

Efecto alelopático de *Terminalia catappa* L. sobre *Rhizoctonia solani* Kühn

Allelopathy effect of *Terminalia catappa* L. on *Rhizoctonia solani* Kühn

Ray Espinosa Ruiz; Lius R. Bravo Sanchez; Lidcay Herrera Isla; Maykel Hernández Aro; Sinesio Torres García; Mayra Puente Isidró

Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, Carretera a Camajuaní km 5 1/2; Santa Clara; Villa Clara. C.P. 54830. telef: 28 1520 (CIAP - FCA)

E-mail: rayer@uclv.edu.cu

Resumen. La alelopatía es el fenómeno basado en la liberación de diferentes compuestos al medio, que ejercen su efecto sobre plantas y microorganismos. Bajo este principio se realizó el trabajo con el objetivo de demostrar la presencia de metabolitos secundarios en la planta *Terminalia catappa* L. con efecto alelopático sobre *Rhizoctonia solani*. Para ello se obtuvieron los extractos mediante extracción asistida por ultrasonido en disolventes de diferentes polaridades (eter dietílico, etanol y agua destilada). A través de la determinación del Índice de Respuesta Alelopática (IRA) se comprobó el efecto de cada una de las concentraciones sobre el crecimiento micelial. En el extracto etéreo y alcohólico a concentraciones de 0,50 g/mL y 0,65 g/mL se observaron menores inhibiciones que en la concentración de 0,80 g/mL. El extracto acuoso indujo una inhibición total. El tamizaje fitoquímico arrojó la presencia de taninos pirogalotánicos en este extracto

Palabras clave: Alelopatía, *Terminalia catappa* L. y *Rhizoctonia solani*.

Abstract.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad resulta imprescindible desarrollar variantes que conduzcan a reducción y sustitución paulatina del uso de agroquímicos, dirigidas a la implantación de una agricultura orgánica que utilice las fuerzas de la naturaleza y con ello recupere el equilibrio natural. (Nelson, 2004)

Siguiendo esta línea el objetivo del trabajo fue demostrar la presencia de metabolitos secundarios

con efecto alelopático sobre el hongo *Rhizoctonia solani* Kühn en las planta almendro de la India (*Terminalia catappa* L.).

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se llevó a cabo en el laboratorio del Grupo de Investigaciones Alelopáticas (GIA) de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, de

conjunto con el laboratorio de Fitoquímica de la Facultad de Química Farmacia; ambos pertenecientes a la Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas.

El material vegetal utilizado fue colectado en la Facultad de Ciencias Agropecuarias ubicada en la Universidad. La colecta se desarrolló entre las 9:00 am y las 10:00 am, entre los meses de diciembre de 2005 y enero de 2006. Se tomaron hojas de plantas adultas.

Las plantas se secaron en estufa a 35 °C con recirculación de aire durante 5 días y luego se molinaron a un tamaño de partícula máximo de 0,5 mm. (Macías *et al.*, 2005)

Para obtener los extractos etéreo, etanólico y acuoso se tomaron muestras de 140 g del material vegetal seco y triturado (cantidad suficiente de producto para el desarrollo completo del experimento). Al material vegetal se le añadieron 500 mL de disolvente en sendos balones de 1 L; se colocaron en un baño ultrasónico durante 30 min a una frecuencia de 72 Hz, y fueron filtrados con el objetivo de eliminar los restos de tejidos vasculares de las plantas. (Palma *et al.*, 2006)

En los extractos etéreo y etanólico fue necesario eliminar el disolvente, pues los mismos tienen propiedad biocidal. Para esto se llevaron ambos a sequedad y luego se resuspendieron en 140 mL de agua destilada utilizándose 3 g de Polisorbato 80 (tween 80). Esta sustancia es inerte ante la actividad microbiana. (Osorio, 2006)

Por otro lado, el extracto acuoso fue concentrado en evaporador rotatorio hasta llegar al volumen de 140 mL. Así todos los extractos quedaron con una concentración de 1 g/mL, como solución madre para obtener las concentraciones de trabajo.

La selección de las concentraciones utilizadas se basó en experimentos anteriores (Puente, 2007), donde el extracto acuoso de esta planta a concentraciones más bajas (0,25 g/mL) no demostró tener resultados inhibitorios importantes, por lo cual se tomaron concentraciones superiores (0,50 g/mL, 0,65 g/mL y 0,80 g/mL).

Para probar la actividad alelopática de la planta sobre los hongos se utilizó el método de envenenamiento del medio de cultivo (Marcano *et al.*, 2005), procediéndose a disolver 4,5 g de Agar Dextrosa Sabouraud en tres erlenmeyers con 15; 10,5 y 6 mL de agua destilada (correspondiente a cada concentración) y se llevó a esterilidad en autoclave a 121 °C y 1,2 atm. de presión, durante 15 min. Una vez concluido este proceso se dejó enfriar hasta 60 °C para adicionarle 15 mL, 19.5 mL y 24 mL de extracto (previamente esterilizado por una membrana miliporo de acetato de celulosa de 0,2 μm de poro) respectivamente. (Narwal, 1996)

Posteriormente, se uniformó el medio de cultivo por agitación manual y se repartieron 10 mL en tres placas de Petri estériles. Se sembró en el centro de cada placa un disco de 10 mm de diámetro del patógeno y se incubó a 29 °C en condiciones de oscuridad. Se midió el diámetro de la colonia cada 24 h hasta que el testigo cubriera totalmente la placa.

Se calculó el Índice de Respuesta Alelopática (IRA). (Wang *et al.*, 2006; Zhang *et al.*, 2005)

Si: $T \geq C$ entonces $IRA = 1 - \left(\frac{T}{C}\right)$ Si:

$IRA > 0$! Estimulación.

$C > T$ entonces $IRA = \left(\frac{C}{T}\right) - 1$ IRA
< 0 ! Inhibición

Este índice muestra cómo se desarrolló el hongo al aplicar el extracto en el medio de cultivo. Cuando el crecimiento del testigo (T) es mayor o igual al de la muestra en estudio (C), se aplica la primera fórmula, en el caso contrario se aplicará la segunda.

Para el análisis de los resultados obtenidos del IRA se utilizó el paquete estadístico SPSS, versión 11.5 para Windows, a través de la prueba de Kruskal–Wallis para comparaciones de medias.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto del extracto etéreo de *Terminalia catappa* L. sobre *Rhizoctonia solani* Kühn

En la figura 1 se puede observar el efecto del extracto etéreo de la planta en estudio sobre *Rhizoctonia solani*. Letras diferentes indican diferencias significativas según el análisis estadístico

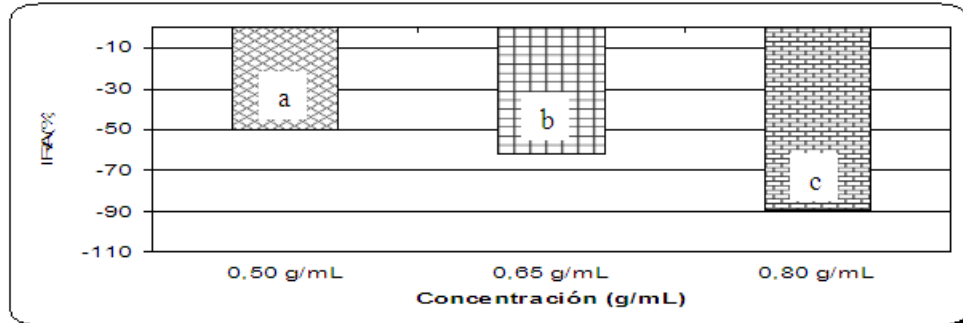


Figura 1. Índice de Respuesta alelopática de *Rhizoctonia solani* frente al extracto etéreo de *Terminalia catappa*

de Kruskal–Wallis con un nivel de significación del 5 %.

El extracto etéreo de *T. catappa* produjo la mayor inhibición del crecimiento del hongo, siendo la de 0,80 g/mL la más alta, referida en elevado IRA (valor absoluto). El tamizaje fitoquímico reveló la presencia de cumarinas en este extracto, según los estudios realizados por Marcano *et al.* (2005) este tipo de metabolito secundario, de forma general, posee acción fungicida. Las cumarinas son capaces de inhibir el crecimiento micelial de hongos del suelo como *Sclerotium rolfsii*. (Marcano *et al.*, 2005)

Se puede apreciar que entre las tres concentraciones de cada extracto existe una dependencia, a medida que aumenta la concentración se hace más marcada la inhibición. Según los estudios de Ruhua *et al.* (2005) la concentración es un factor de importancia en los sistemas alelopáticos, pues muchos de estos agentes provocan diferentes efectos en función de la concentración.

Efecto del extracto etanólico de *Terminalia catappa* L. sobre *Rhizoctonia solani* Kühn

En la figura 2 se puede observar el efecto del extracto etanólico de la planta en estudio sobre *Rhizoctonia solani*. Letras diferentes indican diferencias significativas según el análisis estadístico de Kruskal–Wallis con un nivel de significación del 5 %.

Para el caso del extracto etanólico las concentraciones de 0,50 g/mL y 0,65g/mL tuvieron el mismo efecto, no se encontraron diferencias significativas entre ellas. Sin embargo, a la

concentración de 0,80 g/mL se observó mayor inhibición respecto a las concentraciones anteriores. Esto evidencia que los compuestos que se encuentran en el extracto ejercen una mayor acción al aumentar la concentración del extracto crudo por encima de 0,65g/

mL. Estudios realizados por Huang and Chou (2006) y Utkhede (2006) muestran cómo al aumentar o disminuir en pocas unidades las concentraciones, el grado de afectación varía en función de este cambio.

El tamizaje fitoquímico evidenció la presencia de saponinas, taninos, flavonoides y cumarinas.

Efecto del extracto acuoso de *Terminalia catappa* L. sobre *Rhizoctonia solani* Kühn

En la figura 3 se puede observar el efecto del extracto acuoso de la planta en estudio sobre *Rhizoctonia solani*. Letras diferentes indican diferencias significativas según el análisis estadístico de Kruskal–Wallis con un nivel de significación del 5 %.

El extracto acuoso de *T. catappa* indujo a las tres concentraciones una inhibición total en el crecimiento micelial, los compuestos encontrados en este extracto fueron los taninos y flavonas. Según Hernandez *et al.* (2003) los taninos se encuentran en mayor cuantía en las hojas de *T. catappa* identificando a la Punicalina y Punicalagina como las predominantes dentro del grupo tánico.

En estudios con taninos sobre sistemas fúngicos se determinó que estos son los responsables de la inactivación de enzimas, su acción podía ser directa, así como encontrarse involucrados en la formación de

complejos con iones metálicos, como el hierro, necesarios en el metabolismo microbiano. (Yamaguchi and Okuda, 2006). La inactivación enzimática está relacionada con la astringencia (capacidad de hacer precipitar proteínas) que poseen los taninos (Hernandez *et al.*, 2003). En las membranas existen gran cantidad de enzimas y proteínas que permiten la entrada de diferentes sustancias así como

su salida al espacio intercelular; otras sirven como antenas capaces de captar estímulos externos (Lehninger, 2005). Los taninos pueden formar enlaces con los aminoácidos de estas proteínas e inactivarlas. La formación de estos enlaces de tipo covalente se establece a través de los grupos –SH que poseen aminoácidos como la Serina. (Rukhsan and Naz, 2005)

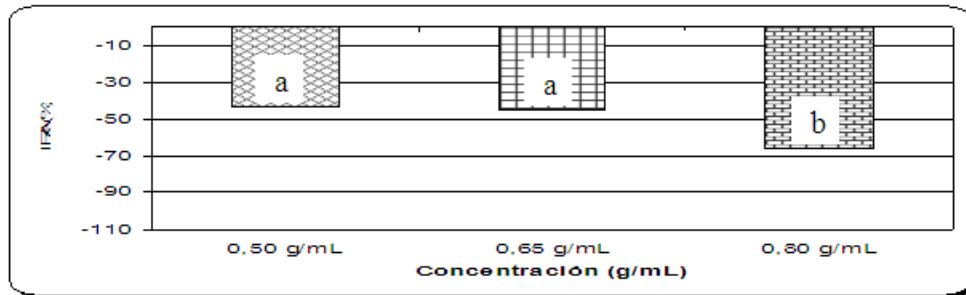


Figura 2. Índice de Respuesta alelopática de *Rhizoctonia solani* frente al extracto etanólico de *Terminalia catappa*

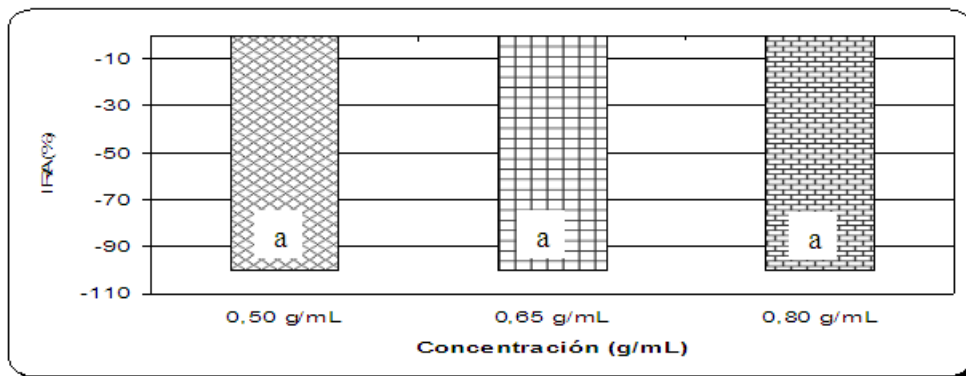


Figura 3. Índice de Respuesta alelopática de *Rhizoctonia solani* frente al extracto acuoso de *Terminalia catappa*

CONCLUSIONES

1. En el extracto etéreo de *T. catappa* se encontraron cumarinas, en el etanólico saponinas, taninos, flavonoides y cumarinas mientras que en el acuoso taninos pirogalotánicos y flavonoides.
2. Existe una dependencia entre la concentración y el efecto alelopático provocado por el extracto.
3. La concentración más alta (0,80 g/mL) en todos los casos indujo las mayores inhibiciones.
4. Los metabolitos secundarios que se encuentran

en el extracto acuoso afectaron en mayor cuantía, evidenciándose en una inhibición total del crecimiento de *R. solani*.

BIBLIOGRAFÍA

1. EINHELLING, F.: Organism, Process and Applications', American Chemical Society [On Line], <http://www.cses.org/achemical/allelopathy/425_95.htm>, accessed 17 de octubre, 2003.
2. HERNANDEZ, M.; L.GARCÍA, AND D.M. ROJO: "Alemndro de la India: Potencial Biológico Valioso",

Rev. Cubana Invest. Biomed, 22 (1), 2003.

3.HUANG, H AND C.CHOU: "Soil Sickness and its Control", *Allelopathy Journal*, 18 (1), 2006.

4.LEHNINGER, A.: *Principios de Bioquímica* 6^{ta} Edición, 1013 pp., 2005.

5.MACÍAS, F.A. ET AL.: Natural biocides from citrus waste as new wood preservatives'. [On Line], <http://www.regional.org.au/au/allelopathy/2005/2/2/2482_torresa.htm>, accessed 1 de Abril, 2006.

6.MARCANO, A.; N. VARGAS AND A. PIRE: "Efecto de extractos vegetales y fungicidas sintéticos sobre el crecimiento micelial in vitro de *Sclerotium rolfsii* y *Thielaviopsis basicola*", *Rev. Fac. Agron.* [on Line], <<http://www.revfacagronluz.org.ve/pdf/octubre-diciembre2005/>>, accessed 12 diciembre, 2006.

7.NARWAL, S.S.: Suggested Methodology for Allelopathy Laboratory Bioassay', in SS Narwal and P Tauro (eds.), *Allelopathy: Field Observation and Methodology* (Joudpur. India: Scientific Publisher), 255-265 pp., 1996.

8.NELSON, E.: "Biology, Ecology and Allelopathy", *Ecology Journal* [On Line], <http://www.bioworks.net/biocontro/contro_325.htm>, accessed 30 de mayo, 2004.

9.OSORIO, G.P.: "Evaluación de Hongos Endofíticos y Extractos Botánicos para el Control de la Sigatoka Negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morlet.) en Banano", *CATIE* en <http://www.catie.com/fitopatologia/Mycosphaerella_06/pdf_380938.htm>, accessed 23 de marzo, 2007.

10.PALMA, M. ET AL.: "Ultrasound-Assisted Extraction of Compounds From Foods", *Ultrasonics Sonochemistry*, 4: 135-138, 2006.

11.PUENTE, MAYRA: Efecto de diversos extractos de plantas sobre los hongos fitopatógenos del suelo *Rhizoctonia solani* Kühn y *Sclerotium rolfsii* Sacc, Tesis de Doctorado, Universidad Central Marta Abreu de Las Villas, 2007 .

12.RUHUA, W.; B. ZHOU, AND F. ZHANG: Allelopathic Effects of Roots Extracts of Eggs Plants on *Verticillium wilt* (*Verticillium dahliae*). *Allelopathy Journal*, 15 (1): 74-84 ,2005.

13.RUKHSAN, B. AND I. NAZ: "Allelopathic Effects of *Eucalyptus citrodora* on Growth Nodulation and

Arbuscular Micorizae Colonization of *Vigna radiata* (L) Wilczek", *Allelopathy Journal*, 15 (2): 273-45 p, 2005.

14.STOMPOR-CHRAZAN, E.: Antifungal Activity of Leaf and Bark Extracts on the Growth and Development of Damping - off Fungi and Their Practical Utilisation in Protection of Seedling', *University of Rzeszow*, <<http://seas.iung.pulawy.pl/pdf/str152.pdf>>, accessed 20 de marzo, 2006 .

15.UTKHEDE, R.: "Soil Sickness, replant problem or Replant Disease and its Integral Control", *Allelopathy Journal*, 18 (1), 2006 .

16.WANG, Z. ET AL.: "Allelopathic Potential and Chemical Constituents of Volatil Oil From *Praxelis clematidea*", *Allelopathy Journal*, 18 (2), 225-36, 2006.

17.YAMAGUCHI, H. AND K. OKUDA: Chemically Modified Tannin and Tannin-Copper Complexes as Wood Preservatives', *ELF* [On Line], <<http://www.bfafh.de/SEARCH/ELF/FORMBIB/DDW?M%3D952124%26K%3D%0DT3+07+184%0D%26R%3DY%26U%3D1>>

18.ZHANG, M. ET AL.: "Allelopathic Effects of Lantana (*Lantana camara* L.) on water Hyacinth (*Eichhorina crassipes* (Mart) Solms)", *Allelopathy Journal*, 15 (1): 125-130 pp., 2005.

Recibido: / /

Aceptado: