

## ALELOPATÍA Y SUSTANCIAS BIOACTIVAS

# Actividad antifúngica del aceite esencial de *Cymbopogon nardus* para el control de *Macrophomina phaseolina* Antifungal activity of the essential oil from *Cymbopogon nardus* for control of *Macrophomina phaseolina*

Cynthia Sánchez García<sup>1</sup>, Maylin Cruz<sup>3</sup>, Esther L. Martín<sup>3</sup>, Michel Leiva Mora<sup>1</sup>, Mileidy Cruz Martín<sup>1</sup>, Yelenys Alvarado Capó<sup>1</sup>, Mayra Acosta Suárez<sup>1</sup>, Berkys Roque<sup>1</sup>, Misleidy Pérez<sup>2</sup>

1. Instituto de Biotecnología de las Plantas (IBP). Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas. Carretera a Camajuaní km. 5 ½ Santa Clara, Villa Clara, Cuba.

2. Laboratorio de Plantas Medicinales. Kurhotel Escambray, Sancti Spiritus. Cuba.

3. Laboratorio de Sanidad Vegetal. Carretera a Maleza km 2 ½, Santa Clara, Cuba.

E-mail: [cynthia@ibp.co.cu](mailto:cynthia@ibp.co.cu)

**RESUMEN.** *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. es un hongo del suelo, causante de la enfermedad del tizón ceniciento del tallo, el cual es la causa principal de la descalificación de las semillas como material de propagación. Plantas del género *Cymbopogon*, incluyendo a *Cymbopogon nardus*, poseen propiedades antimicrobianas, por lo que se evaluó la actividad antifúngica del aceite esencial de *C. nardus* para el control de *M. phaseolina*. Se utilizó la cepa de *Macrophomina phaseolina* (CCIBP-Mp2). Se evaluó la actividad antifúngica *in vitro* mediante la determinación de la Mínima Concentración Inhibitoria (MCI) y en semillas infectadas naturalmente mediante el análisis de cámara húmeda con congelación. El aceite esencial de *C. nardus* inhibió el crecimiento de la cepa de *M. phaseolina*, a una concentración de 1,5 %. En la evaluación de la actividad antifúngica en semillas infectadas, no se observó contaminación fúngica del patógeno ni de los otros contaminantes observados en el tratamiento control (*M. phaseolina* 25 %, *Fusarium* sp. 7 %, *Aspergillus* 6 % y *Penicillium* sp. 3 %). Para el control de este patógeno se utilizan comúnmente compuestos químicos comerciales, no obstante se buscan nuevas alternativas de control para eliminar o atenuar el uso de estos compuestos químicos, por lo que estos resultados pueden constituir un punto de partida para el desarrollo de estrategias de control de este hongo patógeno a partir de este producto natural.

**Palabras clave:** Aceite de Citronella, productos antifúngicos, tratamiento de semillas, tizón ceniciento del tallo.

**ABSTRACT.** *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. is a soil fungi, which is the main cause of the disqualification of the seeds as propagation material. Plants of the *Cymbopogon* genus, including *Cymbopogon nardus* possesses antimicrobial properties, for this reason our objective was to evaluate the antifungal activity of the essential oil of *C. nardus* for the control of *M. phaseolina*. The CCIBP-Mp2 strain of *Macrophomina phaseolina* was used. The *in vitro* antifungal activity was evaluated by the determination of the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and in naturally infected seeds by the analysis of humid camera with freezing. The essential oil of *C. nardus* inhibited the growth of the *M. phaseolina* strain, to a concentration of 1.5%. In the evaluation of the antifungal activity in infected seeds, fungal contamination of the pathogen was not observed neither of the other contaminants observed in the control treatment (*M. phaseolina* 25%, *Fusarium* sp. 7%, *Aspergillus* sp. 6% and *Penicillium* sp. 3%). For the control of this pathogen they are commonly used chemical compounds, nevertheless new alternatives of control are looked for to eliminate or to attenuate the use of these compounds, these results can constitute a starting point for the development of control strategies for this pathogen fungi using this natural product.

**Key words:** Citronella oil, antifungal products, seed treatments, ashen stem blight.

## INTRODUCCIÓN

*Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. es un hongo del suelo, causante de la enfermedad del tizón ceniciento del tallo, la cual afecta a más de 500 especies de plantas, entre ellas muchas de interés comercial. (Partridge, 2007)

Ante la problemática de la utilización indiscriminada de los fungicidas y fumigantes, como el bromuro de metilo, que pueden resultar en fungorresistencia, contaminación

ambiental y toxicidad, es que se ha motivado la búsqueda de otros métodos efectivos y no perjudiciales para combatir los patógenos de plantas. (Stefanova, 2006)

Se ha demostrado que aceites esenciales de plantas aromáticas controlan el crecimiento de hongos del suelo patógenos de plantas como *M. phaseolina* (Shimoni *et al.*, 1996) y que plantas del género *Cymbopogon*, incluyendo a *Cymbopogon nardus*, poseen propiedades antimicrobianas (Saikia *et al.*, 2001). Por esta razón este trabajo tuvo como objetivo evaluar la actividad antifúngica del aceite esencial de *C. nardus* para el control de *M. phaseolina*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizó la cepa de *Macrophomina phaseolina* (CCIBP-Mp2) procedente de la colección de cultivos microbianos del Laboratorio de Fitopatología del Instituto de Biotecnología de las Plantas (IBP).

Se empleó el aceite esencial de *C. nardus* puro, suministrado por el Laboratorio de Plantas Medicinales, Kurhotel Escambray, Sancti Spiritus, Cuba. Las diluciones del aceite esencial se prepararon en alcohol al 75 % a partir de una concentración del 100 % hasta 0.8 % del aceite y se esterilizaron por filtración con membranas de 0,45 µm.

Se evaluó la actividad antifúngica del aceite de *C. nardus* mediante la determinación de la Mínima Concentración Inhibitoria (MCI), por el método de las diluciones seriadas dobles decrecientes (Jorgensen *et al.*, 1993). Se utilizó medio de cultivo Agar Papa Dextrosa (PDA). En el centro de cada placa de Petri se colocó un disco de micelio de siete milímetros de diámetro proveniente de una colonia crecida durante 7 días. Se realizaron dos réplicas de cada concentración. Las mismas se incubaron a 28 °C y oscuridad constante durante 14 días. Se incluyeron placas con medio de cultivo, libres del aceite esencial como control de crecimiento. Se determinó la menor concentración del aceite esencial que inhibió

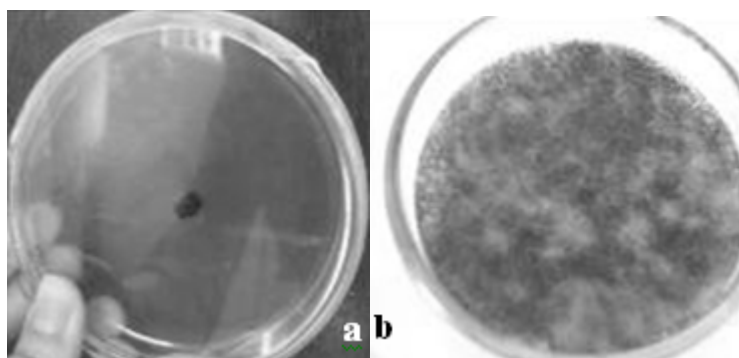
completamente el crecimiento fúngico, la cual fue tomada como MCI.

Se utilizó un lote de semillas de frijol (descalificadas), de la variedad Borinquen jaspeado, infectadas naturalmente con *Macrophomina phaseolina*, provenientes del frigorífico de la Planta de beneficio de semillas y granos de Esperanza, Villa Clara, Cuba. Se utilizaron 200 semillas para la evaluación de la actividad antifúngica del aceite esencial. Este ensayo se realizó en el Laboratorio de Sanidad Vegetal de Santa Clara, Villa Clara, Cuba, mediante el análisis de cámara húmeda con congelación, según técnica recomendada por la *International Seed Testing Association* (ISTA).

Se determinó la presencia o no de contaminantes fúngicos y se determinó el porcentaje de aparición en cada caso, en semillas tratadas (remojadas durante 20 minutos) con aceite esencial de *C. nardus* al 25 % (8 veces la MCI) y sin tratar (control).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El aceite esencial de *C. nardus* mostró actividad antifúngica frente al hongo *Macrophomina phaseolina*, expresada en la capacidad de inhibir el crecimiento de esta cepa a una concentración de 1,5 %. (figura 1a y b).



**Figura 1. a:** Inhibición del crecimiento fúngico de *Macrophomina phaseolina* frente al aceite esencial de *Cymbopogon nardus* a una concentración del 1.5 % (MCI) del aceite a los 7 días de evaluación. **b:** Control de crecimiento de *Macrophomina phaseolina* en medio de cultivo PDA libre del aceite esencial de *Cymbopogon nardus*

En experimentos anteriores se había evaluado la susceptibilidad de *Macrophomina phaseolina* frente a los compuestos fungicidas siguientes:

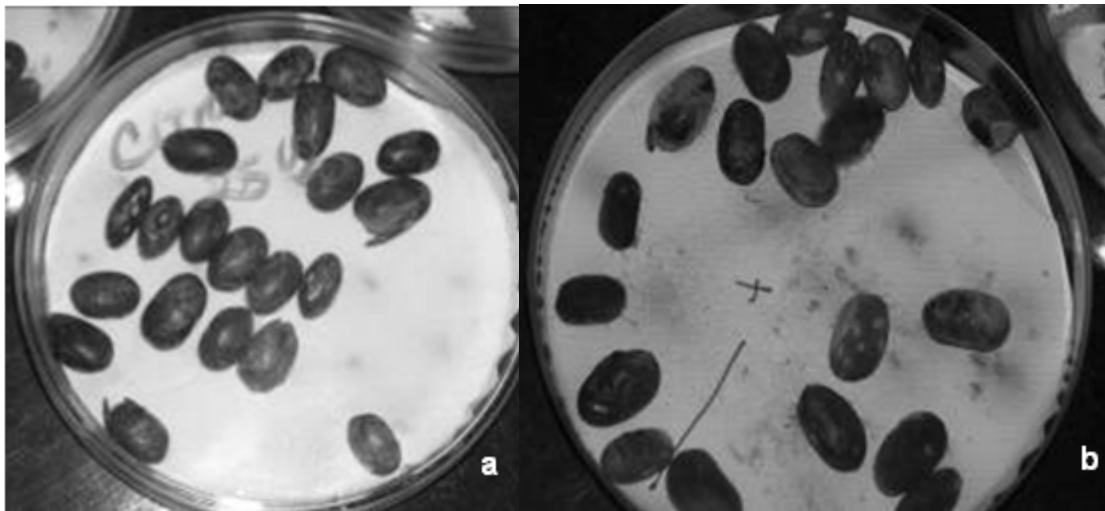
Silvacur combi CE30 (Tebuconazol 22,5 + Triadimenol 7,5), Fundazol PH50, Galben PH73, Folpan PH 80, Cupraflow, Zineb PH 75, Mancozeb PH 80, Fundazol PH80, Ridomil PH72 y Amistar SC 25, a una concentración de 5120 ug/ml. Como resultado, no se observó actividad antifúngica de ninguno de estos compuestos comerciales probados frente a *M. phaseolina*.

Otros autores han evaluado productos de origen natural con actividad antifúngica para el control de este patógeno. Por ejemplo, Shimoni *et al.* (1996), probaron la actividad antifúngica de aceites esenciales de *Majorana syriaca*, *Satureja thymbra*, *Micromeria fruticosa* y *Salvia triloba*, contra *Macrophomina phaseolina* y *Fusarium oxysporum*. Los resultados mostraron un efecto fungistático en el crecimiento del hongo *Macrophomina phaseolina* usando 1; 2,5 y 5 ul del aceite esencial al 100 %, mientras que el aceite de *C. nardus* utilizado en este trabajo, controló el crecimiento de la cepa de *M.*

*phaseolina* a una concentración menor.

En este sentido autores como Begum *et al.* (2004) evaluaron la actividad antifúngica de un compuesto aislado del extracto del rizoma de *Acorus calamus* contra tres hongos fitopatógenos: *Macrophomina phaseolina*, *Curvularia lunata* y *Alternaria alternata*. Este compuesto inhibió completamente el crecimiento del 100 % de los hongos utilizados a una concentración de 400 µg/mL.

En la evaluación de la actividad antifúngica del aceite esencial de *C. nardus* al 25%, no se observó contaminación fúngica del patógeno *M. phaseolina* y ocurrió de igual forma para los otros contaminantes observados en el tratamiento control (sin tratar), el cual mostró los resultados siguientes: presencia de *M. phaseolina* en un 25 % de las semillas evaluadas y otros contaminantes como *Fusarium* sp. en un 7 %, *Aspergillus* en un 6 % y *Penicillium* sp. en un 3 % (figura 2 a y b).



**Figura 2. a: Semillas de frijol variedad Borinquen jaspeado, infectadas naturalmente, tratadas con el aceite esencial de *Cymbopogon nardus* al 25 %. (Control) b: Semillas de frijol variedad Borinquen jaspeado, infectadas naturalmente, sin tratar (control)**

Este patógeno produce graves afectaciones a las semillas y se disemina a las áreas de plantación donde contamina los suelos. (Tarakanta *et al.*, 2005)

Para el control de este patógeno se utilizan comúnmente compuestos químicos comerciales, tal y como refieren autores como Pérez y Muiño (1995) quienes utilizaron Tebuconazol a las concentraciones de 0,5 g l<sup>-1</sup> y 0,25 g l<sup>-1</sup> y lo recomiendan para el tratamiento de semillas por

su acción tóxica sobre Deuteromicetes, ya que inhibe el crecimiento de los tubos germinativos.

Según Raza *et al.* (1993) y Obreque (2004) el Benomyl inhibe el crecimiento y esporulación de *Fusarium* y es excelente para el tratamiento de semillas por su acción sistémica. Pozo (1990) obtuvo buenos resultados empleando Thiram en tratamientos a la semilla en la variedad de frijol Carioca en el control de enfermedades radicales. Ambos ingredientes activos se recomiendan en *la*

*Lista Oficial de Plaguicidas Autorizados* en el país para el tratamiento de semillas.

No obstante, se buscan nuevos compuestos de origen natural para el control de este patógeno, con el fin de atenuar o eliminar el uso de estos compuestos químicos y sus efectos negativos para el medio ambiente, a la vez que resultan una opción no viable económicamente, para pequeños productores.

## CONCLUSIONES

El aceite esencial de *C. nardus* controla el crecimiento del hongo *M. phaseolina*, tanto *in vitro* como en semillas infectadas naturalmente por lo que estos resultados pueden constituir un punto de partida para el desarrollo de estrategias para el control de este patógeno a partir de este producto natural, realizando todas las evaluaciones previas que avalen su uso.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Begum, J.; H. Sohrab; Md. Yusuf; J.U. Chowdury *et al.*: "In vitro Antifungal Activity of Azaron Isolated from the Rhizome Extract of *Acorus calamus* L. Pakistan J. Biological Sciences 7(8):1376-1379, 2004
2. Jorgensen, J.H; R. Cleeland; W.A Craig; G. Doern *et al.*: Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically-Third Edition; Approved Standard, en NCCLS document M7-A3. 13, 25. NCCLS, 771 East Lancaster Avenue, Villanova, Pennsylvania.
3. Saikia, D.; S. P. S. Khanuja; A. Kahol; S. Gupta and S. Kumar: Comparative antifungal activity of essential oils and constituents from three distinct genotypes of *Cymbopogon spp.* Genetics Resources and Biotechnology Division, Central Institute of Medicinal and Aromatic Plants, PO CIMAP, Lucknow 226 015, India, 2001.
4. Shimoni, M.; E. Putievsky; U. Ravid; R. Ruveni: "Antifungal activity of volatile fractions of essential oils from four aromatic wild plants in Israel," *J Chem Ecol.*19, 1129-1133, 1993.
5. Partridge, D.: *Macrophomina phaseolina* [en línea] En: *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid.htm [consulta: 7 de junio de 2007]

6. Tarakanta, J. S. Tilak and S. Nagendra: "SSR-based detection of genetic variability in the charcoal root rot pathogen *Macrophomina phaseolina*," *Mycol. Res.* 109 (1): 81-86, 2005.

7. Stefanova, M.: Producción y aplicación de *Trichoderma spp.* como antagonista de hongos fitopatógenos. [en línea] En: <http://www.aguascalientes.gob.mx/codagea/produce/TRICHODE.htm>. [consulta: Noviembre 2006], 2006.

8. Pérez L. y B. Muiño: Seminario teórico-práctico sobre fungicidas y resistencia a fungicidas. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal, La Habana, 42 pp., 1995.

9. Raza, T; M. I Ahmed and M. A. Masir: "Extent of infection of *Fusarium moniliforme* Sheld in different rice seed samples an *in vitro* effect in if certain fungicides on the fungus," *Sarhad Journal of Agricultural.* 9(3): 231-233, 1993.

10. Obreque, M.: Evaluación de aplicaciones preinfección del fungicida Benomil y del biocontrolador *Trichoderma harzianum* en el control de *Fusarium sp.* en Proteáceas, Tesis presentada en opción al título de Ingeniero Agrónomo, Universidad de Talca, Chile, 2004.

Recibido: 17/septiembre/2007

Aceptado: 11/abril/2008