

## ALELOPATIA Y SUSTANCIAS BIOACTIVAS

**Respuesta de *Trichoderma viride* y *Trichoderma harzianum* ante la aplicación de los extractos de *Phyla nodiflora* (L) Greene var. *Nodiflora* y *Petiveria alliaceae* L.**

M. Puente Isidrón (1), R. Espinosa Ruiz (1), L. Herrera Isla (1), S. Torres García (1), M. Hernández Aro (1), F. de Cupere (2), P. Van Damme (2), C. E. Fajardo González (3), A. Pupo Rodríguez (4) y A. Álvarez Morales (4)

(1) Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas.

(2) Universidad de Gent. Bélgica.

(3) Instituto Provincial de Sanidad Vegetal.

(4) Estudiantes de la Facultad de Ciencias Agropecuarias.

---

**RESUMEN.** En la búsqueda por encontrar la eficiencia en el sistema alelopático entre hongos antagonistas del género *Trichoderma* y extractos vegetales se realizó el presente trabajo con el objetivo de evaluar la respuesta de *Trichoderma viride* y *Trichoderma harzianum* ante la aplicación de dos extractos de origen vegetal, además de indicar el efecto sobre éstos y valorar su inclusión o no dentro del manejo integrado. En la ejecución se utilizaron las concentraciones de 0,25 g/mL, 0,50 g/mL y 0,80 g/mL de los extractos de anamú y orozú. Los resultados indican que el mejor extracto para ambos hongos resultó el de *P. nodiflora*, siendo la concentración más baja la de mejor efecto en los procesos de crecimiento y esporulación de estos hongos antagonistas.

Palabras clave: Alelopatía, hongos antagonistas, extractos vegetales.

**ABSTRACT.** In the search to find the efficiency in the allelopathy system among antagonistic fungi of the gender *Trichoderma* and vegetable extracts was carried out the present work with the objective of evaluating the answer of *Trichoderma viride* and *Trichoderma harzianum* before the application of two extracts of vegetable origin, besides to indicate the effect on these and to value or not their inclusion inside the integrated management. In the execution the concentrations of 0,25 g/mL, 0,50 g/mL and 0,80 g/mL of the anamú extracts, orozús were used. The results indicate that the best extract for both fungi was that of *P. nodiflora*, being the lowest concentration that of better effect in the processes of growth and esporulation of these antagonistic fungi.

Key words: Allelopathy, antagonistic fungi, vegetable extracts.

## INTRODUCCIÓN

La utilización de residuos y extractos con propiedades alelopáticas como una herramienta de manejo integrado puede ser un uso más práctico de la alelopatía para estimular el desarrollo de hongos que como *Trichoderma* sp. son capaces de eliminar los entes fúngicos que afectan las plantas cultivadas. El objetivo de este trabajo fue evaluar la respuesta de los hongos *Trichoderma viride* y *Trichoderma harzianum* ante la acción de los extractos vegetales de anamú (*Petiveria alliaceae*.L) y orozú (*Phyla nodiflora* (L) Greene var. *Nodiflora*), indicando su efecto positivo o negativo sobre los mismos a fin de recomendarlos o excluirlos de un posible manejo integrado donde se utilicen los antagonistas estudiados.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se tomaron 160 g del material seco y triturado y se le adicionaron 1 600 mL de agua destilada dejándose en maceración durante 24 horas en la oscuridad, simulando las condiciones naturales de descomposición. La solución acuosa obtenida se filtró por una capa de papel de filtro de filtración lenta centrifugándose posteriormente a 3 900 rpm, luego estuvo 30 min. rotoevaporándose a una temperatura entre 45 y 50 °C y 30 rpm hasta obtener 160 mL del extracto. El producto obtenido tuvo una concentración de 1g de materia seca por mililitro de extracto final.

El medio de cultivo fue envenenado con los extractos vegetales a las concentraciones de

0,25; 0,50 y 0,80 g/mL repartiéndose 10 mL del medio envenenado en 5 placas de Petri estériles de 100 x 20 mm. Posteriormente se sembró un disco de 10 mm de diámetro de la cepa del hongo seleccionado en el centro de cada placa, se incubaron las placas a una temperatura de 29 °C durante 7 días, midiéndose el diámetro de crecimiento del micelio del hongo cada 24 horas y la esporulación en cada placa al finalizar el experimento (cuando el testigo cubre totalmente la placa).

Se calcularon los Índices de Crecimiento (IC) y Esporulación (IE) para cada réplica en las diferentes concentraciones (Arora *et al.*, 2001). De forma general estas expresiones adimensionales indican el efecto del extracto sobre la esporulación o el crecimiento señalado como la variación de estos relativa al testigo y expresada en por ciento.

$$IE = \frac{(\text{Esporul. Muestra} - \text{Esporul. Testigo})}{\text{Esporul. Testigo}} \cdot 100$$

$$IC = \frac{(\text{Crec. Muestra} - \text{Crec. Testigo})}{\text{Creci. Testigo}} \cdot 100$$

Valores positivos de ambos índices muestran una estimulación del proceso, pues el valor del crecimiento o la esporulación de la muestra son mayores que el del testigo e índices negativos indican una inhibición del proceso pues los valores de la muestra son inferiores a los del testigo. El índice combinado de ambas expresiones manifiesta la actividad en los dos procesos evaluados:

*Índice combinado (ICB) = Índice Esporulación + Índice Crecimiento*

Para el tratamiento estadístico se utilizaron pruebas no paramétricas del paquete estadístico SPSS 10,0 para Windows (prueba de Friedman).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Efecto sobre el crecimiento

Las figuras 1 y 2 muestran el comportamiento del crecimiento del micelio de los hongos *T. viride* y *T.*

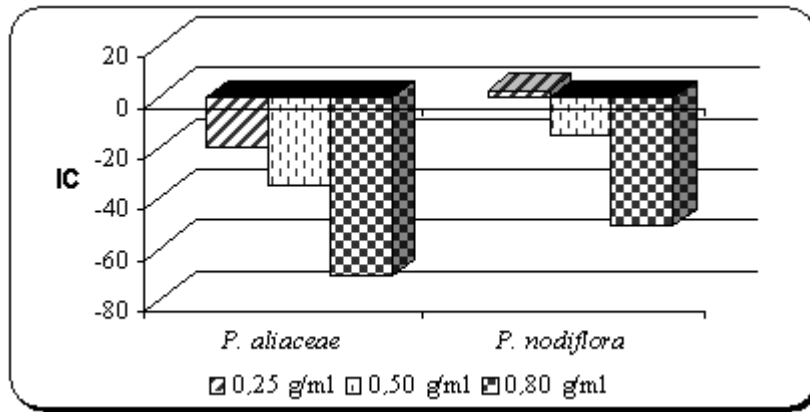
*harzianum* (respectivamente) ante la aplicación de los extractos vegetales de *P. alliaceae* y *P. nodiflora*. Para un mismo hongo existen diferencias significativas entre las tres concentraciones según la prueba de Friedman.

En las figuras 1 y 2 se puede observar una fuerte inhibición en las tres concentraciones sobre el crecimiento de *T. viride* y *T. harzianum* de ambos extractos; se destaca la concentración más baja (0,25 g/mL) de orozuz la que provocó una estimulación en este proceso de crecimiento del micelio. Para ambos hongos, de forma general, se evidencia que a medida que disminuye la concentración del extracto la influencia inhibitoria se hace menos acentuada, eso concuerda con los estudios realizados por Macías (1995) y An *et al.* (1997), los cuales al trabajar con diferentes concentraciones de sustancias alelopáticas indicaron que los mejores resultados estimulantes se logran con valores bajos de las mismas.

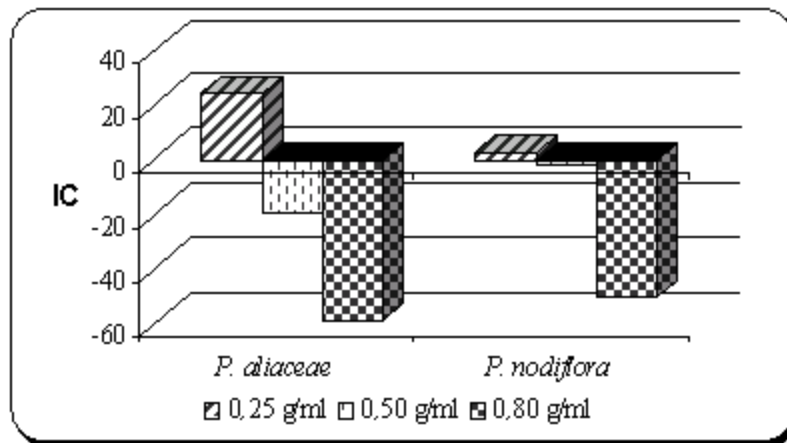
### Efecto sobre la Esporulación

Las figuras 3 y 4 muestran el comportamiento de la esporulación de los hongos *T. viride* y *T. harzianum* (respectivamente) ante la aplicación de los extractos vegetales de *P. alliaceae* y *P. nodiflora*. Para un mismo hongo existen diferencias significativas entre las tres concentraciones según la prueba de Friedman.

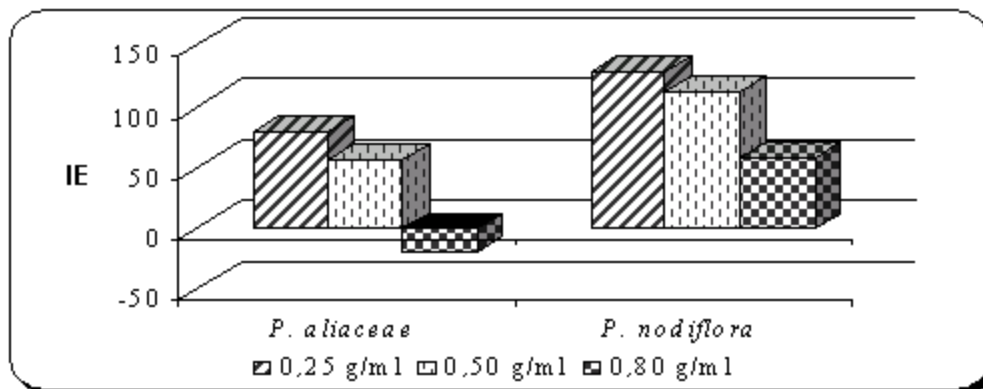
De forma contraria al crecimiento en la esporulación de *T. viride* (figura 3) ocurren estimulaciones con excepción de la concentración más alta de *P. alliaceae* la cual provoca una inhibición, siendo la concentración de 0,25 g/mL la de mayores valores estimulantes. Para el hongo *T. harzianum* (figura 4) ocurre algo parecido, aunque la concentración media de *P. alliaceae* también provoca inhibición. De forma general para ambos hongo las concentraciones más bajas de los extractos inducen una estimulación marcada en la esporulación mientras que las altas una inhibición del proceso. A medida que se hace más diluido el extracto el efecto estimulante va en ascenso, estos resultados concuerdan con los obtenidos por Macías (1995), An *et al.* (1997) y Rajappan *et al.* (1997) donde se evidencia la estimulación en la esporulación de hongos del suelo a medida que disminuye la concentración de sustancias alelopáticas.



**Figura 1.** Índice de Crecimiento (IC) del hongo *T. viride* para ambos extractos según la concentración.



**Figura 2.** Índice de Crecimiento (IC) del hongo *T. harzianum* para ambos extractos según la concentración.



**Figura 3.** Índice de Esporulaci3n (IE) del hongo *T. viride* para ambos extractos según la concentración.

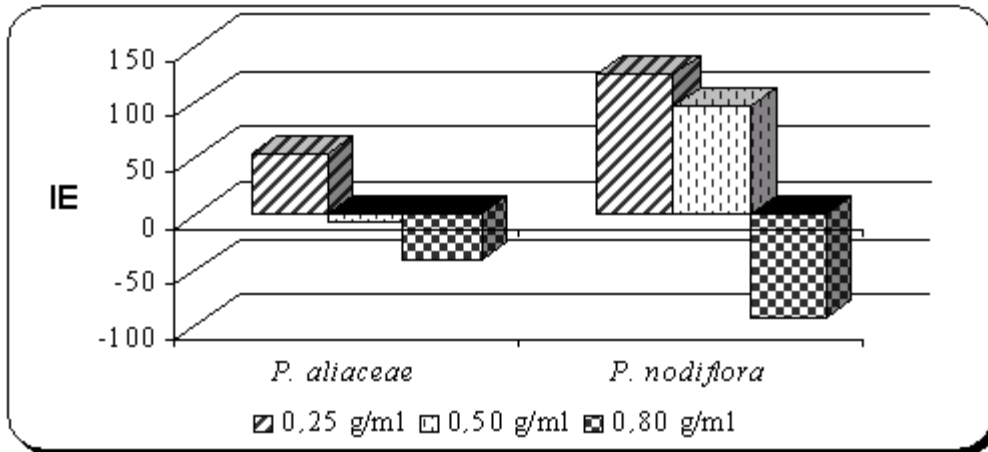


Figura 4. Índice de Esporulación (IE) del hongo *T. harzianum* para ambos extractos según la concentración.

**Estudio según Índice Combinado (ICB)**

Como se señaló anteriormente, el ICB permite conocer cuál de los dos extractos estudiados posee los mejores efectos en conjunto. Las

figuras 5 y 6 muestran los valores de este índice en los hongos estudiados para ambos extractos. Para un mismo hongo existen diferencias significativas entre las tres concentraciones según la prueba de Friedman.

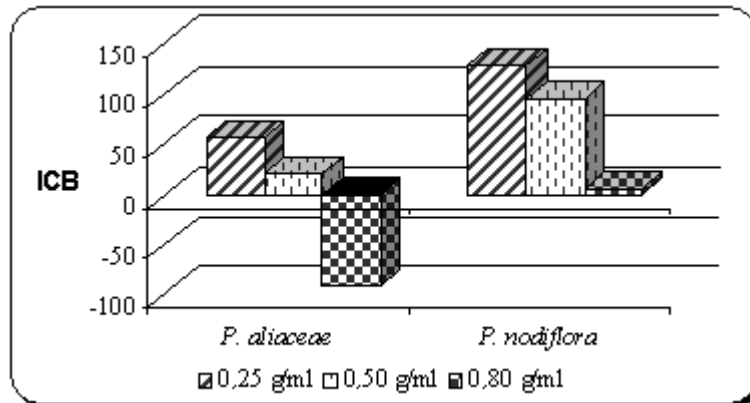


Figura 5. Índice Combinado (ICB) del hongo *T. viride* para ambos extractos según la concentración.

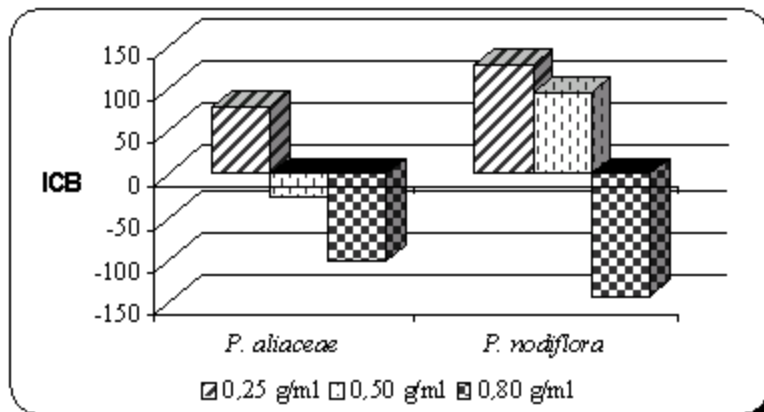


Figura 6. Índice Combinado (ICB) del hongo *T. harzianum* para ambos extractos según la concentración.

Para el hongo *T. viride* (figura 5) la concentración de 0,25 g/mL de ambos extractos fue la que mayor efecto estimulante produjo, tanto en el crecimiento como en la esporulación. Entre ambos extractos el de mejor resultado fue el de *P. nodiflora* ya que todas sus concentraciones indujeron una estimulación aunque a medida que esta disminuye este carácter va minimizándose. En el caso de *T. harzianum* (figura 6), al igual que en el caso anterior, la concentración más baja fue la de mayores efectos estimulantes, siendo en *P. nodiflora* más acentuada; las de 0,50 g/mL y 0,80 g/mL provocaron inhibiciones encontrándose la de mayor fuerza en el extracto de *P. nodiflora*. Para este hongo el mejor extracto fue el de *P. nodiflora* pues las concentraciones media y baja tuvieron buenos resultados aunque la más alta sea la más inhibitoria en comparación con el otro extracto. De manera general estos resultados concuerdan con los obtenidos por Roschina *et al.* y Stauffer *et al.*, los cuales destacan que a medida que aumenta la concentración de los extractos los efectos inhibitorios se hacen cada vez más acentuados.

## CONCLUSIONES

1. A medida que baja la concentración se obtienen los mejores efectos estimulantes tanto en el crecimiento como en la esporulación.
2. La concentración de 0,25 g/mL fue la que produjo mayores estimulaciones en los procesos estudiados.
3. Las concentraciones elevadas provocan inhibiciones en el crecimiento y esporulación de ambos hongos.
4. El mejor extracto para ambos hongos fue el de *P. nodiflora*.

## RECOMENDACIONES

- No se debe utilizar el tratamiento al suelo con el extracto de *P. alliaceae* a la concentración de 0,80 g/mL cuando se encuentre presente en el mismo *T. viride* y/o *T. harzianum*.

- No se debe utilizar el tratamiento al suelo con el extracto de *P. nodiflora* a la concentración de 0,80 g/mL cuando se encuentre presente en el mismo *T. harzianum*.

## BIBLIOGRAFÍA

An M.; J. E. Pratley; T. Haig (1997): "Phytotoxicity of vulpia Residues: Investigation of aqueous extracts". *Journal of Chemical Ecology* 23(8):1980-1993.

Arora C. A.; S. Kumar; B. D. Singh (2001): "Fraction and purification of botanical pesticides for economically important fungal pathogens of rice". *Allelopathy Journal* 8(2):276-277.

Macías, A. F. (1995): "Allelopathy in the Search for Natural Herbicide Model". en: Einhelling FA, editor. *Allelopathy Organisms Process and Applications*. ACS, pp. 310-326.

Rajappan, K.; A. Marippan; A. Karina (1997): "Effects of dry leaf extracts of *Ipomoea* spp. on rice sheath rot pathogen and beneficial microorganisms". *Phytopathology* 50(3):329-331.

Roschina, Victoria and V. D. Roschina (1999): "Allelopathy research in former Soviet Union". en Narwal S. S., editor. *Allelopathy Update. International Status I. Oxford & IBH Publishing. C.O. PVT. LTD.*, pp.111-122.

Stauffer, A.; Aida Orrego y Alicia Aquino (2000): Selección de extractos vegetales con efecto fungicida y/o bactericidas. (citado el 1 Dic. 2003). Disponible en: [http://www.neuton.cnc.una.py/resource\\_1006/2000v1n2-04.pdf](http://www.neuton.cnc.una.py/resource_1006/2000v1n2-04.pdf).