Agroecosistemas

Vol.3 No.1: 379- 386, 2015

Efectividad biológica in vitro de extractos naturales de plantas en el control del hongo *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid

Biological effectiveness in vitro of natural plant extracts in the control of fungus *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid

Raúl Águila Abreu[1], Marisela Almarales Antunez[2] María Elena Lorenzo Nicao[2]

Resumen

El uso de plaguicidas de origen natural ha adquirido gran importancia en la agricultura como una alternativa para reducir el consumo de productos químicos, la contaminación del medio ambiente y el desequilibrio en los ecosistemas. Teniendo en cuenta esta problemática el presente estudio se realizó en el Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal de Cienfuegos desde el 2010 al 2011, con el objetivo de evaluar el efecto de diferentes extractos de hojas de las especies de plantas: moringa (*Moringa oleífera* Lam), noni (*Morinda citrifolia* L), eucalipto (*Eucalyptus sp),* higuereta (*Ricinus communis* L), paraíso (*Melia azedarach* L) y el nim (*Azadirachta indica* A. Juss) in vitro sobre la inhibición del crecimiento del hongo *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid causante de la pudrición carbonosa de la raíz. Se realizaron siembras del hongo obtenido a partir de un cultivo puro con cinco días de incubación en medio de cultivo agar - papa - dextrosa, evaluándose el crecimiento radial de las colonias a los tres, siete y diez días. Se probaron las concentraciones del 80, 50 y 25% sobre un diseño experimental completamente aleatorizado. En todos los momentos evaluados y con la menor concentración empleada los extractos de paraíso (*Melia azedarach* L), moringa (*Moringa oleífera*) y nim (*Azadirachta indica* A. Juss) fueron los de mejor comportamiento con efectividades superiores al 60 % mostrando el paraíso (*Melia azedarach* L) valores superiores al resto de los extractos, mientras que la moringa (*Moringa oleífera*) presentó mejor comportamiento a partir del 50 % de concentración.

Palabras clave: Plaguicidas naturales, patógeno, *Macrophomina*, extractos, actividad inhibitoria.

Abstract

The use of naturally pesticides has acquired great importance in agriculture as an alternative to reduce chemical consumption and therefore reduce environmental pollution and ecosystem imbalance, considering this problem, the present study conducted in the Provincial Laboratory of plant Protection of Cienfuegos during the period 2010-2011, whith the objective of evaluating the effect of different extracts of leaves of the plant species: moringa (*Moringa oleifera* Lam), noni (*Moringa citrifolia* L), eucalyptus (*Eucalyptus* sp), higuereta (*Ricinus communis* L), paradise

[1] **Dirección Protección Fitosanitaria Cienfuegos, Carretera a Palmira Km 4½. Cienfuegos. Email:** esp.nematologia@sanveg.co.cu

[2] **Laboratorio Provincial Sanidad Cienfuegos, Carretera a Palmira Km 4½. Cienfuegos.**

(*Melia azedarach* L) and neem (*Azadirachta indica* A. Juss) on the in vitro growth inhibition *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid causing charcoal root rot the fungus obtained from a pure culture five days of incubation performed in culture medium was planted potato, dextrose agar, evaluating the radial growth of the colonies after three, seven and ten days. The concentration of 80, 50 and 25% of each extract were tested and evaluate in experimental complety randomized design. At all times and the lowest concentration used tested extracts paradise (*Melia azedarach* L), moringa (*Moringa oleifera*) and neem (*Azadirachta indica* A. Juss) were the best performers with effectivities 60% higher, showing the paradise (*Melia azedarach* L) values higher than other extracts, while the moringa (*Moringa oleifera* showed better performance from 50% concentration.
Keywords: Botanical pesticides, pathogen alternatives concentrations inhibitory activity (*Ricinus communis* L), paradise (*Melia azedarach* L) and neem (*Azadirachta indica* A. Juss) on the in vitro growth inhibition *Macrophomina phaseolina*).

Introducción

Desde tiempos remotos, los seres humanos se han beneficiado de las propiedades medicinales de algunas especies de plantas; pero ciertas representantes del reino vegetal no sólo tienen un resultado positivo sobre la salud de las personas, sino que también pueden “curar” otras plantas que padecen enfermedades provocadas por hongos, virus y bacterias (Pradas, 2006).

En el mundo se reportan varios cientos de plantas con acción biocida, los productos a base de plantas con estas propiedades aplicados tanto preventivamente como para afrontar un ataque significativo de las plagas, respetan el principio de la no perturbación de los agroecosistemas mediante la aplicación de tecnologías convencionales de alto costo energético, además las sustancias activas de las plantas silvestres permiten una protección natural y son rentables si se utilizan de forma aceptada y lógica (Puentes *et al*., 2004).

Hernández (2006) refiere que son múltiples los organismos nocivos que resultan de interés en el marco agrícola y entre ellos se encuentran las enfermedades asociadas a hongos que viven en el suelo, destacando la pudrición carbonosa de la raíz producida por *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. la cual posee como hospedantes alrededor de 300 plantas en todo el mundo agrupadas en 75 familias. Por lo que el objetivo del presente trabajo es evaluar la efectividad de extractos vegetales para el control de *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid.

Materiales y métodos

La presente investigación se realizó en el Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal de Cienfuegos, en el periodo comprendido desde el año 2010-2011.

Obtención del extracto vegetal

El material vegetal utilizado de las diferentes especies de plantas fue colectado en áreas urbanas y suburbanas del municipio Cienfuegos. En la Tabla 1 se reporta el nombre científico y común de las plantas usadas en la investigación.

Tabla 1. Nombre científico y común de las plantas usadas en la investigación.

Nombre Común	Nombre Científico
Moringa	*Moringa oleífera* Lam
Noni	*Morinda citrifolia* L.
Eucalipto	*Eucalyptus sp*
Higuereta	*Ricinus communis* L.
Paraíso	*Melia azedarach* L
Nim	*Azadirachta indica* A. Juss

Para la obtención de los extractos de cada planta se tomaron hojas jóvenes, las cuales se secaron al sol por un periodo de 7 días, una vez secas se trituraron por el método de maceración para la obtención del producto en polvo, utilizando una malla fina de 0,5 mm. Posteriormente se tomó la cantidad de 80, 50 y 25 g respectivamente para obtener las diferentes concentraciones de la solución concentrada, para lo cual se utilizaron erlermeyers de 100 mL y se completaron con agua destilada estéril con las cantidades de 20, 50 y 75 mL respectivamente. Posteriormente se dejaron reposar por 24 horas a temperatura ambiente, se realizó el filtrado a través de una gasa estéril para obtener el extracto puro de cada especie de planta. A partir de la solución concentrada obtenida se tomaron las cantidades de 8,5, 2,5 mL para envenenar el medio de cultivo.

Evaluación del extracto vegetal

Para la evaluación del efecto de los extractos de las plantas de: (moringa, noni, eucalipto, paraíso, higuereta y nim) sobre el hongo *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid obtenido del cepario del Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal se estudiaron tres factores: extracto de plantas (seis niveles por cada especie), concentración (tres niveles), se montaron cuatro réplicas por concentración con el medio envenenado y un testigo sin medio envenenado. Posteriormente se realizó la siembra a partir de un cultivo puro de cinco días de edad, tomando un disco del inoculo de 0,5 cm de diámetro con un perforador (orador) y se situó cada uno con una aguja previamente esterilizada en cada placa con el tratamiento en cuestión. Las placas se incubaron a 25 ^{o}C ±2 en incubadora refrigerada. Las evaluaciones se realizaron a los tres, siete y diez días. El diámetro de las colonias en mm se midió por el método de crecimiento radial mediante una regla graduada. Con los datos obtenidos se calculó el porcentaje de inhibición mediante la fórmula de Abbott (Abbott, 1925).

Tratamiento de los datos

Para la realización de los ensayos “in vitro” se probaron las concentraciones de cada extracto de planta al 25, 50 y 80 % con cuatro repeticiones, empleándose un diseño experimental completamente aleatorizado.

Los datos obtenidos en porcentajes fueron transformados en 2 arcsen $\sqrt{p}$ y para el procesamiento estadístico se utilizó un análisis bifactorial. Las medias se compararon por Test de Duncan, previo análisis de homogeneidad de varianzas, se realizó la prueba no paramétrica de Komodorov Esmirnosv (coeficientes menores a 0,05) para determinar la normalidad de los datos. Se utilizó el paquete estadístico SPSS V 15 español (Windows)

Resultados y discusión

El análisis realizado con el objetivo de determinar la concentración más apropiada para el empleo de los extractos en estudio, manifestó en los tres momentos evaluados que la concentración al 80% fue la mejor presentando diferencia estadística con respecto al 25 y 50 % hasta los 10 días llegando a alcanzar un 80% de inhibición desde los tres días (Figura 1).

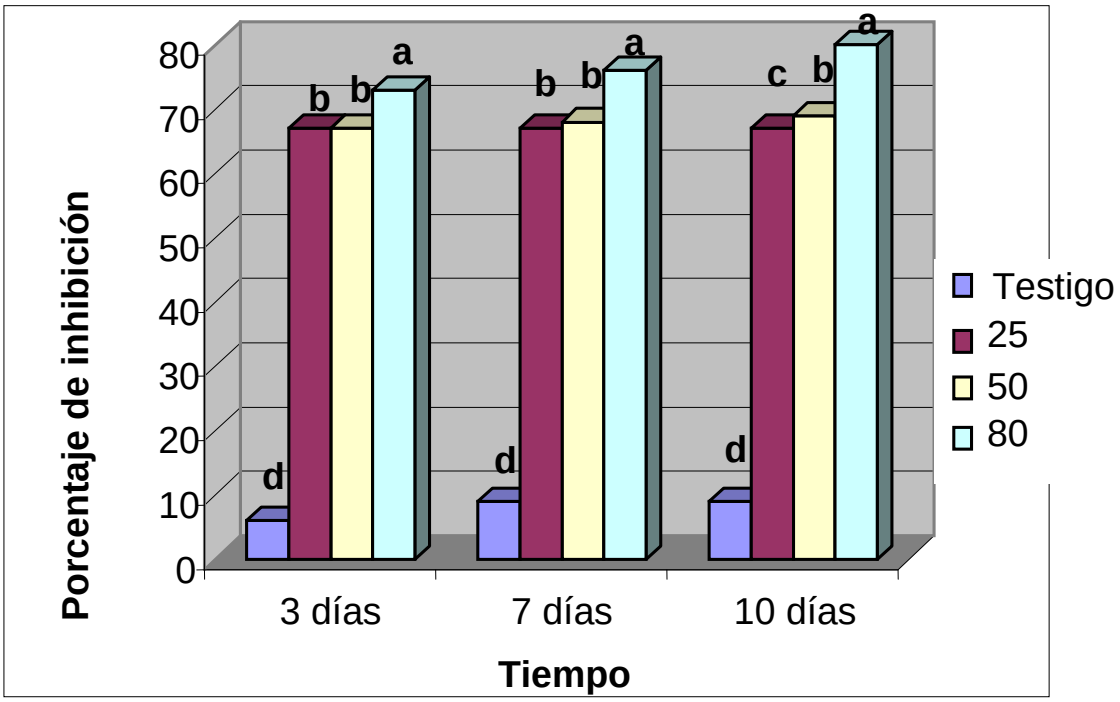

Figura 1. Porcentaje de inhibición.
*Letras desiguales difieren por Dócimas de Duncán para P< 0,05 (Lerch, 1977)
Figura 1. Inhibición del crecimiento de *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid a diferentes concentraciones de extractos naturales.

Los valores más altos de efectividad se obtuvieron con paraíso, seguido por la moringa y el nim (Figura 2). El porcentaje de inhibición de los extractos vegetales de estas plantas sobre *M. phaseolina* fue superior al 60%. La moringa y el paraíso a los tres días de encontrarse interactuando con el hongo, no manifestaron diferencia estadística entre ellos, pero si con el nim, eucalipto, higuereta y el noni incluyendo el testigo. Pasados siete días se observó que el paraíso presentó diferencia estadística con el nim, no siendo así a los 10 días donde si hubo diferencia entre éste y el resto de los extractos.

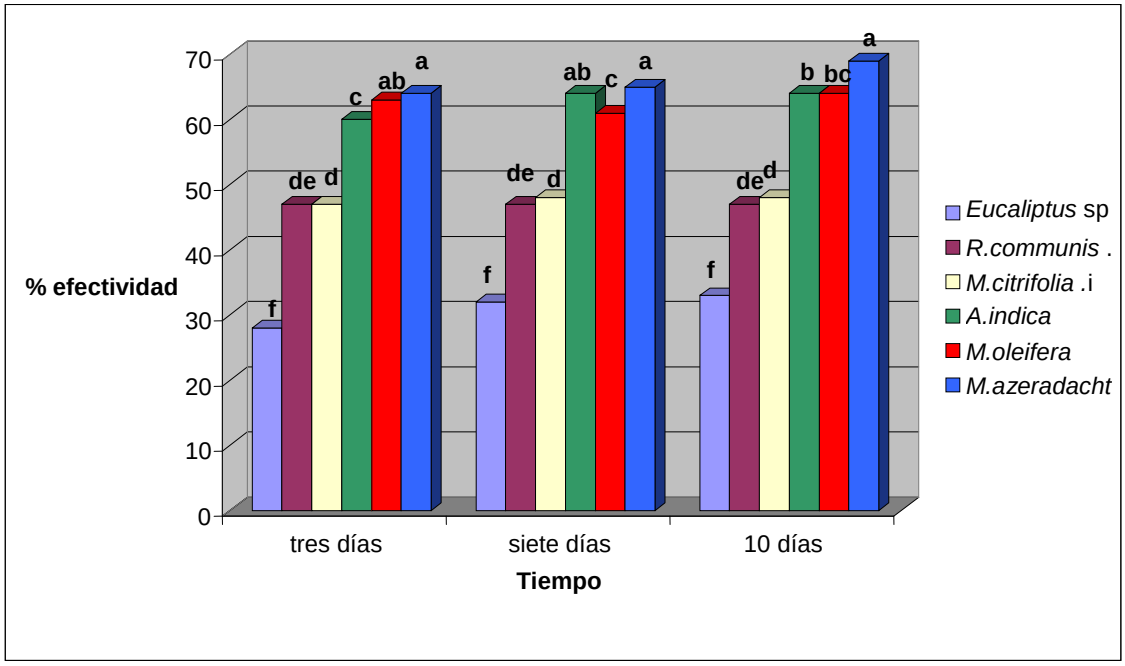

Figura 2. Valores más altos de efectividad en las plantas.
*Letras desiguales difieren por Dócimas de Duncán para P< 0,05 (Lerch, 1977)
Figura 2. Inhibición del crecimiento del hongo *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid de los diferentes extractos.

Los extractos de *Eucalyptus* sp.(eucalipto), *Azadirachta indica* A. Juss. (nim) y *Melia azedaracht* L. (paraíso) sobre el hongo *Sclerotium rolfii* Sacc. no resultaron satisfactorios al manifestar baja acción de los mismos sobre el patógeno (Ortega *et al*., 2007) .

Por otra parte Pérez *et al*., (2011) comprobaron “in vitro” que con hojas de *Melia azedarach* L (paraíso) y *Eucalyptus* sp (eucalipto) se logró la inhibición del crecimiento de diferentes aislados del género *Collectrotichum* sp causante de la enfermedad antracnosis.

A la dosis del 50% se observó que los mejores resultados se obtuvieron con la moringa que difirió estadísticamente del resto, exceptuando el tratamiento de esta al 80%, no obstante con respecto al paraíso no hubo diferencia estadística en ninguna de las concentraciones estudiadas, por lo que ambas especies a estas concentraciones presentaron buena efectividad sobre el hongo *M. phaseolina* seguidos por el nim (Tabla 2).

Tabla 2. Efectividad biológica de la interacción entre los diferentes tratamientos de extractos naturales y las concentraciones a los tres días.

Extractos	**Concentraciones %**			
	Testigo (0)	**25**	**50**	**80**
	X	**X**	**X**	**X**
Eucalipto	0,47 i	1,15 h	1,08 h	1,75 g
Noni	0,47 i	1,72 g	1,92 ef.	1,97 e
Higuereta	0,47 i	1,75 g	1,82 fg	1,82 g
Nim	0,55 i	2,17 d	2,20 cd	2,20 cd

Moringa	0,47 i	2,17 d	2,4 a	2,35 ab
Paraíso	0,55 i	2,25 bcd	2,30 bc	2,30 bc
E. T	0,17			
C.V	10,8			

* Letras desiguales difieren para P< 0,05 (Lerch, 1977).

A los siete días a pesar de no presentar diferencia estadística el nim, paraíso y la moringa en las tres concentraciones evaluadas el valor mayor de efectividad (2,4) en el porcentaje de inhibición del patógeno se correspondió con la moringa al 50% (Tabla 3).

Tabla 3. Efectividad biológica de la interacción entre los diferentes tratamientos de extractos naturales y las concentraciones a los siete días.

Extractos	**Concentraciones %**			
	Testigo (0)	**25**	**50**	**80**
	X	**X**	**X**	**X**
Eucalipto	0,60g	1,15f	1,12f	2,02bc
Noni	0,60g	1,67e	1,67e	2,2a
Higuereta	0,60g	1,75de	1,87cd	1,82de
Nim	0,60g	2,27a	2,3a	2,27a
Moringa	0,60g	2,12ab	2,4a	2,2a
Paraíso	0,60g	2,3a	2,3a	2,3a
E. T	0,17			
C.V	10,3			

* Letras desiguales difieren para P< 0,05 (Lerch, 1977).

A los 10 días la moringa al 50 y 80% y paraíso en las tres concentraciones no se observó diferencias, alcanzando porcentajes de inhibición sobre el crecimiento del hongo *M. phaseolina* muy similares a los obtenidos a los siete días. Con la concentración al 80% el porcentaje de inhibición se incrementó (Tabla 4).
Puente *et al.,* (2004), determinaron *in vitro* la actividad alelopática de las partes aéreas de *Wedelia trilobata* (L.) Hitchc. (botón de oro) sobre el crecimiento micelial del hongo fitopatógeno *Sclerotium rolfsii* Sacc con las diluciones 0,8 g/mL (80 %), 0,50 g/mL (50 %) y 0,25 g/mL(25 %) , presentando el mismo una fuerte actividad inhibitoria del crecimiento del hongo en todas las concentraciones, obteniendo el mejor control con el extracto al 50 % de concentración.

Tabla 4. Efectividad biológica de la interacción entre los diferentes tratamientos de extractos naturales y las concentraciones a los diez días.

Extractos	**Concentraciones %**			
	Testigo (0)	**25**	**50**	**80**
	X	**X**	**X**	
Eucalipto	0,60l	1,15i	1,12jk	2,02 g
Noni	0,60l	1,67j	1,67j	2,2dc

Higuereta	0,60l	1,75ij	1,87h	1,82 hi
Nim	0,60l	2,27bcd	2,3bc	2,3bc
Moringa	0,60l	2,17f	2,4a	2,35 ab
Paraíso	0,60l	2,4a	2,4a	2,4a
E. T**	0,17			
C.V	10,3			

*Letras desiguales difieren para P< 0,05 (Lerch, 1977).
**ET: Efectividad técnica

Conclusiones

1. En los tres momentos evaluados, tres, siete y 10 días todos los extractos ensayados a la concentración del 80% presentaron efectividades superiores al 60% *in vitro* en la inhibición del crecimiento del hongo *M. phaseolina* (Tassi) Goid, de igual forma se comportó la concentración al 25% con los extractos de paraíso (*Melia azedarach* L), moringa (*Moringa oleífera*) y nim (*Azadirachta indica* A. Juss).

2. Los extractos de paraíso (*Melia azedarach* L), moringa (*Moringa oleífera*) y nim (*Azadirachta indica* A. Juss) fueron los de mejor comportamiento obteniendo efectividades superiores al 60 % en los tres momentos evaluados. El paraíso (*Melia azedarach* L) mostró valores superiores al resto de los extractos en todas las concentraciones evaluadas sobre la inhibición de *M. phaseolina* en condiciones de laboratorio, mientras que la moringa (*Moringa oleífera*) presentó mejor comportamiento a partir del 50 % de concentración.

Referencias bibliográficas

Abbott, S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol. 18: pp. 264-267.

Hernández, M., Fuentes, V., Alfonso, M., Avilés, R., & Perera, E. (2001). Plaguicidas naturales de origen botánico. INIFAT.

Javaid, A., & Saddique, A. (2011). Control de la pudrición carbonosa de la raíz causada por Macrophomina en judía mungo utilizando estiércol de hojas. Comunicación corta. (p. 1-5). Recuperado de www.cicegraf.es/inia/sjar/sjar93/SJAR93_26esp.htm

Ortega, I., Castellanos, L., & Jiménez, R. (2007). Plantas forestales con propiedades repelentes y/o fitoplaguicidas en la agricultura urbana en Cienfuegos. Tesis en Opción al Titulo Académico de Master en Agricultura Sostenible.

Pérez, A., Rojas, J., Chamorro, L., & Pérez, K. (2011). Evaluación *in vitro* de la acitividad inhibitoria de extractos vegetales sobre aislados de *Collectotrichum* spp. Revista Acta Agronómica 60 (2). Recuperado de http://www.revista unal.edu.co

Puente, M., Robaina, M., Espinosa, R., Torres, S., & Herrera, L. (2004). Determinación del efecto del extracto de *Wedelia trilobata* (L.) Hitchc. sobre el crecimiento in vitro del hongo *Sclerotium rolfsii* Sacc. Centro Agrícola 31(1-2).

Pradas, M. (2006). Investigadores de la UCLA “curan” plantas de cultivo con extractos vegetales. Recuperado de http://boletin.uc.edu.ve/index.php?Itemid=14&id=4590&option=com_content&task=view

Rivera, M., Oramas, R., & Echavarría I. (2003). Posibilidades de control de enfermedades a partir de productos naturales y controles biológicos en las plantas medicinales. Memorias del Evento Agrobiología y Agroecología de las Plantas Medicinales. La Sierrita, Cumanayagua, Cienfuegos. Cuba. 3 al 5 de junio.

Recibido: 12/01/2015
Aprobado: 25/03/2015