

# LAS PROPIEDADES ANTIFÚNGICAS DE LA *GUNNERA TINCTORIA* (NALCA) EN *ASPERGILLUS NIGER* Y *PENICILLIUM SP*

## THE ANTIFUNGAL PROPERTIES OF *GUNNERA TINCTORIA* (NALCA) TOWARDS *ASPERGILLUS NIGER* AND *PENICILLIUM SP*

Martina Morales • Bastián Pacheco  
Profesor Guía: Pablo Rodríguez  
Liceo Mañihuales, Puerto Aysén  
Asesor Científico: Soraya Villagrán  
Evaluador: Alberto González

### Resumen

Se investigó sobre la propiedad antifúngica que posee la nalca, considerando la molestia de la presencia de los mohos en frutas y verduras. Se desea comprobar el efecto de la nalca en el crecimiento de *Aspergillus niger* (moho del tomate) y *Penicillium sp* (moho del limón), debido al crecimiento fúngico en poco tiempo. La pregunta de investigación es: "¿Cuánto tiempo demora el crecimiento de hongos en tomates y limones con y sin la aplicación de un spray en base a un extracto acuoso de nalca?". Se espera que demore más tiempo o no aparezca nunca en limones y tomates con la aplicación de la nalca. Se elaboró un extracto acuoso de nalca por medio de la maceración en agua. Se efectuaron varias pruebas y comparaciones, tanto para determinar el tiempo de crecimiento de los hongos, como el efecto del extracto en distintas concentraciones. Los Resultados indican que evita el crecimiento de *Aspergillus niger* y *Penicillium sp*, dependiendo de la concentración y la calidad de la nalca que contiene. Con la cantidad adecuada evita el crecimiento total de hongo. Se puede determinar que la nalca es un potencial antifúngico que retrasa y/o evita el crecimiento de los hongos en tomates y limones.

**Palabras claves:** Propiedad antifúngica; Nalca; Moho del tomate; Moho del limón

### Abstract

In the present work, the antifungic activity of nalca aqueous extracts was tested, due to the fastidious presence of molds in fruits and vegetables. The target fungi will be *Aspergillus niger* (tomato mold) and *Penicillium sp* (lemon mold). These fungi were selected for its growth in short time. The research question is: How long will take mold apparition in tomatoes and lemons with or without the application of an aqueous nalca extract?. The expected effect of nalca extract will be a delay or a suppression in mold growth. An aqueous extract from nalca was prepared by means of maceration. Several tests determined the fungi growth time as well as the dose – response relationship. Nalca aqueous extract inhibit *A. niger* and *Penicillium sp* growth, depending on the concentration and quality of nalca. Nalca is a promising antifungal bioproduct, which delay and/or suppress mold growth in tomatoes and lemons.

**Keywords:** Antifungal property; Nalca; Tomato mold; Lemon mold

El Proyecto participó en:

- \* XIII Congreso Regional de las Ciencias y Tecnología Explora de CONICYT Región de Aysén 2018 (1<sup>er</sup> Lugar Enseñanza Básica)
- \* XIX Congreso Nacional de las Ciencias y Tecnología Explora de CONICYT Región Bio-Bio 2018



# Introducción

En la región de Aysén, considerando los altos índices de humedad de la zona, existe la presencia de grandes cantidades de nalcas o pangues. Es habitual visualizarla a la orilla de los caminos de la carretera austral, en coexistencia con musgos, helechos y otras especies cercanas a ríos o cascadas. En la localidad de Villa Mañihuales, ubicada en la carretera austral norte a 60 km de Puerto Aysén, se encuentra una marcada presencia la planta de la nalca, conocida científicamente como *Gunnera tinctoria*, nombre de la especie de nalca más abundante en la zona sur de Chile.

Debido a la observación de nalcas alrededor de los caminos, se generan las primeras preguntas, ya que suelen estar presente la mayor parte del año y su tallo es consumido abundantemente. Bajo este contexto, existen personas que mencionan efectos curativos de la nalca y otros usos conocidos por ellos. De acuerdo a lo descrito por Besoain (2016) se elaboran subproductos de la nalca como jugos, ensaladas y mermeladas. Se determina que es un producto utilizado con habitualidad, lo que genera el interés de investigar sus propiedades.

Dentro de las primeras propiedades investigadas de la nalca, aparece la acción antioxidante. En la investigación llevaba a cabo por Castro y Baeza (2009) se determinó y comprobó la capacidad antioxidante de la nalca. Además, esta investigación indica que las personas utilizan la nalca como antidiarreico, ya que en el tallo existe presencia de hidratos de carbono y taninos, siendo uno de estos el factor de su consumo.

Basado en los conocimientos adquiridos y a los beneficios que posee la nalca, se investigan más caracte-

rísticas que presenta la planta mencionada. Debido a la investigación de Montecinos (2014) se comprueba que la nalca posee la propiedad antibacterial al generar un efecto inhibitorio en el desarrollo de *Helicobacter pylori* j99 y *Escherichia coli* cuando son aisladas agregando un extracto de nalca.

Finalmente, en la investigación de Zamorano *et al.* (2018) posterior a un análisis químico de la nalca, se determinó la cantidad de polifenoles totales, cuyo valor fue  $7291.1 \pm 224$  mg GAE/100 g BS, lo cual es un llamado de atención considerando que frutos conocidos por su gran capacidad antioxidante presentan menores cantidad de polifenoles. El calafate (*Berberis microphylla*) presenta 6553 mg GAE/100 g BS investigado por Ramirez *et al.* (2015) y el maqui (*Aristotelia chilensis*) presenta 4900 mg GAE/100 g BS investigado por Genshowsky *et al.* (2016). Por consiguiente, Zamorano *et al.* (2018) asocia el efecto antifúngico al contenido de polifenoles totales, ya que estos compuestos pueden atravesar la membrana celular de hongos y bacterias comprometiendo la viabilidad de estos. Además, indica que la nalca tiene un efecto fungicida, capaz de eliminar a los hongos.

Por medio de la información recopilada, se inicia esta experiencia para comprobar el efecto antifúngico de forma macroscópica en frutas y/o verduras de uso común. Esto implica observar el efecto de la nalca en los frutos en un periodo determinado de tiempo, entre 15 a 40 días, considerando el tiempo de crecimiento de hongos en condiciones normales de presión y temperatura. Para así visualizar cambios o conservación que tengan las especies analizadas.



Se decide trabajar con dos frutos utilizados con frecuencia en nuestras vidas cotidianas, el tomate (*Solanum lycopersicum*) y el limón (*Citrus x limon*), debido a que se conoce y es posible observar la aparición temprana de mohos en estos frutos, el *Aspergillus niger* (moho del tomate) y el *Penicillium* sp (moho del limón)

Se requiere realizar una secuencia adecuada para la comprobación de la actividad antifúngica de la nalca en *A. niger* y *Penicillium*. Para esto, se preparará un extracto acuoso, por medio de maceración en agua, para que impida o retrase el crecimiento de hongos. Debido a la propiedad antifúngica presente en la nalca que es atribuido a la cantidad de polifenoles que posee (Perez *et al.*, 2008). La elaboración de un antifúngico natural por medio de un extracto acuoso de nalca entrega la siguiente pregunta de investigación, ¿Cuánto tiempo demora el crecimiento de hongos en tomates y limones con y sin la aplicación de un spray en base a un extracto acuoso de nalca? De tener una respuesta positiva, se entregará la información a la comunidad para que puedan utilizar el antifúngico en sus huertas o en los mismos frutos, obteniendo así un rango más amplio de testeo del producto preparado, logrando una proyección del trabajo. Mientras tanto, patentar el producto elaborado como un antifúngico natural de Villa Mañihuales. Por otro lado, lograr traspasar y reproducir la información en diferentes medios de difusión.

## Hipótesis

El spray en base a un extracto acuoso de nalca (*Gunnera tinctoria*) actúa como inhibidor o retardante en el crecimiento de hongos en limones y tomates en condiciones normales.

## Objetivo general

Comprobar las propiedades antifúngicas de la nalca (*Gunnera tinctoria*) impidiendo o retardando el crecimiento de hongos como *Aspergillus niger* y *Penicillium* sp, presentes en tomates y limones respectivamente, en condiciones normales.

## Objetivos específicos

- Elaborar un producto spray en base a un extracto acuoso de nalca por medio de una maceración en agua.
- Describir el efecto antifúngico presente en la nalca considerando distintos periodos de extracción de la planta.

- Evaluar el efecto antifúngico de la nalca en frutas, como el tomate y el limón, donde crecen hongos en condiciones normales.

## Metodología

### 1) Muestreo de Nalcas

Para comenzar con el análisis de las propiedades antifúngicas de la nalca se efectuaron dos periodos de extracciones, la primera el 9 de agosto del 2018, al tratarse del periodo de invierno, es complejo encontrar nalca en condiciones óptimas, ya que se encuentra muerta y vuelve a crecer a finales de agosto. No obstante, se extrajo nalca en este estado, con las siguientes características, hojas secas, tallos húmedos, color. Se aprecia un color café claro sin presencia de hongos. La segunda extracción fue el 4 de septiembre del 2018, extrayendo una nalca juvenil (en crecimiento), con un color verde oscuro en las hojas, con tallos muy cortos y de color verde amarillento.

Para analizar visualmente las diferentes extracciones de nalca y separarlas en distintas partes, se realizaron fotografías en cámara y microscopios. Para las fotografías en microscopio se utilizó un microscopio digital USB marca Microlab. Posteriormente, las muestras se dejaron guardadas en bolsas herméticas transparentes, en donde se mantuvieron por todo el periodo de evaluación.

Dentro de las distintas muestras, se organizó una forma para clasificarlas, considerando sus partes como hoja, tallo y raíz, y su edad separándola en "nalca senescente" y "nalca juvenil" para su observación microscópica. Se realiza una observación del cambio que tiene la nalca en distintas condiciones, al estar segmentada en una placa Petri con presencia de agua y en otra sin ella, en condiciones normales de presión y temperatura (en el laboratorio se considera unos 15°C aproximado).

### 2) Infección de tomates con el hongo

Por otra parte, se estimuló el crecimiento de hongos. Para esto, se utilizó un tomate y se fragmentó en varias partes. Se realizaron diversas pruebas colocando un trozo de tomate seco, un trozo de tomate en agua, un trozo de tomate con nalca en seco y un trozo de tomate con nalca en agua. Estos tomates se observan y se analizan cada 2 días. Al encontrar presencia de un hongo, se combina un trozo de tallo de nalca juvenil con un trozo del tomate infectado, de esta forma se genera dos nuevas muestras; la primera solo el tallo de la nalca juvenil y la segunda el tallo de nalca con el



trozo de tomate con hongos. Se observa lo ocurrido desde este momento. Nuevamente, se realizan observaciones cada 2 días por un periodo de dos semanas. Mientras tanto, se sigue observando los otros tomates hasta completar un periodo de 1 mes dentro de la placa Petri.

### 3) Elaboración de macerado de nalca en agua

Para comprobar el efecto antifúngico que posee la nalca se realiza una maceración en agua para lograr la extracción de sus principios activos. Se realizan dos macerados de nalca utilizando sus tallos combinados con pequeños trozos de hoja, tanto de la nalca senescente como la nalca juvenil, en dos vasos precipitados de 250 mL. Para el procedimiento se utilizó 100 g de nalca y se enrasó hasta 250 mL con agua destilada. Estos fueron dejados en reposo durante una semana, luego el líquido es filtrado en un recipiente con atomizador.

### 4) Tratamiento de limones y tomates con el extracto acuoso de nalca

Para evidenciar la acción antifúngica de forma observable en limones y tomates, se efectúa una experiencia que contiene 4 vasos precipitados de 100 mL para el limón y 4 vasos precipitados de la misma medida para el tomate. Se realiza la siguiente secuencia:

#### a) Para el Limón

- Vaso pp.1: Control (trozo de limón con base empapada en agua)
- Vaso pp.2: Trozo de limón rociado con extracto de nalca senescente
- Vaso pp.3: Trozo de limón rociado con extracto de nalca juvenil
- Vaso pp.4: Trozo de limón rociado con extracto de nalca juvenil cada dos días.

#### b) Para el Tomate

- Vaso pp.1: Control (trozo de tomate con base empapada en agua)
- Vaso pp.2: Trozo de tomate rociado con extracto de nalca senescente
- Vaso pp.3: Trozo de tomate rociado con extracto de nalca juvenil

- Vaso pp.4: Trozo de tomate rociado con extracto de nalca juvenil cada dos días.

Es importante destacar, que cada trozo de limón y tomate pertenecen al mismo fruto y son cortados en tamaños similares. Se realiza una observación diaria, sacando fotografías con alta resolución (16:9, 18 MP, 5664x3184) por medio de cámara fotográfica del teléfono celular Samsung Galaxy J7 Pro y una cámara digital microscópica USB microlab para poder ver detalles del crecimiento fúngico en alguna parte en específico del tomate y del limón. La observación se realiza en un periodo de 18 días. Además, se realizan dos repeticiones en distintos lugares; uno en el laboratorio del Liceo Mañihuales, a una temperatura aproximada de 15°C y otra en la casa de uno de los integrantes del grupo en donde la temperatura ambiente es de 22°C.

### 5) Efecto de la concentración del extracto de nalca en el crecimiento de hongos

Para determinar el efecto de la concentración del extracto acuoso de nalca en el crecimiento de los hongos del tomate (*A. niger*), se efectúa una última prueba. En tres vasos precipitados de 250 mL se agregan tres trozos del mismo tomate, en distintas disoluciones:

- a) Trozo de tomate con agua destilada
- b) Trozo de tomate con extracto acuoso de nalca diluido en agua
- c) Trozo de tomate con extracto acuoso de nalca concentrado

La principal diferencia que posee el extracto acuoso de nalca diluido del concentrado es la cantidad de agua utilizada para su preparación. El extracto acuoso de nalca diluido fue macerado y luego al ser filtrado se enrasó hasta llegar a los 250 mL con agua destilada. Por otro lado, el extracto acuoso concentrado fue sacado directamente del macerado sin agregar más agua. Esta prueba se realiza en un periodo de 12 días, para comprobar si el crecimiento de hongos es afectado por la concentración del extracto acuoso de nalca preparado.

## Resultados y Analisis

Por medio de fotografías microscópicas, como se aprecia en la Figura N° 1, se observan las siguientes diferencias entre la nalca senescente (invierno 2018) y nalca juvenil (primavera 2018).





(A) Hoja de Nalca senescente extraído en invierno 2018



(B) Tallo de nalca senescente extraído en invierno 2018



(C) Raíz de nalca senescente extraído en invierno 2018



(D) Hoja de nalca juvenil extraído en primavera 2018



(E) Tallo de nalca juvenil extraído en primavera 2018



(F) Raíz de nalca juvenil extraído en primavera 2018

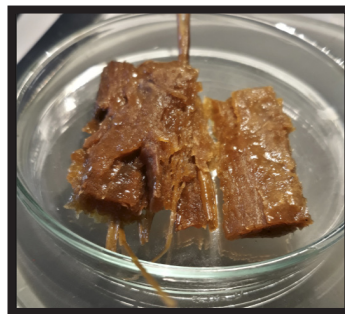
Figura N° 1. Fotografías microscópicas de nalca senescente y juvenil de sus hojas, tallos y raíz.

Por otro lado, se realizaron fotografías macroscópicas de los diversos trozos de nalca senescente. Se considera un trozo de hoja, un trozo de tallo en seco y otro

empapado en agua. Esta observación se realiza durante 39 días, como se puede apreciar en la Figura N° 2:



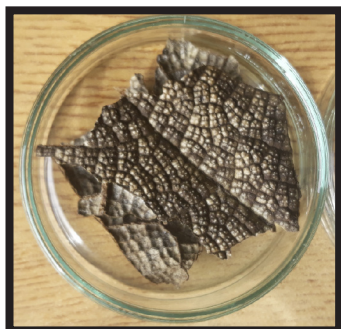
(A) Trozo de hoja de nalca senescente en placa Petri



(B) Trozo de tallo de nalca senescente en placa Petri



(C) Trozo de tallo de nalca senescente empapado en agua en placa Petri



(D) Trozo de hoja de nalca senescente en placa Petri luego de 39 días de observación



(E) Trozo de tallo de nalca senescente en placa Petri luego de 39 días de observación



(F) Trozo de tallo de nalca senescente empapado en agua en placa Petri luego de 39 días de observación

Figura N° 2. Fotografías macroscópicas de trozos nalca senescente, hoja y tallo, en un proceso de observación de 39 días.



Según las fotografías analizadas, se observan características variadas en cuanto a coloración. La hoja de la nalca senescente en la Figura N° 1A se aprecia con un color café oscuro en su coloración, con una notoria sequedad y quebradiza al tacto. El tallo y la raíz observada en las Figuras 1B y 1C respectivamente, poseen un color café claro, sin el olor característico de la nalca, bastante húmeda y saturada en agua. Por otro lado, la nalca juvenil presenta un color verde oscuro en su hoja, observada en la Figura N° 1D, sin quebrarse al tacto y áspera. El tallo presenta un color rojizo amarillento y un color café claro, tiene un grado de hidratación normal sin exceso de agua. La raíz observada en la Figura N° 1F, es de un color café claro, pero más oscuro que el tallo observado en la Figura N° 1E. La nalca juvenil, considerando hoja y tallo, presenta el olor característico con una textura áspera y elástica.

La nalca tiene la capacidad de estar presente todo el año, en distintas condiciones, pero en ningún caso presentan hongos, no son atacadas por agentes microbianos ni fúngicos, según lo descrito por Zamorano *et al.* (2018). En el caso de las nalcas examinadas se presenta en condiciones adecuadas.

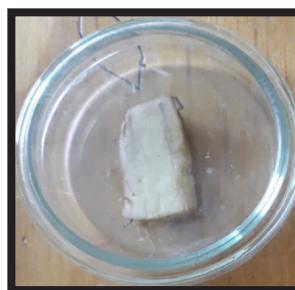
Para observar la duración de la nalca sin infectarse con hongos, se trozaron partes de la nalca senescente en placas Petri, como se aprecia en la Figura N° 2. Estas fueron observadas durante 39 días, en donde, el trozo de la hoja de nalca no presentó ningún cambio ni la aparición de hongos. Se observa lo indicado al comparar la Figura N° 2A con Figura 2D. El trozo de tallo de la nalca en el periodo observado se secó completamente manteniendo su aspecto libre de hongos u otros microorganismos. Finalmente, el trozo de tallo de la nalca en agua quedó exactamente igual a como se visualizaba inicialmente.

Posteriormente, se dejó un trozo de tomate en una placa Petri para que sea infectado por hongos, se observó por un periodo de dos semanas creciendo favorablemente. El resultado se observa en la Figura N° 3.

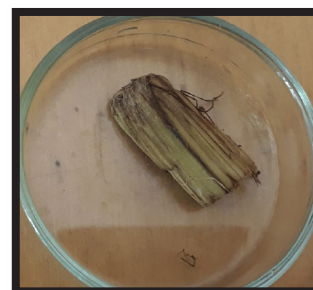


Figura N° 3. Trozo de tomate con hongos luego de dos semanas en una placa Petri a temperatura ambiente.

Luego se realizó una extracción del trozo de tomate con hongos y se combinó con un trozo de tallo de nalca juvenil, como podemos observar en la Figura N° 5, comparándolo con otro trozo de nalca (Figura N° 4), cada uno en una placa Petri. Esto fue examinado durante un periodo de 20 días. Se observó que el trozo de nalca hizo desaparecer el hongo presente en el trozo de tomate. El trozo de nalca se oscureció, pero no presenta actividad fúngica. En solo 6 días se pudo determinar lo descrito, manteniéndose de igual forma hasta el final de la observación como se aprecia en las Figuras N° 5B, 5C y 5D. Esto nos demuestra a grandes rasgos, la acción fungicida presente en la nalca, considerando que eliminó la pequeña cantidad de hongos presentes en el extracto de tomate introducido.



(A) Trozo de tallo de nalca al inicio de la experimentación



(B) Trozo de tallo de nalca después de 6 días de observación



(C) Trozo de tallo de nalca después de 8 días de observación



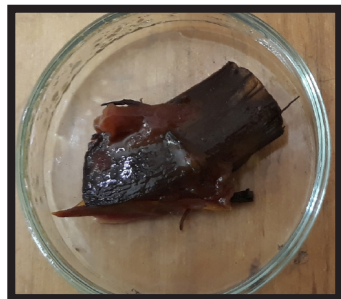
(D) Trozo de tallo de nalca después de 20 días de observación

Figura N° 4. Trozos de tallo de nalca juvenil en placa Petri para ser observada durante 20 días.





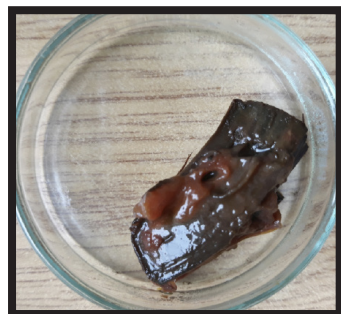
(A) Trozo de tallo de nalca combinado con tomate infectado de hongos al inicio de la experimentación



(B) Trozo de tallo de nalca con tomate infectado después de 6 días.



(C) Trozo de tallo de nalca después de 8 días de observación



(D) Trozo de tallo de nalca con tomate infectado después de 20 días de observación

Figura N° 5. Trozo de tallo de nalca juvenil combinado con trozos de tomate infectados previamente con podredumbre blanca en una placa Petri para ser observada durante 20 días.

Para la elaboración del extracto acuoso de nalca cada maceración se concretó en 7 días. El resultado muestra un líquido de color café, con aroma característico de la nalca. Luego este extracto acuoso fue depositado en un recipiente con atomizador para que pueda ser utilizado como spray.

El resultado del experimento en trozos de tomates y limones presentó las siguientes características:

### 1) Tomates



(A) Vaso pp.1: Control (trozo de tomate con base empapada en agua)



(B) Vaso pp.2: Trozo de tomate rociado con extracto de nalca senescente



(C) Vaso pp.3: Trozo de tomate rociado con extracto de nalca juvenil



(D) Vaso pp.4: Trozo de tomate rociado con extracto de nalca juvenil cada dos días.

Figura N° 6. Trozos de tomate introducidos en vasos precipitados de 100 mL para ser tratados con el extracto acuoso de nalca senescente y juvenil. Periodo inicial de la observación.

El periodo de observación y aplicación del spray (para el caso de la Figura N° 6D) fue de 18 de días.

La Figura N° 6A es la muestra control. En 6 días se logra observar hongos, y claramente se trata del *A. niger* observado por sus características macroscópicas. Básicamente, este es el tiempo que demora en crecer este hongo en un tomate que se encuentra cortado y



al ambiente. Las Figuras N° 7A y 8A nos demuestra el crecimiento del hongo en los 18 días.

La Figura N° 6B es la muestra que fue rociada con el extracto de la nalca senescente. En un periodo de 7 días, se visualiza una pequeña colonia de *A. niger* pero en desarrollo, que no ocupa todos los espacios del trozo del tomate interior. En 8 días se visualiza la presencia de la podredumbre blanca, que sería básicamente el comienzo de la descomposición del tomate. Se observa el desarrollo de *A. niger* solo hasta concretado los 18 días de observación, como se puede visualizar en las Figuras N° 7B y 8B

La Figura N° 6C es la muestra que fue rociada con el extracto de nalca juvenil. Se observa que existe presencia del efecto antifúngico de la nalca en relación a la muestra anterior, evitando que, por un periodo prolongado de tiempo, no crezcan hongos. En 18 días

recién se encuentra una pequeña y reducida presencia de *A. niger*, como se puede observar en las Figuras N° 7C y 8C. Por otro lado, la podredumbre blanca se presenta de forma retrasada a los otros trozos de tomates mencionados anteriormente, apareciendo al cabo de 8 días.

La Figura N° 6D, muestra el trozo de tomate que es aplicado con el spray de forma excesiva cada 2 días. En este caso, lamentablemente, se genera un efecto adverso, ya que el trozo de tomate es sometido a una condición de humedad, con gran presencia de agua en un espacio muy reducido, en donde el trozo de tomate choca continuamente con las paredes del recipiente haciendo inevitable la aparición de hongos, aunque de igual forma sigue siendo menor que la muestra control, como se observa en las Figuras N° 7D y 8D. Al cabo de 8 días se observan las primeras colonias de *A. niger*.



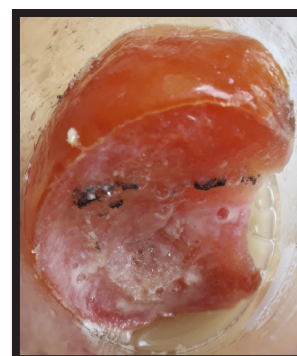
(A) Trozo de tomate infectado por *A. Niger* después de 18 días de observación



(B) Trozo de tomate en tratamiento con extracto acuoso de nalca senescente luego de 18 días de observación



(C) Trozo de tomate en tratamiento con extracto acuoso de nalca juvenil luego de 18 días de observación



(D) Trozo de tomate en tratamiento con extracto acuoso de nalca juvenil, aplicado de forma continua cada 2 días, luego de 18 días de observación

Figura N° 7. Trozos de tomate introducidos en vasos precipitados de 100 mL luego del tratamiento con el extracto acuoso de nalca 18 días de iniciado el experimento.



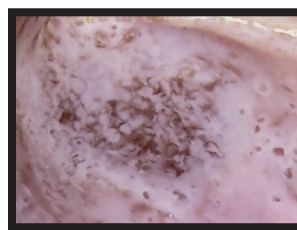
(A) Imagen microscópica del trozo de tomate infectado por *A. Niger* después de 18 días de observación



(B) Imagen microscópica del trozo de tomate en tratamiento con extracto acuoso de nalca senescente luego de 18 días de observación



(C) Imagen microscópica del trozo de tomate en tratamiento con extracto acuoso de nalca juvenil luego de 18 días de observación



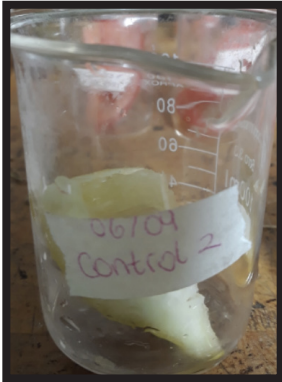
(D) Imagen microscópica del trozo de tomate en tratamiento con extracto acuoso de nalca juvenil, aplicado de forma continua cada 2 días, luego de 18 días de observación

Figura N° 8. Imágenes microscópica de los trozos de tomate introducidos en vasos precipitados de 100 mL luego del tratamiento con el extracto acuoso de nalca 18 días de iniciado el experimento.

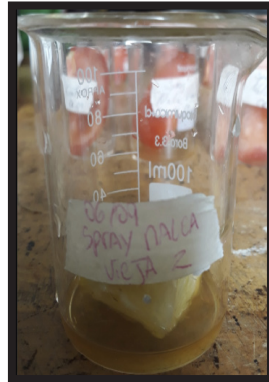




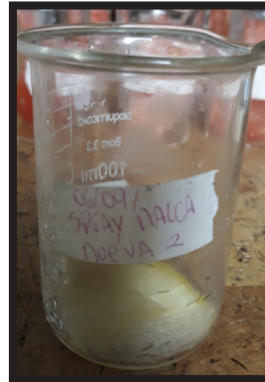
## 2) Limones



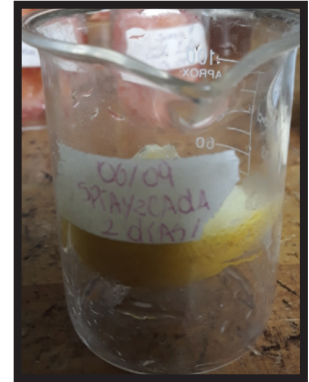
(A) Vaso pp.1: Control (trozo de limón con base empapada en agua)



(B) Vaso pp.2: Trozo de limón rociado con extracto de nalca senescente



(C) Vaso pp.3: Trozo de limón rociado con extracto de nalca juvenil



(D) Vaso pp.4: Trozo de limón rociado con extracto de nalca juvenil cada dos días.

Figura N° 9. Trozos de limón introducidos en vasos precipitados de 100 mL para ser tratados con el extracto acuoso de nalca senescente y juvenil. Periodo inicial de la observación.

El periodo de observación y aplicación del spray, para el caso de la Figura N° 9D, fue de 18 de días.

La Figura N° 9A es la muestra control. Se observa el crecimiento de *Penicillium* en un periodo de 8 días, aunque el desarrollo del hongo demora más días en comparación al *A. niger* en tomates. Esto se debe a la acidez del limón, por lo que para observar el desarrollo del hongo se requieren más días en comparación al tomate. En las Figuras N° 10A y 11A se observa el crecimiento del hongo luego de 18 días. Se observa un cambio de color, una textura más áspera y se distingue de forma macro y microscópica la presencia del *Penicillium*.

La Figura N° 9B presenta la muestra que fue rociada con el extracto de la nalca senescente. El trozo de limón no se ve afectado por agentes fúngicos hasta concluido la observación luego de 18 días, como queda visualizado en las Figuras N° 10B y 11B. Se observa de forma similar a lo expresado en la Figura N° 9A, pero en menor cantidad de hongos en el trozo de limón.

La Figura N° 9C presenta la muestra que fue rociada con el extracto de nalca juvenil. Se observa el crecimiento de hongos en las esquinas del trozo de limón, no se observa una decoloración de limón y menos afecta su aspecto físico. En 18 días recién se encuentra una pequeña y reducida presencia de *Penicillium*, como podemos visualizar en las Figuras N° 10C y 11C. Además, en la Figura N° 11C podemos ver que la superficie del limón mantiene su color amarillento característico.

La Figura N° 9D, muestra el trozo de limón que es aplicado con el spray de forma excesiva cada 2 días. Se observan hongos, al cabo de 8 días, pero en menor cantidad que en la muestra control (Figura N° 10A). Al igual que en el caso del tomate, el efecto no es el esperado, considerando la gran presencia del extracto acuoso y un espacio reducido que facilita el crecimiento fúngico. Además, la concentración de hongos en el periodo de 18 días fue mayor a lo observado en el mismo caso del tomate.



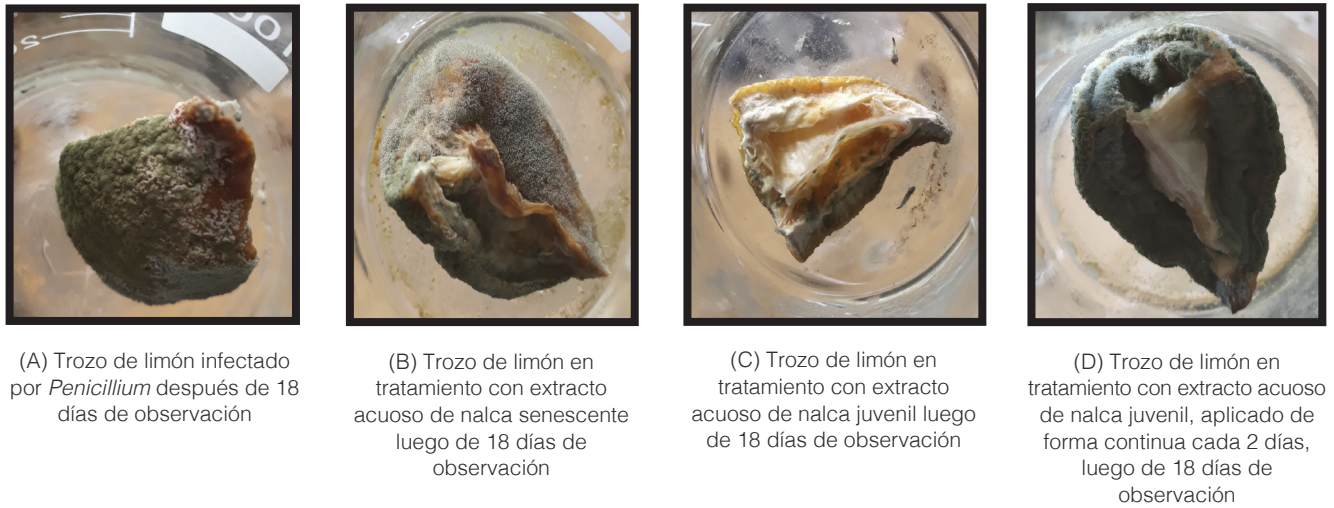


Figura N° 10. Trozos de limón introducidos en vasos precipitados de 100 mL luego del tratamiento con el extracto acuoso de nalca 18 días de iniciado el experimento.

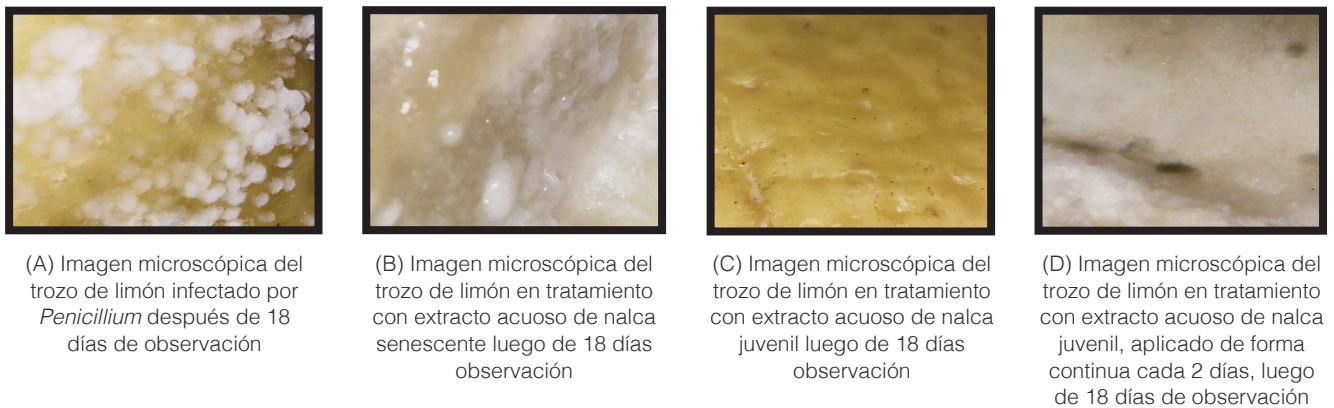
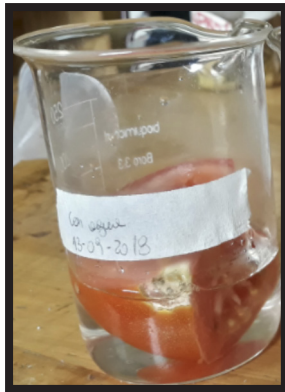


Figura N° 11. Imágenes microscópica de los trozos de limón introducidos en vasos precipitados de 100 mL luego del tratamiento con el extracto acuoso de nalca 18 días de iniciado el experimento.

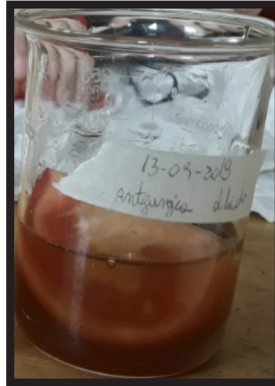
Por otro lado, se realiza el efecto de la concentración del extracto de nalca en el crecimiento de hongos, en donde las nalcas son sometidas a distintas disoluciones. Esta prueba se efectuó basado en el resultado anterior, en donde se aplicó spray cada dos días obteniendo un efecto contrario al esperado. Esta prueba nos mostró el crecimiento fúngico solo en agua. Las Figuras N° 12A y 13A muestran el crecimiento de *A. niger*, en 12 días de evaluación, considerando que en la mitad de este proceso ya presentaba el hongo. Las Figuras N° 13B y 13C, muestran el tomate sumergido en el extracto acuoso de nalca diluido y concentrado, respectivamente.

En ellas observamos que no existe presencia de hongos incluso concluido los 12 días de observación. Bajo estas condiciones, el extracto acuoso de nalca juvenil previene el crecimiento de hongos. Este resultado se puede asociar a la gran cantidad de polifenoles, según lo descrito por Zamorano *et al.* (2018), ya que nos indica que la nalca posee gran cantidad de estos compuestos orgánicos. Al realizar la extracción acuosa de la nalca las propiedades se mantienen como fue comprobado en esta experiencia, tanto al ser rociados como diluidos completamente.

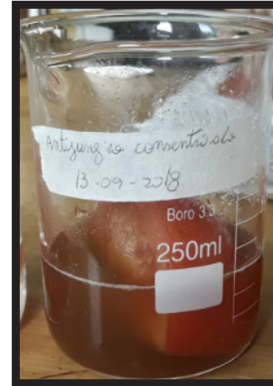




(A) Trozo de tomate sumergido en agua destilada.



(B) Trozo de tomate sumergido en extracto acuoso de nalca juvenil combinado con agua.



(C) Trozo de tomate sumergido en extracto acuoso de nalca juvenil.

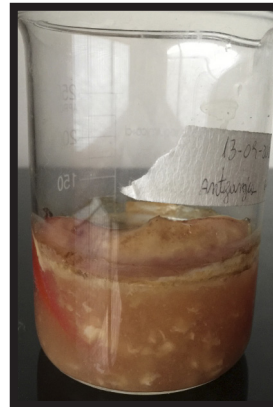
Figura N° 12. Trozos de tomate sumergidos en distintas composiciones líquidas en un vaso precipitado de 250 mL



(A) Trozo de tomate sumergido en agua destilada luego de 12 días de observación.



(B) Trozo de tomate sumergido en extracto acuoso de nalca juvenil combinado con agua luego de 12 días de observación



(C) Trozo de tomate sumergido en extracto acuoso de nalca juvenil luego de 12 días de observación.

Figura N° 13. Trozos de tomates sumergidos en distintas composiciones líquidas en un vaso precipitado de 250 mL luego de 12 de observación.



## Conclusiones

Con el resultado de esta investigación se logró comprobar el efecto antifúngico que posee la *Gunnera tinctoria* en ciertos frutos, como los tomates y limones analizados experimentalmente. Se obtiene un mejor resultado observable en tomates, resistiendo el ataque fúngico en un periodo de tiempo mayor que el tomate sometido a condiciones normales. En 8 días, un tomate alberga una cantidad notable de *A. niger* y al realizar una aplicación del spray con extracto acuoso de nalca, en la misma cantidad de días, no presenta ningún rastro de este hongo. Para el caso del limón, también evita la aparición del *Penicillium* en la misma cantidad de días, pero no es tan efectivo, por las características propias que posee el limón. En síntesis, la acción antifúngica que realiza la nalca en tomates y limones es efectiva y se podría utilizar como un producto que ayude al beneficio en el mantenimiento de las frutas, en invernaderos o en plantaciones, ya que retrasaría, o en algunos casos, evitaría el crecimiento de los hongos. La hipótesis de trabajo queda en manifiesto, ya que el extracto acuoso de nalca atrasa o inhibe el crecimiento fúngico, demostrado en los tomates y limones analizados. El desarrollo de esta experiencia da la posibilidad de procesar y realizar otras investigaciones relacionadas. El extracto acuoso de nalca puede ser extraído por métodos más complejos que entreguen una mayor cantidad de principios activos, logrando un producto de mejor calidad con la comprobación adecuada. Por otra parte, se puede realizar un análisis más exhaustivo, considerando una observación más seguida, con el registro fotográfico correspondiente, ya que hubo días donde no se realizaron observaciones. A partir de esta información se puede obtener el tiempo exacto de crecimiento de los hongos en las frutas o verduras que se pretende trabajar. Esto lograría mayor claridad en cuando a la acción fúngica y a la capacidad de la nalca para evitar el crecimiento de hongos. Finalmente, luego de refinar el producto, realizando todos los análisis correspondientes, es posible ocuparlo en la vida cotidiana. Para ello se debe entregar ciertas recomendaciones a las personas que pretendan trabajar con este producto. La utilización del spray a base de un extracto acuoso de nalca facilitaría el cultivo, desarrollo y mantenimiento de las frutas y verduras evitando las pérdidas relacionadas.

## Bibliografía

Besoain M. 2016. Nalca alimento y medicina. Revista la casa de Juana, Santiago, Chile.

Castro S, Baeza D. 2009. Investigación fitoquímica y evaluación de la capacidad antioxidante del tallo de *Gunnera tinctoria* (nalca). Congreso Nacional Explora CONICYT, Chile.

Genskowsky E, Puente L, Pérez-Álvarez J, Fernández-López J, Muñoz L, Viuda-Martos M. 2016. Determination of polyphenolic profile, antioxidant activity and antibacterial properties of maqui (*Aristotelia chilensis*) a Chilean blackberry. J Sci Food Agric 96: 4235-4242. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7628>

Montecinos A. 2014. Efecto inhibitor de extractos de nalca sobre la formación de biopelículas de *Helicobacter pylori* y de *Escherichia coli* aisladas de catéteres urinarios y/o infecciones urinarias. Tesis, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Talca, Talca, Chile.

Pérez R, Mitchell S, Solis R. 2008. Psidium guajava: A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. J Ethnopharmacol 117: 1-27. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2008.01.025>

Ramirez J, Zambrano R, Sepulveda B, Kennelly E, Simirgiotis M. 2015. Anthocyanins and antioxidant capacities of six Chilean berries by HPLC-HR-ESI-ToF-MS. Food Chem 176: 105-114. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.12.039>

Zamorano P, Morales M, Rojano B. 2018. Composición química proximal, capacidad antioxidante y actividad antifúngica de peciolo de nalca (*Gunnera tinctoria*). Información Tecnológica 29: 185-194. <https://doi.org/10.4067/s0718-07642018000200185>

