

DETERMINACION DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE EXTRACTOS VEGETALES SOBRE EL HONGO *Mycosphaerella fijiensis* Morelet

RESUMEN

Los cultivos de plátano, banano y heliconias (Musaceae) son afectados por el hongo ascomiceto *Mycosphaerella fijiensis* Morelet agente causante de la enfermedad más destructiva de estos cultivos conocida como Sigatoka negra, generando pérdidas económicas considerables tanto para los grandes como los pequeños cultivadores. En el control de esta enfermedad, se emplean diversos tipos de fungicidas de origen sintético que aumentan los costos de producción, además de causar deterioro significativo al medio ambiente.

En este trabajo se evaluaron 20 extractos metanólicos y 21 extractos de diclorometano de plantas pertenecientes a las familias Asclepiadaceae, Asteraceae, Euphorbiaceae, Rubiaceae y Solanaceae, recolectadas en la zona de reserva Bremen-La Popa (Quindío, Colombia) a través del método de elongación del tubo germinativo de las ascoporas.

Se encontró que cinco extractos metanólicos (25%) y seis de diclorometano (28.6%) presentaron actividad *in vitro* contra *Mycosphaerella fijiensis*. De acuerdo al tamizaje fitoquímico los componentes responsables de esta actividad pueden ser: alcaloides, esteroides, fenoles, flavonoides, saponinas, taninos y triterpenos, entre otros.

PALABRAS CLAVES: Asclepiadaceae, Asteraceae, Bioplaguicida, Euphorbiaceae, Plátano, Rubiaceae, Sigatoka negra, Solanaceae

ABSTRACT

The plantain, banana and heliconias crops (Musaceae) are affected by the ascomycete fungus Mycosphaerella fijiensis Morelet the agent that cause one of the most destructive disease for these cultivations known like black Sigatoka, generating considerable economic lost for great and small farmers. In the control of this disease diverse types of synthetic fungicides are used, but this increases the production costs, besides to cause significant deterioration to the environment.

In this work 20 methanolics and 21 dichloromethane extracts from plants belonging to the Asclepiadaceae, Asteraceae, Euphorbiaceae, Rubiaceae and Solanaceae families collected in the Natural Reserve Bremen-La Popa (Quindío, Colombia) were evaluated, through ascospore germinative tube growth tests.

It was found that five methanolics (25%) and six of dichloromethane extracts (28,6%) displayed in-vitro activity against Mycosphaerella fijiensis. The phytochemicals responsible for this activity can be: alkaloids, steroids, phenols, flavonoids, saponins, tannins and triterpenoids.

KEY WORDS: Asclepiadaceae, Asteraceae, Bioplaguicide, Euphorbiaceae, Plantain, Rubiaceae, Black Sigatoka, Solanaceae

El cultivo de plátano en Colombia, ha sido un sector tradicional de la economía campesina y constituye una fuente valiosa de ingresos tanto en el comercio local como internacional. La Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet), es la enfermedad más difundida y destructiva para los cultivos de banano y otros cultivares de musaceae. La mayoría de los plátanos y bananos

cultivados extensivamente y con fines comerciales son susceptibles a esta enfermedad que causa necrosis en las hojas y pérdidas entre el 33 y el 50% en las cosechas.

El desarrollo de estrategias innovadoras dirigidas a disminuir el uso de fungicidas sintéticos convencionales, es un desafío permanente, por lo cual se estudió el efecto

JAIME NIÑO O.

Lic Bgía-Qca, Ph.D.
Profesor Titular
Universidad Tecnológica de
Pereira
janino@utp.edu.co

JOHANA OSPINA T.

Estudiante Escuela de Tecnología
Química
johao_02@utp.edu.co

YANED M. CORREA N.

Química
Profesora Catedrática
Universidad Tecnológica de
Pereira
yamico@utp.edu.co

OSCAR M. MOSQUERA M.

Químico, M.Sc.
Profesor Titular
Universidad Tecnológica de
Pereira
omosquer@utp.edu.co

GRUPO DE BIOTECNOLOGÍA-PRODUCTOS NATURALES (GBPN). Escuela de Tecnología Química, Universidad Tecnológica de Pereira, Centro de Investigación y Estudios en Biodiversidad y Recursos Genéticos (CIEBREG). La Julita, Pereira.

inhibidor de 20 extractos metanólicos crudos y 21 de diclorometano de plantas pertenecientes a las familias Solanaceae, Asteraceae, Rubiaceae y Euphorbiaceae, recolectadas en la zona de Reserva Natural Bremen-La Popa (Filandia-Circasia, Quindío, Colombia) durante el mes de agosto del 2005. De cada planta se tomaron 300 g del material seco y molido, se sometieron a extracción por maceración sucesivamente con *n*-hexano, diclorometano y metanol, cada uno tres veces. Los extractos, fueron concentrados a presión reducida y una vez obtenidos se almacenaron a -10 °C.

Para la evaluación de la actividad antifúngica se utilizó tejido foliar de plátano infectado en los estadios 5 ó 6 de la enfermedad. El tejido se incubó por 48 horas a temperatura ambiente en bolsas plásticas con sello hermético, pegado a discos de papel kraf con grapas metálicas y envuelto en papel humedecido con agua destilada (cámara húmeda).

Después del período de incubación, las muestras se sacaron de la bolsa plástica y el material se sumergió durante cinco minutos en agua destilada. Pasado este tiempo se procedió a la descarga de ascosporas en las cajas de Petri que contenían agar al 2 % suplementado (envenenado) con muestras del extracto a 1000 mg/L durante una hora.

Como control negativo se utilizó etanol absoluto al 1 % y como control positivo se empleó el fungicida Benlate a 1 mg/L. Las cajas Petri con las ascosporas se incubaron a 27 °C por 24 horas para los extractos de metanol y por 48 horas para los de diclorometano. Luego, se realizó la lectura de 150 ascosporas en tres campos de 50 ascosporas cada uno, a través de un microscopio de luz bajo un aumento de 10X.

Se determinó la actividad antifúngica *in vitro* de los extractos mediante la medición del tubo germinativo, determinando el porcentaje de ascosporas con germinación normal (CN), corta (GC), deforme (GD) y no geminadas, (NG). En general, un alto porcentaje de las ascosporas con GC, GD o NG, implica que el extracto tiene actividad antifúngica sobre el hongo *Mycosphaerella fijiensis* (Mf).

De los extractos evaluados cinco de metanol y seis de de diclorometano tuvieron actividad sobre el hongo Mf, siendo la deformación (GD) del tubo germinativo el mayor efecto evaluado causado por estos extractos sobre las ascosporas.

Los extractos metanólicos y de diclorometano de las especies de las familias Solanaceae y Asteraceae fueron los que presentaron el mayor porcentaje (60-90%) de ascosporas con germinación deforme.

Las plantas superiores, ante el estrés externo inducen la síntesis y acumulación de metabolitos secundarios, los cuales les confieren resistencia para el control de hongos, bacterias y virus.

Estudios empleando extractos vegetales de 20 plantas seleccionadas mostraron que un porcentaje superior al 30% de actividad inhibitoria contra *M. fijiensis*, entre las cuales sobresalieron *Syzygium aromaticum* con mayor poder antifúngico, seguido por *Commelina difusa*, *Momordica charantia*, *Pavonia sp.*, *Plenax sp.*, *Piper hispidum*, *Piper peltatum* y *Sida rhombifolia* and *Syzygium aromaticum*. Estos estudios han mostrado que algunos agentes protectores o inductores de resistencia por su actividad como antifúngicos, son: cumarinas, compuestos fenólicos, flavonoides, saponinas y quinonas. También, se ha determinado que algunos de estos metabolitos secundarios hacen parte del repertorio de las sustancias que sirven de defensa en las plantas, entre estos se encuentran los alcaloides, terpenoides, y fenilpropanoides. Igualmente, se conoce que algunas fitoalexinas tipo flavonoides, terpénicas y sesquiterpénicas intervienen en la protección de las plantas contra los microorganismos.

Con lo anterior y de acuerdo al tamizaje fitoquímico, los extractos de las familias Solanaceae y Asteraceae mostraron como constituyentes principales, alcaloides, esteroides, fenoles, flavonoides, saponinas, taninos y triterpenos, entre otros (datos no mostrados). Posiblemente, estos compuestos pueden ser la causa de la deformación observada en las ascosporas de *M. fijiensis*. Por lo tanto, de las 11 especies que tuvieron actividad antifúngica, las que pertenecen a estas familias, son promisorias para el posible control de la enfermedad y se debe aislar y caracterizar el o los compuestos bioactivos en dichos extractos y someterlos a ensayos *in vitro* e *in vivo*, para valorar su efectividad.

AGRADECIMIENTOS

Al Centro de Investigación y Estudios en Biodiversidad y Recursos Genéticos (CIEBREG) y a la Universidad Tecnológica de Pereira (UTP) por la financiación del proyecto.