

Determinación de la actividad alelopática de extractos vegetales sobre algunos hongos fitopatógenos del suelo

Mayra Puente Isidró (1), Kathleen Allaert (2), Lidcay Herrera Isla (1), Norma Suárez (1), Sinesio Torres García (1), Carlos Pérez Navarro (1) y Mireya Rodríguez García (1)

(1) Departamento de Agronomía. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas.
(2) Departamento de Producción Vegetal. Facultad de Ciencias Agrícolas y Biológicas Aplicadas. Universidad de Gent, Bélgica

RESUMEN. La alelopatía es una ciencia que cada vez está adquiriendo más protagonismo en el campo de la investigación agraria para la lucha natural contra las plagas (plagas, enfermedades y malas hierbas) y que por la creciente necesidad de aumentar los cultivos y su calidad potencia la búsqueda de sustancias de origen natural que puedan llegar a sustituir o disminuir a los pesticidas sintéticos, sin riesgos para la salud del hombre y el medio ambiente, enmarcado claramente dentro de los criterios de sostenibilidad agraria. Debido a lo anterior se está llevando a cabo un estudio en el Laboratorio de Alelopatía de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Central de Las Villas con la finalidad de determinar el protocolo más adecuado para el trabajo con extractos vegetales y el efecto de su aplicación en microorganismos patógenos de los cultivos en el suelo. El resultado muestra claramente la actividad alelopática de especies como *Polyscia guilfoyley* Bailey (aralia), *Parthenium hysterophorus*, L. (escoba amarga), *Helianthus annuus* L. (girasol), *Bursera graveolens* Triana & Planch (sasafrás), *Muralla paniculata* L. (muralla) y *Trichila glabra* Lin. (ciguaralla) entre otras, sobre el crecimiento y desarrollo de especies de hongos como *Fusarium oxysporum* Slecht. y *Rhizoctonia solani* Kühn entre otros, probados en condiciones de laboratorio.

Palabras clave: Alelopatía, extractos vegetales, hongos fitopatógenos

ABSTRACT. Allelopathy rise more and more protagonism in the field of the agricultural investigations, specially in the control measures against pests, diseases and weeds. For this reason was carried our an study in the Laboratory of allelopathy of the Agricultural Faculty of the Universidad Central of Las Villas, in order to determine the effect of several plant extracts against phytopathogenic soil fungi. The results showed the allelopathic activity of the extract of *Polyscia guilfoyley* Bailey, *Parthenium hysterophorus*, L., *Helianthus annuus* L., *Bursera graveolens* Triana & Planch, *Muralla paniculata* L. and *Trichila glabra* Lin., on the growth and development of *Fusarium solani* Slecht. and *Rhizoctonia solani* Kühn under laboratory conditions.

Key words: Allelopathy, plant extracts, phytopathogenic fungi.

INTRODUCCIÓN

Los aleloquímicos son metabolitos secundarios que se lixivian de las plantas por diferentes vías, alterando las relaciones entre las plantas en la naturaleza, pudiendo ser sus efectos modificados por microorganismos en el suelo. Este mecanismo de interacción entre plantas crea serios problemas en los agroecosistemas pudiendo afectar seriamente el crecimiento y productividad de los cultivos.

Sin embargo, en décadas recientes, la alelopatía ha probado ser una alternativa como método de control de plagas, enfermedades y malezas. La introducción de esta nueva tecnología pudiera reducir las pérdidas causadas en la agricultura, proporcionando protección a los cultivos,

bioproductos menos dañinos y muchos más fácilmente degradables, lo que implica menor contaminación al medio ambiente.

Fusarium oxysporum Slecht. y *Rhizoctonia solani*, Kühn causantes de pudriciones secas, *damping off* y úlceras en tallos y raíces, con frecuencia son causantes de elevadas pérdidas en semilleros y plantaciones, sin embargo, en la literatura no abunda información acerca de la utilización práctica del potencial alelopático de varias especies de plantas que contribuyan a disminuir las pérdidas debido a estos hongos fitopatógenos. De aquí que la presente investigación tenga como objetivo determinar la posible actividad antifúngica de varias especies de plantas contra los patógenos *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Fuente de obtención de los extractos

El material vegetal fue colectado en áreas del campus universitario y llevado al Laboratorio del Grupo de Investigaciones Alelopáticas (GIA) ubicado en el Centro de Investigaciones Agropecuarias (CIAP) de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas. El mismo fue puesto a secar en la estufa a 65 °C durante 72 horas, previamente secado de forma natural y posteriormente molido.

Los extractos fueron preparados siguiendo el método de Pratley *et al.* (1996) modificado por el GIA. La modificación del método consistió en remojar 20 g de la harina obtenida, en lugar de 10 g como plantean los autores, en 10 mL de agua destilada, zarandear la mezcla durante 15 minutos para lograr mejor unión de las partículas, (paso añadido en el método), luego se filtra por una capa de papel de filtro. Posteriormente, al sobrenadante se le añaden 50 mL de agua destilada, agitándose por 15 minutos más y filtrándose, uniéndose posteriormente los dos filtrados y centrifugándose a 3 900 rpm por 15 minutos. Esta solución se considera al 200 % de concentración, quedando diluida al 100 % cuando se le agrega igual volumen de la solución floculante, filtrándose nuevamente por una capa de papel de filtro Watman no. 388 de diámetro 12,5 cm. La solución floculada es filtrada por membranas microporo de 0,2 µm de diámetro con el objetivo de impedir el paso de partículas coloidales de 1 µm de diámetro, tales como las bacterias y con ello la posterior contaminación de los tratamientos.

La floculación es el proceso en el cual las partículas desestabilizadas o formadas por desestabilización son inducidas a formar aglomerados, de esta forma las partículas floculadas no pueden redispersarse separándose del fluido, lo que facilita la clarificación de la suspensión. Antes de la floculación estas partículas se desestabilizaron debido a la necesidad de mantener los extractos a temperaturas por debajo de -20 °C con el propósito de evitar la descomposición de los extractos por

bacterias, lo que provoca en los mismos la coagulación o turbulencia en el fluido (termocoagulación). Tanto la coagulación como la floculación minimizan la desnaturalización de los extractos obtenidos.

La floculación también es un proceso añadido al método de obtención de los extractos, por lo tanto otra modificación al mismo.

Con los extractos finalmente obtenidos se procede a envenenar el medio de cultivo según la dosis a estudiar y donde posteriormente sembraremos un disco de 1 cm de diámetro de las cepas de *Fusarium oxysporum* Slecht. y de *Rhizoctonia solani*, Kühn el que se colocará en el centro de la placa de Petri. Una vez sembrados, los discos se incuban a una temperatura de 29 °C durante 6 días, midiéndose el diámetro de crecimiento del micelio del hongo cada 24 horas. Finalmente se hizo conteo de la esporulación, presencia de macro y microconidios.

Los tratamientos fueron:

Tratamiento 1: Extracto de la planta probada al 50 % de concentración.

Tratamiento 2: Extracto de la planta probada al 100 % de concentración.

Testigo: Medio de cultivo sin adición de extracto.

El número de placas de Petri por tratamiento fue de 5 y el número de extractos probados fue de 11.

En cada placa de Petri se vertió 10 mL del medio envenenado.

Modo de preparación del medio con adición del extracto (envenenamiento)

En Erlenmeyers de 250–500 mL de capacidad, se derriten 3,5 g de agar y se diluyen en 25 mL de agua destilada, dejándose enfriar hasta 70 °C. Se añaden 25 mL del extracto al 50 % en un recipiente y 25 mL del extracto al 100 % en el otro, previamente floculados y filtrados por membrana microporo, por último se mezclan bien y se vierten 10 mL por cada placa de Petri (5 repeticiones).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Prueba preliminar

Los resultados de la prueba de actividad antifúngica de varias especies de plantas como *Polyscia guilfoyley* Bailey (aralia), *Helianthus annuus*, L., (girasol), *Bursera graveolens*, Triana & Planch (sasafrás), *Muralla paniculata*, L. (muralla), *Trichila glabra*, L. (ciguaralla) entre otras especies probadas contra dos patógenos de plantas, el *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani*, mostraron diferencias en la tolerancia de estos patógenos a los extractos de estas plantas. El extracto que mayor actividad inhibitoria presentó de forma general, fue el obtenido de *Polyscia guilfoyley*, Bailey (aralia) y el hongo más afectado *Rhizoctonia solani*. El número de plantas testadas para conocer su actividad biológica es el que se relaciona en la tabla siguiente:

Tabla 1. Especies de plantas utilizadas para la prueba preliminar de actividad biológica

Nombre científico	Nombre vulgar
<i>Polyscia guilfoyley</i> Bailey	Aralia
<i>Curcuma longa</i> Lin	Curcuma
<i>Helianthus annuus</i> L.	Girasol
<i>Bursera graveolens</i> Triana & Planch	Sasafrás
<i>Muralla paniculata</i> L.	Muralla
<i>Trichila glabra</i> L.	Ciguaraya
<i>Momordica charantia</i> L.	Cundeamor
<i>Nectandra coriácea</i> [Sw.] Griseb	Cigua
<i>Crescentia cujete</i> L.	Guira
<i>Melia azedererach</i> Lin	Paraíso
<i>Nicotiana tabacum</i> L.	Tabaco

Tabla 2. Efecto de los extractos de once especies de plantas en el diámetro de crecimiento de dos especies de hongos a los 6 y 3 días de incubación a 29 °C

Tratamientos	Control	<i>F. oxysporum</i>	Control	<i>R. solani</i>
Aralia	57	34	64	28
Curcuma	57	35		
Girasol	51	31		
Sasafrás.	50	43		
Muralla	50	28		
Ciguaraya	51	55	70	50
Cundeamor	51	41	71	34
Cigua	54	61		
Guira	57	30	69	38
Paraíso	57	73		
Tabaco	50	57	48	36

Efecto de la concentración de los extractos

El diámetro de crecimiento del *F. oxysporum* fue afectado drásticamente, mientras que el crecimiento y desarrollo del micelio de la *R. solani* adquirió una singular característica, levantado y en forma de anillo. Concentraciones tan bajas como 12,5 redujeron el crecimiento del diámetro de la colonia de ambos hongos en las especies *P. guilfoylei*, *C. longa*, *H. annuus*, *B. graveolens*, *M. charantia* y la *C. cujete* (Tabla 3), en contraste con las especies *T. glabra*, *N. coriácea*, *M. azedererach* y la *N. tabacum*, que estimularon el crecimiento y desarrollo del micelio en el caso de *Fusarium*, así como en el caso de *Rhizoctonia solani* Kürn, todos los extractos probados produjeron un efecto inhibitor a tal dosis por tratamiento (Tabla 4). En cuanto al efecto de la aplicación de 25 mL como tratamiento, fue mayor la inhibición producida, respecto a 12,5 mL, en las especies *C. longa* y *C. cujete*.

Este trabajo fue llevado a cabo con el objetivo de buscar cualquier posible actividad alelopática en las especies *Polyscia guilfoyley* Bailey, *Curcuma longa*, Lin., *Helianthus annuus*, L., *Bursera graveolens* Triana & Planch, *Muralla paniculata*, L., *Trichila glabra* L., *Momordica charantia* L., *Nectandra coriácea* [Sw.] Griseb, *Crescentia cujete* L., *Melia azedererach* Lin., y *Nicotiana tabacum* L.

Estos resultados fueron comparados con los obtenidos por Qasen (1999) sobre la actividad biológica de *Ranunculus arvensis* L. Con los de Rose *et al.* (1984) y Sedum *et al.* (1986), sobre la efectividad de los extractos de muchas especies de plantas a muy bajas concentraciones.

La valoración del potencial de los extractos de plantas citadas como fungitóxico contra los hongos patógenos de plantas *F. oxysporum* y *R. solani in vitro* indican la presencia de actividad fungitóxica de los extractos probados los que fueron más efectivos contra *R. solani* (Tabla 4), encontrándose que fueron mayormente efectivos a la más baja concentración empleada.

Trabajos realizados por Qasen en 1995 y 1996

reportan a varias especies de Ranúnculos con actividad antifúngica efectivos contra *Fusarium oxysporium*.

Tabla 3. Efecto de los extractos de plantas en el diámetro de crecimiento de la colonia de *F. oxysporum* en placas de Petri a 29 °C en tres fechas de incubación

	<i>Fusarium oxysporium</i> (Ø de la colonia en mm)								
	[0.0] mL			[12.5] mL			[25] mL		
	2	4	6	2	4	6	2	4	6
Aralia	26	42	57	12	19	30	12	20	34
Curcuma	26	43	57	19	30	43	14	24	35
Girasol	24	37	51	19	30	43	C/	C/	C/
Sasafrás	15	36	50	15	32	43	C/	C/	C/
Muralla	26	40	50	15	20	28	13	19	28
Ciguaraya	15	36	51	20	40	55	C/	C/	C/
Cundeamor	24	37	51	18	29	41	C/	C/	C/
Cigua	26	44	54	26	45	60	25	44	61
Güira	25	42	57	17	22	30	17	22	29
Paraíso	26	43	57	29	52	73	28	55	81
							18	18	18
Tabaco	26	36	50	25	47	57			

Tabla 4. Efecto de los extractos de plantas en el diámetro de crecimiento de la colonia de *R. solani* en placas de Petri a 29 °C en tres fechas de incubación.

	<i>Rhizoctonia solani</i> (Ø de la colonia en mm)								
	Concentración de los extractos								
	0.0			12.5			25		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Aralia	20	44	64	9	14	19	20	27	28
Ciguaraya	21	50	70	21	41	50			
Cundeamor	27	53	71				23	28	34
Güira	28	52	69	20	27	36	22	28	38
Tabaco	23	28	48	15	20	36			

CONCLUSIONES

1. Se muestra claramente la actividad biológica de las especies *Polyscia guilfoyley* Bailey, *Curcuma longa* Lin, *Helianthus annuus* L., *Bursera graveolens* Triana & Planch, *Muralla paniculata* L., *Trichilia glabra* L., *Momordica charantia* L., *Nectandra coriácea* [Sw.] Griseb, *Crescentia cujete* L., *Melia azedererach* Lin, y *Nicotiana tabacum* L.
2. Se pone de manifiesto la fuerte actividad antifúngica de los extractos de las especies aralia, muralla, güira, girasol, cundeamor y curcuma afectando el crecimiento y desarrollo del *F. oxysporum*.
3. El crecimiento y desarrollo de las colonias de *R. solani* es fuertemente reducido por el potencial antifúngico mostrado por las especies aralia, güira, tabaco, ciguaraya y cundeamor.
4. Produjeron estimulación en el crecimiento del *Fusarium* los extractos de las especies de plantas ciguaraya, cigua, paraíso y el tabaco.
5. De las dos especies de hongos probados el más afectado por la inhibición en el crecimiento del diámetro de las colonias fue la *Rhizoctonia solani* Kürn.

BIBLIOGRAFÍA

Rose, S. J.; O. C. Burnside; J. E. Specht and B. A. Swlsher (1984): "Competition and Allelopathy between soybeans and weeds". *Agron. J.* 76: 523-528.

Sedum, W. M.; R. S. Jessop and J. V. Lovett (1986): *Plant soil* 93: 3-16.

Qasen, J. R. and H. A. Abu-Blan (1995): *Ann. Appl. Biol.* 127: 127- 219.

_____ (1995): *Ann. Appl. Biol.* 128: 533-540.

Qasen, J. R. (1996): Biological activity of corn Buttercup (*Ranunculus arvensis* L.). Recent Advances in Allelopathy. Vol I., A Science for the future, pp. 290-300.

