

EFECTO DE EXTRACTOS VEGETALES SOBRE EL CRECIMIENTO *In Vitro* DE HONGOS FITOPATÓGENOS

Aida T. Rodríguez, Daysi Morales y M. A. Ramírez

ABSTRACT. Many botanical species show a regulatory action on a wide range of pests and diseases. This effect has been associated to the presence of a group of secondary metabolites at the different parts of plants. These substances provide them with a natural antimicrobial protection. So, the possibility to use these substances in the integrated pest management is studied in this paper. Hydroalcoholic plant extracts of *Acacia farnesiana*, *Parthenium hysterophorus* and *Pluchea carlinensis* were obtained. The corresponding qualitative chemical analysis was performed by a phytochemical screening and the antifungal effect of each extract was also determined on four phytopathogenic fungi by means of micelial growth inhibition percentage through time. Results showed that the three plant extracts have a high antifungal activity on *Pyricularia grisea* and *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*. Its effect on other fungi depends upon the kind of plant extract and evaluative time. Besides, all extracts proved to have renowned antimicrobially active metabolites in their chemical composition.

RESUMEN. Muchas especies botánicas muestran una acción reguladora sobre un gran número de plagas y enfermedades. Este efecto se ha atribuido a la presencia de un grupo de metabolitos secundarios en las diferentes partes de las plantas que les confieren una protección natural; por ello se estudia la posibilidad que sean utilizados en el manejo integrado de plagas y enfermedades. En este trabajo se obtuvieron extractos hidroalcohólicos de las especies vegetales: aroma amarilla (*Acacia farnesiana*), escoba amarga (*Parthenium hysterophorus*) y salvia cimarrona (*Pluchea carlinensis*). Se les realizó el correspondiente análisis químico cualitativo mediante un tamizaje fitoquímico y se determinó el efecto antifúngico de cada extracto sobre cuatro hongos fitopatógenos mediante el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial en el tiempo. Se encontró que los tres extractos tienen elevada actividad antifúngica sobre el hongo *Pyricularia grisea* y *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* y la actividad para el resto de los hongos depende del tipo de extracto y el tiempo de evaluación. Adicionalmente, se comprobó que todos los extractos tenían en su composición química metabolitos de reconocida actividad antimicrobiana.

Key words: bioplaguicidas, crop extracts, antifungal activity

Palabras clave: bioplaguicidas, extractos vegetales, actividad antifúngica

INTRODUCCIÓN

El empleo de extractos vegetales para el control de plagas y enfermedades en el marco de una agricultura sostenible constituye una alternativa promisoría, debido a su elevada efectividad, bajo costo y no ser contaminantes del ambiente.

Estos bioproductos se caracterizan por la presencia de determinados compuestos de origen natural, los cuales forman parte de las estrategias defensivas de las plantas (1) y son agrupados en compuestos nitrogenados, fenólicos y terpenoides (2). Dichos compuestos le proporcionan importantes características a los extractos, como son antiapetitivos (3), antivirales, antimicrobianos o repelentes, que permiten su utilización para proteger los cultivos e incrementar la calidad y su producción

alimentaria, ya que tienen la propiedad de ser menos tóxicos y más fácilmente degradables (4).

El uso de plantas consideradas malezas, tales como la aroma amarilla (*Acacia farnesiana*) y la escoba amarga (*Parthenium hysterophorus*), las cuales compiten con los cultivos por el espacio, los nutrientes y la luz solar, resulta una fuente económica e interesante para la obtención de extractos vegetales con actividad antimicrobiana (5).

Esta alternativa contribuye además a la explotación y disminución de estas especies que, de lo contrario, deben ser eliminadas de los campos sin ningún provecho para la economía.

No solo extractos de algunas malezas han recibido la atención de los investigadores sino los provenientes de algunas plantas medicinales poco estudiadas como la salvia cimarrona (*Pluchea carlinensis*), de los que se han encontrado aplicaciones importantes.

Teniendo en cuenta lo anteriormente expuesto, en el presente trabajo se determinó la actividad inhibitoria de extractos vegetales sobre algunos hongos fitopatógenos y se realizó el análisis químico cualitativo de los extractos obtenidos.

Aida Tania y M. A. Ramírez, Investigadores de la Estación Experimental de Arroz «Los Palacios»; Daysi Morales, Especialista del Departamento de Fisiología y Bioquímica, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, Gaveta Postal 1, San José de las Lajas, La Habana, Cuba.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de los extractos. El material vegetal empleado consistió en hojas adultas de las especies: aroma amarilla (*Acacia farnesiana*), escoba amarga (*Parthenium hysterophorus*) y salvia cimarrona (*Pluchea carlinensis*), las que se recolectaron en horas tempranas de la mañana, encontrándose las plantas en la fase fenológica vegetativa.

Las hojas se lavaron con agua, se secaron a una temperatura de 30 a 35°C, durante tres días, según la metodología descrita en la Dirección de Ciencia y Técnica. Posteriormente se pulverizaron en molino foliar; se mezclaron 30 g del material vegetal con 30 mL de alcohol etílico al 35 % (v/v) que se maceró durante cuatro días.

Ensayo de actividad antifúngica. Para este ensayo se emplearon las siguientes cepas:

- ❖ *Stemphylium solani* Weber
- ❖ *Fusarium oxysporium* var. *lycopersicum*
- ❖ *Pyricularia grisea*
- ❖ *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*.

Todos los hongos se cultivaron sobre el medio de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA) a pH=5.7, con alternancia de luz y oscuridad (16 y 8 horas respectivamente) y a una temperatura de 26 a 28°C durante siete días.

Tratamientos. Estos consistieron en:

- ❖ extracto hidroalcohólico de escoba amarga
- ❖ extracto hidroalcohólico de aroma amarilla
- ❖ extracto hidroalcohólico de salvia cimarrona
- ❖ control (etanol al 35 %).

El ensayo se llevó a cabo envenenando 20 mL del medio papa-dextrosa-agar (PDA) con 1 mL de cada extracto. El medio envenenado fue distribuido en placas *Petri* que posteriormente se inocularon con un disco de micelio de 0.8 cm de diámetro.

Las evaluaciones se realizaron al tercer, quinto y séptimo días posteriores a la inoculación, en las que se determinó el crecimiento micelial midiendo el diámetro de cada colonia y determinando el promedio de los micelios.

Se realizó un diseño completamente aleatorizado y con tres repeticiones por tratamiento. Para realizar el análisis estadístico, los datos originales se transformaron por la fórmula $\arcsen\sqrt{\%}$. Las medias de los tratamientos se compararon por la prueba de rango múltiple de Duncan con un nivel de significación de 0.05.

Análisis químico cualitativo de los extractos. Se siguió el procedimiento descrito por la Dirección de Ciencia y Técnica para el análisis fitoquímico, con el objetivo de conocer la composición química de los diferentes extractos.

Los ensayos realizados a los materiales vegetales fueron los siguientes:

Ensayos	Compuestos determinados
Shinoda	Flavonoides
Cloruro Férrico	Fenoles
Gelatina	Taninos
Ninhidrina	Aminoácidos
Lieberman-Burchard	Triterpenos
Bornträger	Quinonas
Mayer	Alcaloides
Espuma	Saponinas

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El efecto de los extractos vegetales sobre el crecimiento del hongo *Pyricularia grisea* se observa en la Figura 1. Como puede apreciarse todos los extractos hidroalcohólicos de las diferentes especies vegetales mostraron total inhibición sobre el crecimiento micelial del hongo desde la primera evaluación. Todos los tratamientos difirieron significativamente del control, pero no así entre ellos. Se ha encontrado efecto similar sobre el mismo hongo (6), pero con extractos de albahaca y limón persa, lo cual sugiere que existen compuestos en todos estos extractos que afectan considerablemente el crecimiento del hongo.

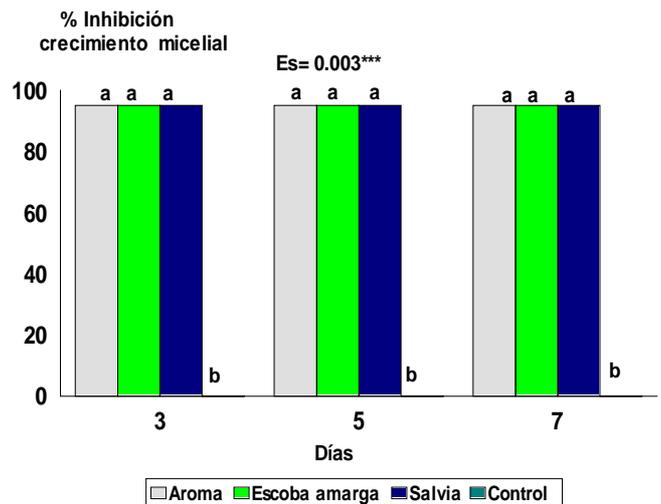


Figura 1. Efecto de los extractos sobre el crecimiento micelial del hongo *Pyricularia grisea*

En la Figura 2 se muestra el efecto de los tratamientos sobre el hongo *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*. Los tres extractos utilizados no tuvieron diferencias significativas entre ellos en su efecto sobre el hongo, en ninguna de las evaluaciones realizadas, pero sí en todos los casos con el tratamiento control.

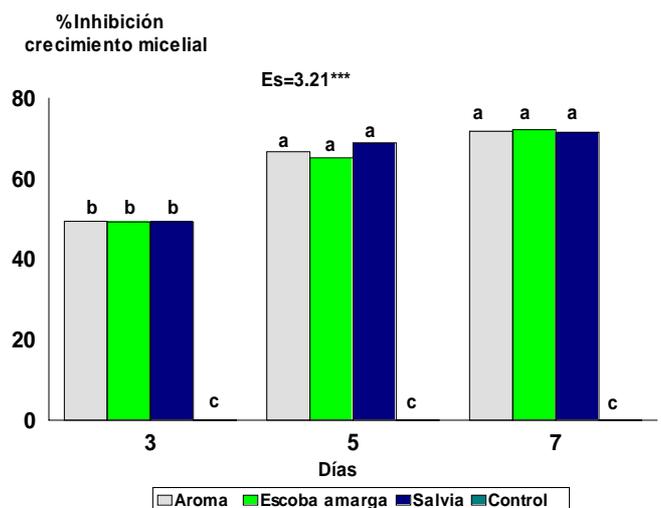


Figura 2. Efecto de los extractos sobre el crecimiento micelial del hongo *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*

Se observó, además, que la inhibición de los extractos al quinto y séptimo días fue superior al tercer día después de la inoculación con respecto al control.

Los resultados encontrados sugieren que en estos extractos también existen compuestos que afectan el crecimiento del hongo *Phytophthora parasitica*, llegando a alcanzar un porcentaje de inhibición de 63 %.

Por su parte en el análisis del efecto en el tiempo de los diferentes extractos sobre el hongo *Fusarium oxysporium*, que se presenta en la Figura 3, se aprecia que todos los extractos tuvieron mayor inhibición que el tratamiento testigo. En todos los casos, el porcentaje de inhibición aumentó en todas las evaluaciones a medida que transcurrió el tiempo y se observaron algunas diferencias significativas entre los tratamientos.

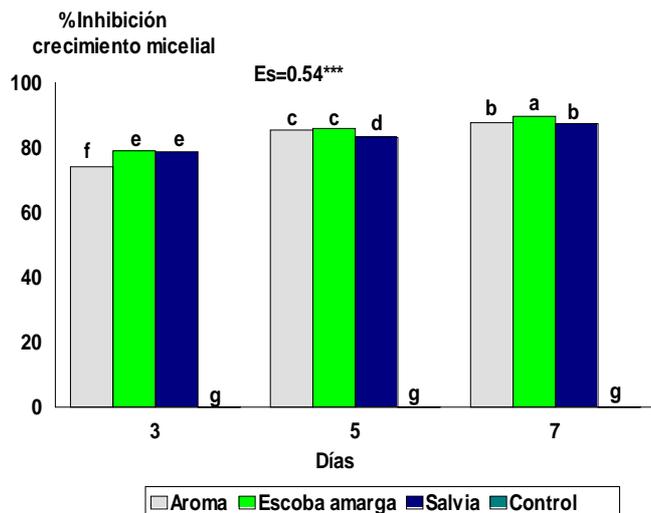


Figura 3. Efecto de los extractos sobre el crecimiento micelial del hongo *Fusarium oxysporium* var. *Lycopersicum*

Al tercer día los extractos de escoba amarga y salvia cimarrona provocaron mayor inhibición respecto al extracto de aroma. En la segunda evaluación al quinto día después de la inoculación, fueron la escoba amarga y la aroma los mejores tratamientos, encontrándose diferencias significativas con la salvia; sin embargo, al séptimo día el extracto de escoba amarga resultó mejor que el resto de los tratamientos y no se encontraron diferencias entre la aroma y la salvia.

Se ha demostrado (7) que el género *Parthenium* tiene actividad fungistática, por lo que este resultado corrobora este planteamiento.

En la Figura 4 se representa el efecto de los extractos en el tiempo sobre el crecimiento micelial del hongo *Stemphylium solani* Weber, patógeno de cultivos tales como la lechuga y el tomate.

Todos los extractos mostraron inhibición del crecimiento del hongo, con diferencias significativas respecto al tratamiento control.

Al tercer día después de la inoculación, el extracto de aroma provocó mayor efecto que el correspondiente a la escoba amarga y la salvia cimarrona, no existiendo diferencias entre ambos.

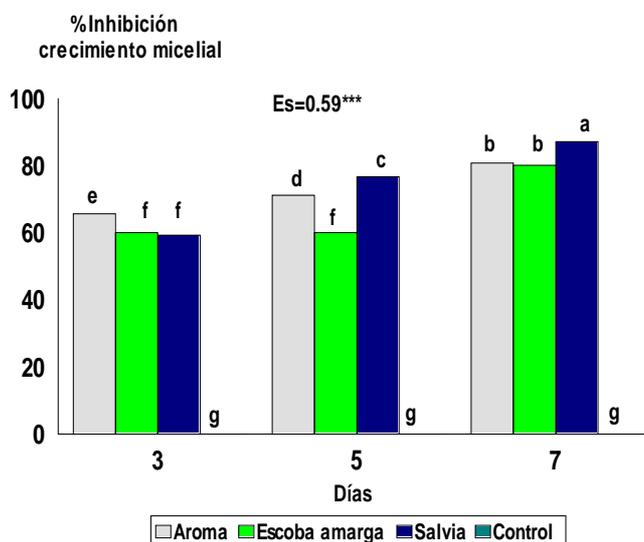


Figura 4. Efecto de los extractos vegetales sobre el crecimiento micelial del hongo *Stemphylium solani* Weber

Al quinto día, el extracto de salvia exhibió un mayor efecto inhibitorio que el resto de los extractos y mientras el extracto de aroma tuvo una inhibición superior que el correspondiente a la escoba amarga. Por su parte al séptimo día se aprecia que la salvia mantuvo su efecto fungitóxico, pues su inhibición fue superior a la encontrada en las anteriores evaluaciones estadísticas, además de ser su efecto superior al resto de los extractos que no mostraron diferencias entre sí.

Se ha publicado acerca de la actividad antimicrobiana de una variedad de salvia (8), que está en correspondencia con los resultados obtenidos.

Análisis químico cualitativo. Este estudio comprende un conjunto de ensayos y técnicas sencillas, que aunque no brinda un resultado concluyente debido a los factores que pueden influir como la época de recolección, el estado vegetativo de la planta, las características del suelo, el clima, la calidad de reactivos, entre otros, sí nos da una idea general sobre la composición química de las plantas.

Los compuestos encontrados en cada uno de los extractos se muestran en la Tabla I.

Tabla I. Análisis químico cualitativo de los extractos

Compuestos	Aroma	Salvia	Escoba amarga
Flavonoides	+	+	+
Fenoles	+	+	+
Taninos	+	+	+
Aminoácidos	+	+	+
Triterpenos	+	+	+
Quinonas	+	+	-
Alcaloides	+	+	-
Saponinas	+	+	+

(+) - Resultado positivo
 (-) - Resultado negativo

Como puede observarse, los tres extractos vegetales contienen: flavonoides, fenoles, taninos, aminoácidos y saponinas; excepto el proveniente de la escoba amarga, en los demás también se detectaron quinonas y alcaloides.

La inhibición del crecimiento micelial exhibida por los extractos se debe a la presencia de algunos de estos metabolitos, como los flavonoides, que son un grupo de compuestos de amplio rango de actividad biológica, que incluye la actividad antimicrobiana, antiviral, atrayente de polinizadores, protectora de las plantas contra la luz ultravioleta y antioxidantes, entre otras (9)(10)(11)(12).

También los fenoles y taninos son compuestos de reconocida actividad antimicrobiana, antiviral, repelentes de insectos (10)(12)(13)(14).

Por su parte, se ha publicado que los terpenos tienen actividad insecticida, acaricida y fungicida al igual que las saponinas (9)(15).

Debe señalarse que aunque el extracto correspondiente a la escoba amarga no presentó quinonas y alcaloides en su composición química, mantuvo una elevada inhibición sobre el crecimiento micelial de los diferentes hongos.

En sentido general, puede plantearse que la actividad de los extractos no solo se debe a la presencia sino también a la concentración de algunos metabolitos que se han identificado en el análisis químico cualitativo y se les atribuyen propiedades antimicrobianas.

Este es uno de los primeros trabajos en Cuba donde se publica la actividad antifúngica de estos extractos vegetales contra los hongos fitopatógenos estudiados. En próximas investigaciones se continuará con el aislamiento de los diferentes grupos de compuestos constituyentes de estos extractos, con el objetivo de ver cuáles de ellos son los principales responsables de la actividad antifúngica sobre los diferentes hongos, en qué concentración se encuentra en la planta y cuál es la dosis efectiva para su aplicación. Este hecho abre la posibilidad de que estos metabolitos puedan ser utilizados como principios activos en la formulación de bioplaguicidas.

REFERENCIAS

1. Villalobos, M. J. Plaguicidas de origen vegetal. Estado actual de la investigación. 1996.
2. Harborne, J. B. Phytochemical Dictionary. Handbook of bioactive compound from plants. *Taylor and Francis*, 1993, p. 791.
3. Domini, M. E., et al. Evaluación preliminar del efecto antiapetitivo de diferentes extractos vegetales. En *Bioplag'95*. Resúmenes. 1995, p. 83.
4. Funes, F. Experiencias cubanas en agroecología. *Revista Agricultura Orgánica*, agosto-diciembre, 1997, p. 10-18.
5. Lara, M. C, et al. Efectos de extractos de *Parthenium hysterophorus L.* contra larvas de *Spodoptera frugiperda* (J. E Smith). En *Bioplag'95*. Resúmenes 1995, p. 67.
6. Tewari, R. Plant extract against four phytopathogenic fungi; the rice. *Indian Perfum*, 1995, vol. 39, no. 2.
7. Maatooq, G. T. Fungistatic sesquiterpenoids from *Parthenium*. *Phytochemistry*, 1996, vol. 43, no. 1, p. 67-69.
8. Masterova, I., et al. Royleanones in the root *Salvia officinalis* of domestic provenance and their antimicrobial activity. *Ceska A. Slovenska Farmacie*, 1996, vol. 45, no. 5, p. 242-245.
9. Al Salch, F. S. Flavonoids, saponins, terpenes, tannins have antimicrobial activity. *Pharmacogn International Journal of Pharmacognosy*, 1997, vol. 35, no. 1, p. 38-42.
10. Peris, J. B. *Fitoterapia Aplicada*, 1995, vol XII, no. 2.
11. Seniader, K. Flavonoids of rare artemisia species and their antifungal properties. *Fitoterapia*, 1996, vol. XVII, no. 1.
12. Tahiz L. *Plant Physiology*, 1992, p. 333-336.
13. Ayaiyeoba, E. O. Anthelmintic activity of a root extract of *Ritchiea Capparoides var. Longipedicellata*. *Phytoterapy Research*, 1996, vol. 10, no. 5, p. 436-437.
14. Suzuki, Y. Isolation of 5(8-heptadecenyl)-resorcinol from etiolated rice seedlings as an antifungal agent. *Phytochemical*, 1996, vol. 41, no. 6.
15. Favel, A. Screen of triterpenoid saponins for antifungal activity. *Planta Medica*, 1992, p. 635-636.

Recibido: 12 de julio de 1999

Aceptado: 26 de noviembre de 1999