

## Evaluación *in vitro* del efecto de extractos vegetales sobre el crecimiento micelial del hongo *Thielaviopsis paradoxa* (De Seyn.) Hohn. en piña

In vitro evaluation of plant extracts effect over mycelial growth of the fungus *Thielaviopsis paradoxa* (De Seyn.) Hohn. in pineapple

Z. Peña<sup>1</sup>, G. Muñoz<sup>1</sup> y N. Vargas<sup>2</sup>

Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas del estado Lara, Apartado 592 Km. 7 vía Duaca, sector El Cují.

Estudiante de postgrado Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía. Av. Universidad, Maracay, estado Aragua.

### Resumen

En la búsqueda de alternativas para el control de la pudrición negra del cultivo de la piña (*Ananas comosus* (L.) Merr.), enfermedad causada por el hongo *Thielaviopsis paradoxa*, se evaluó en el laboratorio del Instituto de Investigaciones Agrícolas de Lara el efecto *in vitro* de los extractos acuosos de *Allium sativum* L. (ajo), *Zingiber officinale* Rosc. (jengibre), *Azadirachta indica* A. Juss (nim), *Aloe vera* L. (sábila), *Aspidosperma lucenivenium* Blake (amargoso), *Jatropha gossypifolia* L. (tiatúa), *Solanum nigrum* L. (hierba mora) y *Cassia occidentalis* L. (brusca) y el fungicida Benomil sobre el crecimiento micelial del hongo. Se utilizó un diseño completamente aleatorizado con cinco repeticiones evaluando a los 7, 14 y 21 días. El tratamiento fue conformado por 3% del extracto en el medio líquido papa-dextrosa (PD). Según el análisis de varianza se obtuvieron diferencias altamente significativas entre los tratamientos ( $P < 0,001$ ). Los mejores extractos vegetales para el control de la enfermedad de la pudrición negra fueron: ajo, jengibre, hierba mora y brusca que resultaron tan efectivos como el fungicida Benomil.

**Palabras clave:** Pudrición negra, extractos vegetales, *in vitro*, *Ananas comosus* L. Merr., piña.

Recibido el 6-7-2004 • Aceptado el 15-9-2004

Autores para correspondencia correo electrónico: zpana@inia.gov.ve; gmunoz@inia.gov.ve; nvargas382@hotmail.com

## Abstract

In the search of alternatives for the control of the butt rot disease in pineapple (*Ananas comosus* L. Merr.) caused by the fungi *Thielaviopsis paradoxa*, it was evaluated in the National Agriculture Research Institute laboratory of Lara state the *in vitro* effect of watery extracts of *Allium sativum* L., *Zingiber officinalis* L., *Azadirachta indica* A. Juss., *Aloe vera* L., *Aspidosperma lucentivenium* Blake, *Jatropha gossypifolia* L., *Solanum nigrum* L., *Cassia occidentalis* L. and Benomyl fungicide on the micelial growth of the fungi. It was used a completely aleatory design, with five replications for treatment, evaluating at 7, 14 and 21 days. The treatments was shaped by the extracts at the concentration of 3% in the potato-dextrose liquid medium. The analysis of variance showed highly significant differences between the treatments ( $P < 0.001$ ). The most effective extracts for the control of the pineapple butt rot were: *A. sativum*, *Z. officinalis*, *S. nigrum* and *C. occidentalis* because inhibited the development of the fungi as effective as the benomyl fungicide.

**Key words:** butt rot, plant extracts, *in vitro*, *Ananas comosus* L. Merr., pineapple.

## Introducción

La piña (*Ananas comosus* L. Merr.) es el principal sistema de producción que sustenta la actividad económica productiva de diversas comunidades de la Parroquia Aguedo Felipe Alvarado, en el municipio Iribarren, del estado Lara. Durante los últimos años, la superficie sembrada del cultivo de piña ha venido incrementándose en respuesta al estímulo que representa la mejora substancial de precios del producto, además de las ventajas que este cultivo ofrece por ser poco dependiente de tecnologías costosas. En la misma medida que se ha aumentado el área de siembra, las enfermedades, hasta ahora poco estudiadas en el país, comienzan a convertirse en una limitante, en vista de que su control está basado en el uso exclusivo de plaguicidas organosintéticos y de alto costo para

éste sistema de producción (2).

Uno de los principales problemas del cultivo de la piña son las pudriciones en la base de los retoños (hijos basales) y en los frutos, siendo el agente causal *Thielaviopsis paradoxa* (De Seyn.) Hohn. Esta enfermedad es conocida como «pudrición negra», que puede atacar todas las partes de la planta y se presenta ante cualquier daño físico (1). Los fungicidas sintéticos son ampliamente utilizados para su control, sin embargo, el uso indiscriminado de estos productos origina toxicidad a los usuarios y daños al ambiente (3), además del elevado costo de aplicación. Por ello se plantea la utilización de diversas prácticas basadas en consideraciones económicas, sociales y ambientales predecibles, con un objetivo claro como es la máxima reducción del uso de plaguicidas

organosintéticos (4).

Actualmente se emplean recursos florísticos con compuestos bioactivos que son utilizados como alternativa en el control de fitopatógenos, pues no ocasionan efectos secundarios en el ecosistema, y pueden ser metabolizados por uno u otro organismo, a diferencia de los

fungicidas químicos comúnmente aplicados (3,10).

Este trabajo pretende evaluar el efecto de algunos extractos vegetales ya conocidos como: ajo, nim y jengibre, junto a otros de plantas autóctonas, sobre el crecimiento micelial del hongo *Thielaviopsis paradoxa* (De Seyn.) Hohn.

## Materiales y métodos

Selección de plantas para la extracción de los extractos acuosos. Se prepararon ocho extractos acuosos de las siguientes plantas: *Allium sativum* L. (ajo), *Zingiber officinalis* Rosc. (jengibre), *Azadirachta indica* A. Juss (nim), *Aloe vera* L. (sábila), *Aspidosperma lucentivenium* Blake (amargoso), *Jatropha gossypifolia* L. (tuatúa), *Solanum nigrum* L. (hierba mora) y *Cassia occidentalis* L. (brusca).

La selección del extracto de ajo, nim y jengibre se debe al reporte de su uso, así como la presencia en el mercado de productos que se ofertan (6,7,8,9); mientras que, las plantas de sábila, amargoso, tuatúa, hierba mora y brusca autóctonas de la zona y se encuentran en abundancia. Las mismas se colectaron en la parroquia Aguedo Felipe Alvarado del municipio Iribarren del estado Lara, que se encuentra a una altura de 500-850 msnm, con vegetación natural que corresponde al bosque seco tropical.

Preparación de los extractos. De cada planta se utilizaron 3 gramos de la mezcla de diferentes partes de la misma, se desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio al 2,5% por dos minutos y se enjuagaron por

un minuto dos veces en agua destilada. Se cortó en pequeños trozos, se maceró en un mortero estéril, se colocó en una fiola con 97 mL de agua destilada estéril agitándose por 10 minutos; se filtró en papel de filtro marca whatman N° 1 y se centrifugó a 3.500 rpm por 20 min. El sobrenadante obtenido fue el extracto acuoso utilizado en la prueba. En la preparación del benomil se empleó la dosis comercial para el control del hongo en el cultivo piña, a una concentración de 125 mg/L.

Evaluación *in vitro* del efecto del extracto sobre *T. paradoxa*. Se empleó la metodología de Sarvamangala y colaboradores (5) con modificaciones basadas en el trabajo de Singh y colaboradores (8). Se tomaron 5 mL del extracto acuoso, filtrado en milipore (tamaño del poro: 0,22mm) y se mezcló con 15 mL de medio líquido papa-dextrosa (PD). Luego se añadió un mililitro de la suspensión de hongo en una concentración de  $10^6$  esporas/mL, bajo condiciones de laboratorio, temperatura de  $24,5 \pm 1,0^\circ\text{C}$ ; humedad relativa de  $70 \pm 10\%$ . Los extractos se evaluaron con base a la capacidad de inhibición del crecimiento micelial

expresado en peso seco a los 07, 14, 21 días y se comparó con un testigo que contenía solo medio líquido papa-cextrosa (PI)

Diseño y análisis estadístico. El ensayo se realizó en el laboratorio de Fitopatología del Instituto de Inves-

tigaciones Agrícolas del Estado Lara, con un diseño completamente aleatorizado y cinco repeticiones por tratamiento. Los resultados fueron analizados estadísticamente con el Programa Statistix. 4.0.

## Resultados y discusión

En el cuadro 1 se muestran los resultados obtenidos expresados en gramos de micelio, en los cuales se evidencian diferencias significativas ( $P < 0,001$ ) entre los tratamientos. Los extractos con ajo, brusca, hierba mora y jengibre conforman un grupo estadísticamente superior junto con el Benomil (organosintético) al ser evaluados a los 7, 14 y 21 días. Se observó un crecimiento progresivo del hongo durante el ensayo, mostrando su mayor expresión a los 21 días y con

marcadas diferencias significativas, lo cual no ocurrió con las evaluaciones realizadas a los 7 y 14 días. Estos resultados confirman las propiedades fungitoxicas de estos extractos (6,7,8,9) que resultan tan efectivas para el control de *T. paradoxa* como el Benomil. Es de resaltar que, en este grupo existen dos plantas autóctonas potenciales: la brusca y la hierba mora.

El extracto de brusca y hierba mora, plantas que crecen de forma

**Cuadro 1. Crecimiento micelial *in vitro* del hongo *Thielaviopsis paradoxa* (De Seyn.) Hohn., expresado en gramos, en los diferentes extractos acuosos evaluados a los 21 días.**

Tratamientos	Organo utilizado de cada planta	Media de crecimiento micelial (g)
Testigo ( <i>T. paradoxa</i> en medio)	-	0,2040 <sup>a</sup>
<i>Allium. Sativum</i> (ajo)	Bulbos	0,0 <sup>b</sup>
<i>Zingiber officinalis</i> (jengibre)	Rizomas	0,006 <sup>b</sup>
<i>Solanum nigrum</i> (hierba mora)	Hojas y frutos	0,0004 <sup>b</sup>
<i>Aspidosperma luculentum</i> (a nargosc)	Hojas y frutos	0,1860 <sup>a</sup>
<i>Jatropha gossypifolia</i> (tua tua)	Hojas y frutos	0,1300 <sup>ab</sup>
<i>Cassia occidentalis</i> (brusca)	Hojas y frutos	0,0002 <sup>b</sup>
<i>Azadirachta indica</i> (nim)	Semillas frescas	0,04 <sup>ab</sup>
<i>Aloe vera</i> (sábila)	Hojas (acíbar)	0,05 <sup>ab</sup>
Benomil (químico)	-	0,0 <sup>b</sup>

Me días con letras iguales no difieren estadísticamente ( $P < 0,01$ )

silvestre en la zona es una opción más económica de control de la pudrición negra de la piña por parte de los pequeños productores, que además de

resultar una técnica sencilla reduce la contaminación y se aprovechan los recursos florísticos locales con propiedades fungitoxicas.

## Conclusiones

Los tratamientos más efectivos para el control de la enfermedad de la pudrición negra del cultivo de piña fueron: ajo, jengibre, hierba mora, brusca y el fungicida Benomil porque inhibieron el desarrollo del hongo.

Los extractos naturales de ajo, jengibre, hierba mora y brusca resultaron tan efectivos como el fungicida

Benomil empleado actualmente en el control del hongo *T. paradoxa*.

Los extractos naturales abren un abanico de alternativas efectivas en el control de *T. paradoxa* para la reducción de los impactos negativos en la salud y el ambiente por el uso de los agrotóxicos.

## Literatura citada

1. Bartholomew, D. R. Paul, y K. Rohrbach. 2002. The Pineapple: Botany, Production and Uses. University of Hawaii, Manoa, Honolulu, USA. 320 p.
2. Montilla de Bravo, I., S. Fernández, D. Alcalá de Marcano y M. Gallardo. 1997. El cultivo de la piña en Venezuela. Maracay, Ven., Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Centro de Investigaciones Agropecuarias del Estado Lara. UCA/ CREA/ PROCIANDINO/ FFUTHEX 155 p.
3. Ramírez, E., L. Lucas, G. Virgen y J. Molina. 2000. Actividad fungicida de la afinina y del extracto crudo de raíces de *Helipopsis longipes* en dos especies de *Sclerotium*. Agrociencia 34:207-215.
4. Salas, J. y J. H. Frank. 2001. Development of *Metamasius callizona* (Coleoptera: Curculionidae) on Pineapple Stems. Florida Entomol. 84(1): 123-126.
5. Sarvamangala H., H. Govindaia y R. Datta. 1993. Evaluation of plant extracts for the control of fungal diseases of mulberry. Indian Phytopath. 46 (4): 398-401.
6. Singh, P.K. y R.S. Dwivedi. 1990. Fungicidal properties of neem and blue gum against *Sclerotium rolfsii* Sacc., a foot-rot pathogen of barley. Acta Bot. Indica 18:260-262.
7. Singh, V., R.D. Tripathi, N.N. Tripathi, y S.N. Dixit. 1983. Isolation and properties of fungitoxic principle for *Zingiber officinale*. Indian J. Plant Path. 1: 89-96.
8. Singh, U.P., H.B. Singh y R.B. Singh. 1980. The fungicidal effect of neem (*Azadirachta indica*) extracts on some soil-borne pathogens of gram (*Cicer arretinum*). Micology 72: 1077-1084.
9. Sobti, A., O. Sharma y A. Bhargava. 1994. A comparative study of fungicidal compounds and plant extracts against three pathogens of *Arachis hypogaea*. Indian Phytopath. 47:191.
10. Stauffer A., A. Orrego y A. Aquino. 2000. Selección de extractos vegetales con efecto fungicida y/o bactericida. Rev. de Ciencia y Tecnología 1(2): 29.