻¹, y significativamente diferentes (p<0,05) entre sí. Estos resultados concuerdan con lo encontrado por otros autores (7), quienes evaluaron una mezcla de alquilresorcinoles saturados de C₁₃ a C₂₇ contra tres fitopatógenos (*F. culmorum*, *R. solani*, *R. cerealis*) y encontraron que la mezcla ejercía inhibición a diferentes niveles.

En ese estudio, los fitopatógenos presentaron inhibición a partir de 10-20 µg mL⁻¹, siendo *F. culmorum* el más resistente a los tratamientos. Sin embargo, al compararlos con los presentes resultados, el extracto crudo soluble en acetona (ESA) de cebada resultó ser más activo, pues a 90 µg mL⁻¹ inhibió el crecimiento completamente (datos no mostrados), mientras que en otro trabajo se observó que la inhibición completa se logró a partir de 160 µg mL⁻¹ (7).



Valores expresados como el promedio de nueve réplicas \pm intervalo de confianza
 Los valores con diferente letra indican que son significativamente diferentes ($p < 0,05$) según la prueba de Tukey (11)

Figura 3. Porcentaje de inhibición de crecimiento micelial (% InC) resultado de los tratamientos (extractos y fracciones) de *H. vulgare* contra *F. oxysporum*

Las fracciones F1-F3 por su parte, presentaron mejor actividad que el ESA, con porcentajes de inhibición mayores y significativamente diferentes ($p < 0,05$) al extracto crudo. Entre ellas, la Fracción 1 presentó los mejores valores de inhibición (77 % a $10 \mu\text{g mL}^{-1}$), la cual contiene los alquilresorcinoles insaturados y de cadena de C_{12} y C_{14} . Las otras dos fracciones (F1 y F2) también fueron más activas que ESA, las cuáles contienen alquilresorcinoles saturados (C_{15} - C_{23}), pero menos activos en comparación con la Fracción 1 (e.g., a la máxima dosis mostrada, $10 \mu\text{g mL}^{-1}$).

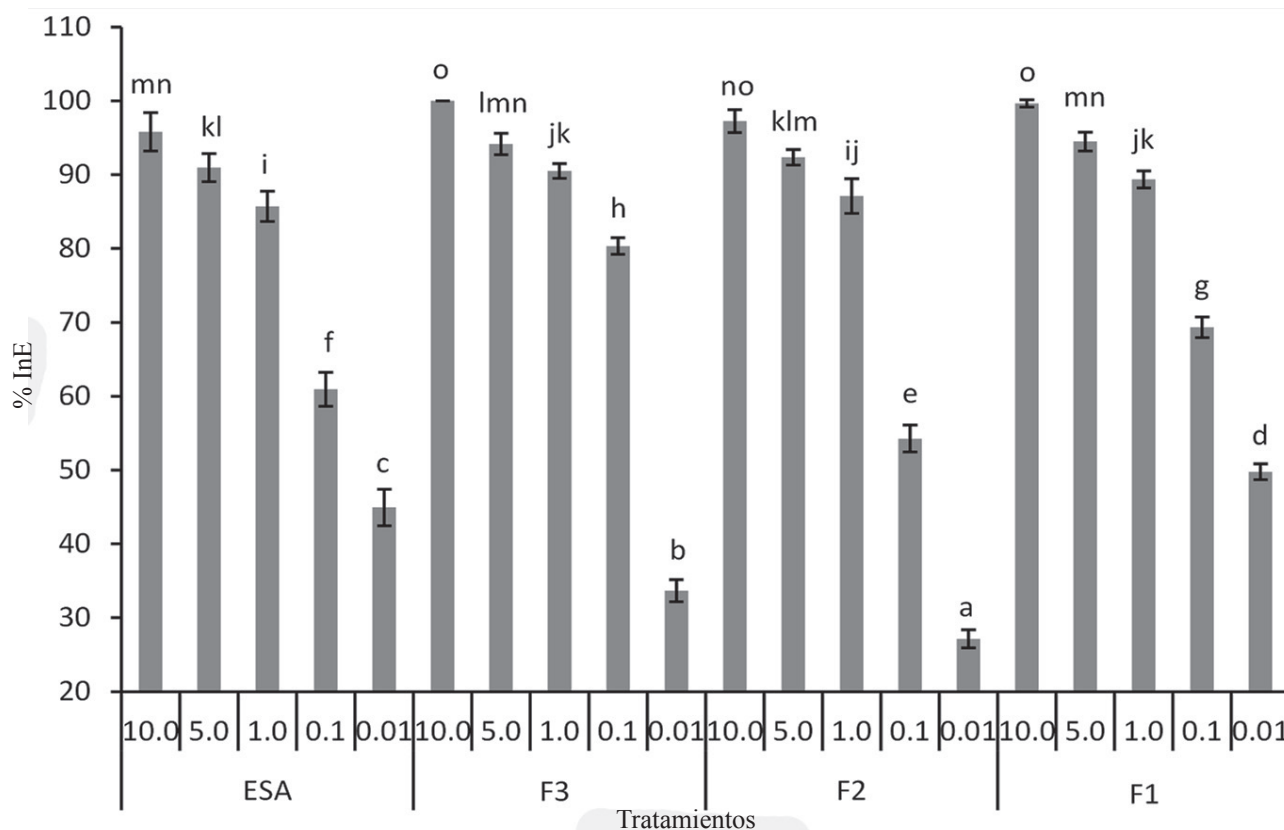
Por otro lado, los resultados de DE_{50} se muestran en la Tabla II. Se puede apreciar que el ESA es el menos activo ($24,1 \pm 1,3 \mu\text{g mL}^{-1}$) y que la Fracción 1 presenta la mayor actividad (dos-cuatro veces) en términos de inhibición de crecimiento micelial de *F. oxysporum* ($3,31 \pm 0,54 \mu\text{g mL}^{-1}$) y casi comparables con el control positivo utilizado (prochloraz®, $ED_{50} = 1,68 \pm 0,37 \mu\text{g mL}^{-1}$).

Para el caso de la inhibición en la producción de conidios (%InE), tanto el extracto como las fracciones mostraron reducción significativa en la esporulación, y con una distribución similar (Figura 4).

Nuevamente la Fracción 1 evidenció los valores más altos de %InE, aunque fueron comparables y sin diferencia significativa con las Fracciones 1 y 2. Sin embargo, las fracciones presentaron valores ligeramente más altos que el ESA.

Los alquilresorcinoles, así como los lípidos fenólicos en general, se describen como compuestos con diferentes actividades biológicas (15), sobre todo aquellos obtenidos a partir de cereales (16). No obstante, la actividad antifúngica contra algunos fitopatógenos no se ha estudiado ampliamente, encontrándose estudios de actividad contra fitopatógenos de alquilresorcinoles obtenidos de centeno (7, 17–19), trigo duro (6), y de la cáscara de mango (20, 21).

Para alquilresorcinoles obtenidos de *H. vulgare* solo se encontró el estudio realizado con extractos obtenidos del grano de diferentes cultivares de cebada de origen uruguayo contra *A. niger* y *P. crysogenum* (5), pero no hay resultados previos que evalúan la actividad de alquilresorcinoles contra *F. oxysporum*, lo cual también constituye una de las principales novedades del presente trabajo.



Valores expresados como el promedio de nueve réplicas ± intervalo de confianza. Los valores con diferente letra indican que son significativamente diferentes ($p < 0,05$) según la prueba de Tukey (11)

Figura 4. Porcentaje de inhibición de producción de conidios (% InE) resultado de los tratamientos (extractos y fracciones) de *H. vulgare* contra *F. oxysporum*

Tabla II. Dosis efectiva media (ED_{50}) del extracto soluble en acetona y las fracciones de *H. vulgare* L. evaluados contra *F. oxysporum*

Tratamiento	ESA	F1	F2	F3
ED_{50} (µg mL)	24,1±1,3	3,31±0,54	6,79±0,65	16,6±0,8

Los resultados permiten concluir que los alquilresorcinolos poseen actividad antifúngica, lo cual está acorde con lo establecido por Zarnowski en su estudio (7).

Lo anterior indica también que los alquilresorcinolos podrían ser objeto de estudio en procesos avanzados de evaluación (*in-vivo* y en campo) en el camino para ser utilizados como una alternativa de control de *F. oxysporum*.

Teniendo en cuenta las características químicas de los alquilresorcinolos presentes en las fracciones, los lípidos fenólicos con cadenas más pequeñas o insaturadas, poseen mayor actividad antifúngica que aquellos con cadenas saturadas y más largas. Esto está de acuerdo con un estudio previo donde se encontró que los alquilresorcinolos saturados y de cadena más larga posiblemente no retenían

la actividad antifúngica por más tiempo, dado que algunos hongos fitopatógenos tienen la capacidad de metabolizar los alquilresorcinolos de cadena relativamente más grande, transformándolos en compuestos menos tóxicos (17).

CONCLUSIONES

- ◆ El presente estudio corresponde al primer trabajo en Colombia dirigido a establecer la composición en términos de alquilresorcinolos de la cebada, cultivada en el territorio central andino colombiano.
- ◆ El perfil cromatográfico del extracto soluble en acetona de la variedad andina de cebada permitió identificar al menos ocho alquilresorcinolos mayoritarios. Este extracto además presentó contenidos totales de alquilresorcinolos más altos que en otros estudios.
- ◆ Las tres fracciones depuradas y enriquecidas en alquilresorcinolos mostraron mayor actividad antifúngica (tanto porcentaje de inhibición de crecimiento y de producción de conidios) que el extracto crudo, lo cual indica que los alquilresorcinolos podrían ser los responsables de la actividad presentada.

- ◆ Se evidenció que las fracciones que contienen alquilresorcinoles con cadena insaturada y con menos carbonos son entre dos-cuatro veces más activas que aquellas que contienen alquilresorcinoles saturados y con más carbonos.
- ◆ Los resultados indican que este tipo de compuestos, abundantes en cebada como en otras gramíneas, son importantes y valiosas entidades químicas que, eventualmente, podrían ser sometidos a estudios adicionales, conducentes a la inclusión de alquilresorcinoles en programas de control de fitopatógenos como *F. oxysporum*.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Universidad Militar Nueva Granada por la financiación. Producto derivado del proyecto INV-CIAS-1471, financiado por la Vicerrectoría de Investigaciones de la UMNG-Vigencia 2014.

BIBLIOGRAFÍA

1. Magnucka, E. G.; Oksińska, M. P. y Lewicka, T. "Resorcinolic lipids in winter wheat grains and roots". *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities*, vol. 17, no. 3, 2014, ISSN 1505-0297, [Consultado: 27 de junio de 2016], Disponible en: <<http://www.ejpau.media.pl/volume17/issue3/art-12.html>>.
2. Kozubek, A. y Tyman, J. H. P. "Bioactive phenolic lipids" [en línea]. En: ed. Atta-ur-Rahman, *Bioactive natural products (Part K)*, (ser. Studies in natural products chemistry, no. ser. 30), Ed. Elsevier, Amsterdam, 2005, pp. 111-190, ISBN 978-0-444-51854-5, OCLC: 835846511, [Consultado: 27 de junio de 2016], Disponible en: <<http://www.gbv.de/dms/bs/toc/48254936x.pdf>>.
3. Menzel, C.; Kamal, E. A.; Marklund, M.; Andersson, A.; Åman, P. y Landberg, R. "Alkylresorcinols in Swedish cereal food products". *Journal of Food Composition and Analysis*, vol. 28, no. 2, diciembre de 2012, pp. 119-125, ISSN 0889-1575, DOI 10.1016/j.jfca.2012.08.006.
4. Bartłomiej, S.; Justyna, R. K. y Ewa, N. "Bioactive compounds in cereal grains – occurrence, structure, technological significance and nutritional benefits – a review". *Food Science and Technology International*, vol. 18, no. 6, 1 de diciembre de 2012, pp. 559-568, ISSN 1082-0132, 1532-1738, DOI 10.1177/1082013211433079, PMID: 23064524.
5. Dean, R.; van Kan, J. A. L.; Pretorius, Z. A.; Hammond, K. E.; Di Pietro, A.; Spanu, P. D.; Rudd, J. J.; Dickman, M.; Kahmann, R.; Ellis, J. y Foster, G. D. "The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology". *Molecular Plant Pathology*, vol. 13, no. 4, 1 de mayo de 2012, pp. 414-430, ISSN 1364-3703, DOI 10.1111/j.1364-3703.2011.00783.x.
6. Ciccoritti, R.; Pasquini, M.; Sgrulletta, D. y Nocente, F. "Effect of 5-n-Alkylresorcinol Extracts from Durum Wheat Whole Grain on the Growth of *Fusarium* Head Blight (FHB) Causal Agents". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 63, no. 1, 14 de enero de 2015, pp. 43-50, ISSN 0021-8561, DOI 10.1021/jf5054518.
7. Zarnowski, R.; Kozubek, A. y Pietr, S. "Effect of rye 5-n-alkylresorcinols on *in vitro* growth of phytopathogenic *Fusarium* and *Rhizoctonia* fungi". *Bulletin of the Polish Academy of Sciences. Biological Sciences*, vol. 47, no. 2-4, 1999, pp. 231-235, ISSN 0239-751X.
8. Rios, D. K.; Britto, R. y Delgado, H. "Evaluación del rendimiento y sus componentes en genotipos de cebada (*Hordeum vulgare* L.) diferenciados por su tipo de espiga y grano". *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, vol. 14, no. 2, diciembre de 2011, pp. 55-63, ISSN 0123-4226.
9. Sampietro, D. A.; Jimenez, C. M.; Belizán, M. M.; Vattuone, M. A. y Catalán, C. A. N. "Development and validation of a micromethod for fast quantification of 5-n-Alkylresorcinols in grains and whole grain products". *Food Chemistry*, vol. 141, no. 4, diciembre de 2013, pp. 3546-3551, ISSN 03088146, DOI 10.1016/j.foodchem.2013.06.069.
10. Ochoa, F. Y. M.; Cerna, C. E.; Landeros, F. J.; Hernández, C. S. y Delgado, O. J. C. "Evaluación *in vitro* de la actividad antifúngica de cuatro extractos vegetales metanólicos para el control de tres especies de *Fusarium* spp.". *Phyton*, vol. 81, no. 1, 2012, pp. 69-73, ISSN 1851-5657.
11. Tukey, J. W. "Bias and confidence in not quite large samples". *The Annals of Mathematical Statistics*, vol. 29, no. 2, junio de 1958, pp. 614-623, ISSN 0003-4851, DOI 10.1214/aoms/1177706647.
12. R Core Team. *Programa R* [en línea]. versión 3.2.5, Ed. R Foundation, 2016, US, Disponible en: <<https://www.r-project.org/>>.
13. GraphPad Software Inc. *GraphPad Prism* [en línea]. versión 5.0, Ed. GraphPad Software Inc., 2007, US, Disponible en: <<http://www.graphpad.com/>>.
14. Zarnowski, R. y Suzuki, Y. "5-n-Alkylresorcinols from grains of winter barley (*Hordeum vulgare* L.)". *Journal of Biosciences*, vol. 59, no. 5-6, junio de 2004, pp. 315-317, ISSN 0939-5075, PMID: 18998392.
15. Stasiuk, M. y Kozubek, A. "Biological activity of phenolic lipids". *Cellular and Molecular Life Sciences*, vol. 67, no. 6, marzo de 2010, pp. 841-860, ISSN 1420-682X, 1420-9071, DOI 10.1007/s00018-009-0193-1.
16. Gani, A.; Wani, S. M. y Masoodi, F. A. "Whole-Grain Cereal Bioactive Compounds and Their Health Benefits: A Review". *Journal of Food Processing & Technology*, vol. 3, no. 3, 2012, ISSN 2157-7110, DOI 10.4172/2157-7110.1000146, [Consultado: 27 de junio de 2016], Disponible en: <<http://www.omicsonline.org/2157-7110/2157-7110-3-146.digital/2157-7110-3-146.html>>.
17. Reiss, J. "Influence of alkylresorcinols from rye and related compounds on the growth of food-borne molds". *Cereal Chemistry*, vol. 66, no. 6, 1989, pp. 491-493, ISSN 0009-0352.

18. Tahir, I. I.; Ahmadi-Afzadi, M.; Nybom, H. y Dey, E. S. "Rye Bran Alkylresorcinols Inhibit Growth of *Penicillium expansum* and *Neofabraea perennans* In Vitro and In Vivo on Different Apple Cultivars". *European Journal of Horticultural Science*, vol. 79, no. 4, 2014, pp. 218–225, ISSN 1611-4426, 1611-4434.
19. Dey, E. S.; Ahmadi-Afzadi, M.; Nybom, H. y Tahir, I. "Alkylresorcinols isolated from rye bran by supercritical fluid of carbon dioxide and suspended in a food-grade emulsion show activity against *Penicillium expansum* on apples". *Archives of Phytopathology And Plant Protection*, vol. 46, no. 1, enero de 2013, pp. 105-119, ISSN 0323-5408, 1477-2906, DOI 10.1080/03235408.2012.734719.
20. Karunanayake, K. O. L. C.; Sinniah, G. D.; Adikaram, N. K. B. y Abayasekara, C. L. "Cultivar differences in antifungal activity and the resistance to postharvest anthracnose and stem-end rot in mango (*Mangifera indica* L.)". *Australasian Plant Pathology*, vol. 43, no. 2, marzo de 2014, pp. 151-159, ISSN 0815-3191, 1448-6032, DOI 10.1007/s13313-013-0257-4.
21. Kienzle, S.; Carle, R.; Sruamsiri, P.; Tosta, C. y Neidhart, S. "Occurrence of Alk(en)ylresorcinols in the Fruits of Two Mango (*Mangifera indica* L.) Cultivars during On-Tree Maturation and Postharvest Storage". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 62, no. 1, 8 de enero de 2014, pp. 28-40, ISSN 0021-8561, 1520-5118, DOI 10.1021/jf4028552.

Recibido: 9 de abril de 2015

Aceptado: 29 de febrero de 2016

