

CONTROL ALTERNATIVO DE *Alternaria solani* Sorauer CON EXTRACTOS VEGETALES, *in vitro*¹

SANTANDER R. G.²

AQUINO J., A. S.³

ABSTRACT

The study was conducted in the laboratory of Plant Pathology, department of Plant Protection, Facultad de Ciencias Agrarias (FCA), belonging to the Universidad Nacional de Asunción (UNA), in order to verify the effectiveness and residuality vegetable extracts in the mycelial growth inhibition, *in vitro*, of the fungus *Alternaria solani*. The used experimental design was completely at random, with seven treatments: control (water) and vegetable extracts of garlic (*Allium sativum*), onion (*Allium cepa*); yvope (*Gleditsia amorphoides*); chirca (*Baccharis dracunculifolia*), romero (*Rosmarinus officinalis*), cola de caballo (*Equisetum arvense*) with four concentrations for each of the extracts (25%, 50%, 75%, 100%) and 5 replications for each treatment. Discs of sterilized filter paper of 5 mm of diameter were impregnated with the different vegetable extracts and placed in number of 5 in the Petri dishes containing PDA culture medium, which were previously inoculated with the pathogen reproductive structures. The plates were incubated at a temperature of 28 ° C for four days. Garlic extract, from 50% concentration, effectively controls the mycelial growth, *in vitro*, of the fungus *Alternaria solani*. The Garlic extract in concentrations of 75% and 100%, have a residual power of seven days after the establishment of the experiment.

RESUMEN

El estudio se realizó en el laboratorio de Fitopatología del Departamento de Protección Vegetal de la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Asunción, con el objetivo de verificar la efectividad y la residualidad de los extractos vegetales en la inhibición del crecimiento micelial, *in vitro*, del hongo *Alternaria solani*. El diseño experimental utilizado fue completamente al azar, con siete tratamientos: testigo (agua) y extractos vegetales de ajo (*Allium sativum*); cebolla (*Allium cepa*); yvope (*Gleditsia amorphoides*); chirca (*Baccharis dracunculifolia*); Romero (*Rosmarinus officinalis*); Cola de caballo (*Equisetum arvense*) con cuatro concentraciones para cada uno de los extractos (25%; 50%; 75%; 100%) y cinco repeticiones para cada tratamiento. Discos de papel de filtro, fueron impregnados con los diferentes extractos vegetales y colocados en las placas de Petri, conteniendo medio de cultivo, que fueron previamente inoculadas con las estructuras reproductivas del patógeno. Las placas fueron incubadas a una temperatura de 28° C, por cuatro días. El extracto de Ajo, a partir de la concentración al 50%, controla eficientemente el crecimiento micelial, del hongo *Alternaria solani*. En las concentraciones de 75% y 100%, presentan un poder residual de siete días.

KEY-WORDS: *Alternaria solani* Sorauer, vegetable extracts, alternative control

PALABRAS-CLAVE: *Alternaria solani*, extractos vegetales, control alternativo.

¹ Parte de la Tesis presentada a la FCA - UNA para la obtención del título de Ingeniero Agrónomo.

² Ing. Agr. Egresado de la Orientación Protección Vegetal de la CIA de la FCA - UNA.

³ Ing. Agr. M. Sc. Docente del Dpto de Protección Vegetal de la FCA - UNA.

INTRODUCCIÓN

El tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) es la hortaliza de mayor importancia en el Paraguay debido a su buena rentabilidad económica. Sin embargo, presenta limitaciones en su producción, entre las cuales se encuentran enfermedades causadas principalmente por hongos.

Entre las enfermedades fúngicas que atacan al cultivo de tomate, se encuentra el Tizón temprano causado por *Alternaria solani* Sorauer que puede llegar a causar una pérdida considerable en la producción. Este hongo ataca a la planta durante todo el ciclo de desarrollo, ocasionando daños en los tallos, hojas, pecíolos y frutos.

Los síntomas de *Alternaria solani* se caracterizan por la presencia de lesiones necróticas en los tallos, hojas, pecíolos florales y frutos, de color marrón y generalmente con anillos concéntricos. En las hojas aparecen halos cloróticos alrededor de cada mancha necrótica (Latorre et al., 1990). En los tallos y ramas, las lesiones son oscuras alargadas y también con anillos concéntricos, en los frutos aparecen lesiones oscuras y hundidas, con anillos concéntricos y generalmente en la base del fruto (pedúnculo) o en los lados de éste, esta pudrición tiene aspecto seco y sobre ella se nota la esporulación del hongo (Rosales et al., 1992).

El uso de productos químicos para el control de insectos y patógenos no es un desastre ecológico, es una herramienta valiosa e indispensable en varios sistemas agrícolas. Con todo, esas sustancias deben ser empleadas apenas como último recurso. De ese modo, métodos alternativos de control han sido desarrollados y empleados en algunos programas de manejo de las plagas y enfermedades, en el sentido de la racionalización del uso de los defensivos químicos (Batista et al., 1999).

Los extractos vegetales representan una alternativa para el control de plagas por su efectividad, bajo costo y su propiedad de ser, en general, menos agresivos al medio ambiente (Romeu et al., 2000).

El desarrollo de plaguicidas basados en productos naturales no debe perseguir la sustitución de los productos convencionales, más bien lo que deben es contribuir a la racionalización de las aplicaciones de los pesticidas (Pérez et al., 2000).

El objetivo de este trabajo fue verificar la efectividad y la residualidad de los extractos vegetales en la inhibición del crecimiento, in vitro, del hongo *Alternaria solani*.

METODOLOGÍA

El experimento se realizó en el laboratorio de la división de Fitopatología del departamento de Protección Vegetal, perteneciente a la Facultad de Ciencias Agrarias

(FCA), de la Universidad Nacional de Asunción (UNA), entre los meses de julio y agosto del año 2009.

El diseño experimental empleado fue completamente al azar. Se emplearon seis extractos vegetales, con cuatro concentraciones cada uno, los cuales fueron 25%, 50%, 75% y 100%. Cada concentración presentó cinco repeticiones. Los tratamientos que se utilizaron fueron los siguientes:

- 1) Extracto de ajo (*Allium sativum*)
- 2) Extracto de cebolla (*Allium cepa*)
- 3) Extracto de yvope - Espina de corona (*Gleditsia amorphoides*)
- 4) Extracto de chirca (*Baccharis dracunculifolia*)
- 5) Extracto de romero (*Rosmarinus officinalis*)
- 6) Extracto de cola de caballo (*Equisetum arvense*)
- 7) Testigo (Agua)

Se colectaron materiales vegetales como tallos, hojas y frutos de tomate con síntomas de Tizón temprano (*Alternaria solani*). Los extractos vegetales de las diferentes especies que se utilizaron, fueron los siguientes: Ajo de origen chino, Cebolla, Yvope - Espina de corona, Chirca, Romero y Cola de caballo.

Para la preparación del medio de cultivo PDA (Papa-Dextrosa-Agar) se utilizaron los siguientes ingredientes: 200 gramos de tubérculos de papa; 1000 ml de agua; 20 gramos de dextrosa y 20 gramos de agar.

El hongo *Alternaria solani* fue aislado de materiales enfermos, como tallos, hojas y frutos del cultivo del tomate, bajo campana de aislación, en medio de cultivo PDA. El procedimiento se realizó de la siguiente manera: en las placas de Petri conteniendo PDA, fueron cultivadas en condiciones de asepsia las estructuras reproductivas del patógeno, las cuales fueron extraídas de los órganos afectados con un anza. A continuación las placas fueron incubadas a una temperatura de 28° C, durante 8 días. Una vez obtenido el crecimiento micelial del hongo, éste fue identificado con la ayuda de un microscopio óptico. Luego, porciones de micelio del hongo fueron repicados en tubos de ensayo, con medio de cultivo PDA, para obtención de cultivos puros de *Alternaria solani*.

Los extractos vegetales se obtuvieron licuando 100 gramos de los materiales vegetales en 100 ml de agua esterilizada y se dejaron reposar 24 horas, antes de la aplicación. Los extractos vegetales obtenidos no fueron esterilizados.

Las placas de Petri fueron cargadas con medio de cultivo PDA, al cual previamente se adicionaron cinco gotas de oxitetraciclina por cada 250 ml del medio de cultivo. Las placas de Petri conteniendo PDA fueron inoculadas con las estructuras reproductivas del hongo. Estas estructuras fueron extraídas del tubo de ensayo, para tal efecto se adicionó 5 ml de agua estéril y luego se raspó la superficie del medio de cultivo con un anza, obteniéndose

una suspensión de estructuras de fructificación del hongo en agua estéril.

Se dejaron reposar las placas de Petri sobre una superficie plana, durante 30 minutos para favorecer la deposición del patógeno y luego se procedió a la colocación de cinco discos de papel de filtro esterilizado de 5 mm de diámetro, embebidos con los extractos. Estos discos fueron distribuidos de manera equidistante en las placas con PDA, previamente inoculada con las estructuras del patógeno.

Las placas fueron incubadas a $27 \pm 1^\circ \text{C}$ de temperatura, por cuatro días. Al cuarto día de haberse establecido el experimento se realizaron las evaluaciones del área de inhibición del hongo *Alternaria solani*, por efecto de los tratamientos. Las áreas de inhibición del hongo fueron determinadas mediante fórmulas para el cálculo de áreas de diferentes figuras geométricas. Las áreas de inhibición se obtuvieron por diferencia considerando el área total de la placa de Petri, que es de 63,58 cm². Posteriormente, se realizaron observaciones, cada 24 horas, para determinar el poder residual o la permanencia del extracto activo inhibiendo el desarrollo del patógeno.

Las medias obtenidas fueron sometidas a análisis de varianza y para determinar la existencia de diferencias entre las medias se recurrió al Test de Tukey al 5%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Área de inhibición del crecimiento micelial de *Alternaria solani*

Las medias correspondientes al área de inhibición del crecimiento micelial, *in vitro*, del hongo *Alternaria solani* por efecto de los extractos vegetales, con sus diferentes concentraciones, se presentan en la Tabla 1.

TABLA 1 - Área de inhibición del hongo *Alternaria solani*, extractos vegetales, concentraciones y el testigo. San Lorenzo, Paraguay, 2009.

Extractos vegetales	Concentración (%)	Área de inhibición (cm ²)
Ajo (<i>Allium sativum</i>)	25	0,00
	50	7,11
	75	10,71
	100	11,91
Cebolla (<i>Allium cepa</i>)	25	0,00
	50	0,00
	75	0,00
	100	0,00
Yvope (<i>Gleditsia amorphoides</i>)	25	0,00
	50	0,00
	75	0,00
	100	0,00
Chirca (<i>Baccharis dracunculifolia</i>)	25	0,00
	50	0,00
	75	0,00
	100	0,00
Romero (<i>Rosmarinus officinalis</i>)	25	0,00
	50	0,00
	75	0,00
	100	0,00
Cola de caballo (<i>Equisetum arvense</i>)	25	0,00
	50	0,00
	75	0,00
	100	0,00
Testigo		0,00

En la Tabla 2 se puede observar que el tratamiento con extracto de ajo fue el que mejor controló el desarrollo micelial del hongo *Alternaria solani*, excepto en la concentración al 25%, que no ejerció ningún control sobre el mismo. Así también se observa que los demás extractos vegetales no inhibieron el crecimiento micelial del patógeno.

Efecto sobre el desarrollo del hongo *Alternaria solani* y poder residual del extracto de ajo (*Allium sativum*), a diferentes concentraciones.

TABLA 2 - Área de inhibición (cm²) del hongo *Alternaria solani* por efecto de los tratamientos, testigo y ajo, a diferentes concentraciones. San Lorenzo, Paraguay, 2009.

Tratamientos	Área de inhibición (cm ²)
Testigo	0.0000 C*
Ajo 25%	0.0000 C
Ajo 50%	7.11 B
Ajo 75%	10.71 A
Ajo 100%	11.91 A

*Test de Tukey: las medias con letras diferentes en la columna, indican diferencia significativa al 5% de probabilidad.

En el análisis estadístico realizado (Tabla 2) no se encontraron diferencias significativas, entre el testigo y el extracto de ajo al 25% de concentración, sobre el área de inhibición del crecimiento micelial del hongo *Alternaria solani*, en tanto que, a la concentración de 50% hubo diferencias significativas con el testigo y con la concentración al 25%. En las concentraciones al 75% y 100% del extracto de ajo no se presentaron diferencias significativas, en tanto que, sí presentan diferencias significativas con las concentraciones al 50% y 25% del extracto, así también con el testigo.

Al analizar el efecto de las diferentes concentraciones del extracto de ajo frente al hongo *Alternaria solani*, se pudo observar (Fig. 2) control efectivo del desarrollo micelial, a los cuatro días del establecimiento del experimento, con una concentración al 100% del extracto de ajo, presentando un área de inhibición, en promedio, de 11.91 cm². Mientras que a una concentración al 75% se obtuvo un área de inhibición de 10,71 cm². Al 50% el área de inhibición observada fue de 7,11 cm² y con la concentración al 25% se verificó un crecimiento normal del micelio del hongo. A medida que se incrementa la concentración del extracto de ajo, se pudo detectar una disminución del área de crecimiento micelial del hongo *Alternaria solani* (Fig. 1 y Fig. 2).

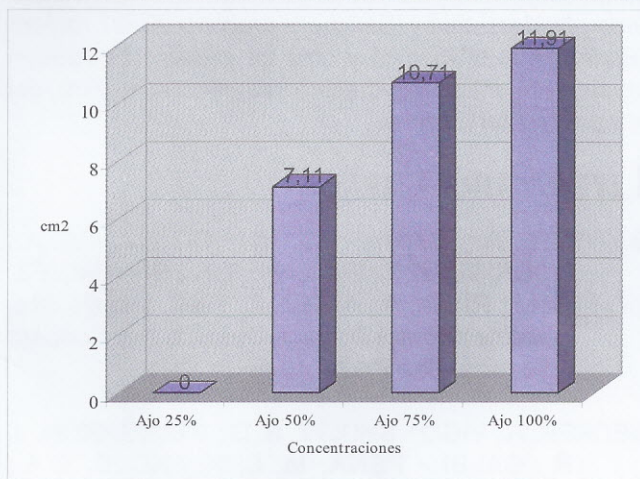


FIGURA 1 - Medias del área de inhibición (cm²) del hongo *Alternaria solani* a diferentes concentraciones del extracto de ajo. San Lorenzo, Paraguay, 2009.



FIGURA 2 - Inhibición del crecimiento micelial de *Alternaria solani* producida por el efecto del extracto de ajo (*Allium sativum*) en las concentraciones de 50%; 75% y 100%. San Lorenzo, Paraguay, 2009.

El efecto fungistático del extracto de ajo coincide con lo señalado por Sarubbi (2002), quien obtuvo un control eficiente sobre el hongo *Rhizoctonia solani*, inhibiendo el 100% del crecimiento micelial, *in vitro*, de este hongo, utilizando el extracto de ajo a una concentración de 30.000 ppm. Así también con el trabajo realizado por Stauffer et al. (1995), se corroboró el efecto inhibitor del extracto de ajo sobre el desarrollo micelial de los hongos *Penicillium* sp.; *Aspergillus* sp.; *Fusarium* sp.; *Alternaria* sp.; *Colletotrichum* sp.; *Pythium* sp. y *Rhizoctonia* sp..

Así mismo en el estudio realizado por Núñez (2009), utilizando el extracto de ajo, se ha logrado un control sobre los hongos *Alternaria solani* y *Macrophomina phaseolina*, con un diámetro de inhibición de 24,3 mm y 31,3 mm, respectivamente.

Bolkan & Wilma (1981), observaron un efecto del extracto de ajo sobre el crecimiento micelial de los hongos *Cylindrocladium clavatum*, *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans* y *Rhizoctonia solani*, con el cual lograron una reducción de 37,6; 76,3 y 66,9%, respectivamente, del desarrollo micelial utilizando una concentración de 5.000 ppm.

Weber et al., citado por Guirado et al. (2001), mencionan que ajoene y alicina son los principales componentes con poder viricida del extracto de Ajo. Además, el Ajo contiene en el bulbo, yodo, un óleo esencial y un compuesto de azufre que presentan efectos repelentes para las plagas. Estos serían los principales compuestos químicos que inhibieron el desarrollo micelial del hongo en estudio.

El extracto de ajo en las concentraciones al 75% y 100%, tuvo un poder residual de siete días, a partir del establecimiento del experimento, pero al octavo día el hongo presentó un rápido crecimiento micelial, cubriendo totalmente el área de inhibición un día después, mientras que, con la concentración al 50% el poder residual fue de seis días.

Efecto inhibitorio de otros extractos vegetales empleados, sobre el desarrollo del hongo *Alternaria solani*.

Según lo observado en la Tabla 1, a diferencia del extracto de Ajo (*Allium sativum*), los demás extractos probados no presentaron efecto inhibitorio y fueron los siguientes: cebolla (*Allium cepa*), yvope (*Gleditsia Amorphoides*), chirca (*Baccharis dracunculifolia*), romero (*Rosmarinus officinalis*) y cola de caballo (*Equisetum arvense*).

Así, el tratamiento con el extracto de cebolla (*Allium cepa*) en las diferentes concentraciones empleadas no presentaron ningún efecto sobre el hongo *Alternaria solani*, sin embargo, en el trabajo de Oliveira et al. (2007), quienes utilizaron los extractos de cebolla y Neem en las concentraciones de 0; 20; 30 y 40% para el control, *in vitro*, de *Fusarium subglutinans* f. sp. *ananasii*, lograron un control efectivo sobre el crecimiento micelial de este hongo, a partir de la concentración al 30%.

Así también, en el estudio realizado por Stauffer et al. (1995), utilizando el extracto de cebolla, obtuvieron control sobre el desarrollo micelial de *Alternaria* sp. y sobre otros hongos fitopatógenos.

El extracto de Yvope (*Gleditsia amorphoides*) no ejerció ningún control sobre el patógeno en estudio, lo cual coincide con el trabajo de Núñez (2009), que utilizó el mismo extracto, no presentando efecto inhibitor sobre el crecimiento micelial del hongo *Alternaria solani*.

De la misma manera, el extracto de chirca (*Baccharis dracunculifolia*) no fue efectivo en la inhibición del crecimiento micelial del hongo en estudio. Trabajando con el mismo extracto, Martens (2006) observó una gran eficiencia del extracto de Chirca en el control de *Septoria lycopersici*, alcanzando una efectividad de 84%, en promedio.

El tratamiento con extracto de romero (*Rosmarinus officinalis*) no tuvo ningún efecto sobre el hongo estudiado. Sin embargo, en trabajos realizados por Becker et al.

(2004), quienes utilizaron el extracto de romero, observaron control sobre el desarrollo del hongo *Microsphaera diffusa*, al 5% de concentración del extracto.

El extracto de cola de caballo (*Equisetum arvense*) (Fig. 4) no inhibió el crecimiento micelial del patógeno, pero presentó un efecto genestático en las concentraciones de 75% y 100%, durando ese efecto cinco días, a partir del establecimiento del experimento. Con relación al mismo extracto, Sarubbi (2002), utilizando el extracto de cola de caballo, en diferentes concentraciones, no manifestó ningún efecto inhibitorio sobre el crecimiento micelial del hongo *Rhizoctonia solani*.

En trabajos realizados, con este mismo extracto, por Stauffer et al. (1995), sobre varios hongos fitopatógenos y sobre la bacteria *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, tampoco presentó efecto inhibitorio sobre el desarrollo dichos patógenos.



FIGURA 3 - Efecto genestático del extracto de Cola de caballo (*Equisetum arvense*) sobre el desarrollo de *Alternaria solani*. San Lorenzo, Paraguay, 2009.

En el presente estudio comparativo de los diferentes extractos vegetales, a excepción del extracto de ajo, no se obtuvo efecto inhibitorio sobre el desarrollo del hongo *Alternaria solani*. En tanto que, en otros trabajos realizados con los mismos extractos se logró un control efectivo sobre otros patógenos causantes de enfermedades, en cultivos agrícolas. Algunos aspectos como la metodología de preparación de los extractos vegetales y el tiempo de reposo del mismo, podrían haber influido sobre los resultados obtenidos en este experimento.

CONCLUSIÓN

El extracto de ajo en las concentraciones de 50%, 75% y 100% inhiben el desarrollo micelial, *in vitro*, del hongo *Alternaria solani*. En la concentración al 25% no presenta efecto inhibitorio sobre el crecimiento micelial del hongo en estudio.

El poder residual del extracto de ajo en las concentraciones de 75% y 100% es de siete días sobre el crecimiento micelial, *in vitro*, de *Alternaria solani*, a partir del establecimiento del experimento y en la concentración al 50% tiene un poder residual de seis días.

Los extractos de cebolla (*A. cepa*), yvope (*Gleditsia*

amorphoides), chirca (*Baccharis dracunculifolia*), romero (*Rosmarinus officinalis*) y cola de caballo (*Equisetum arvense*) no inhiben el crecimiento micelial, *in vitro*, del hongo *Alternaria solani*.

LITERATURA CITADA

- BATISTA, A.; CAMARGO, B.; COSTA, V. A.; RODRIGUEZ, F.; FURLAN, S. H.; GANCALVEZ, C. M.; RAGA, A.; ALVEZ, Z. 1999. Manejo integrado de plagas e Doenças Das Culturas: Conceito e Técnica. Sao Paulo. 40 p.
- BECKER, A.; VIGO - SHULTZ, S. C.; STANGARLIN, J. R.; BALBI - PEÑA, M. I.; KLAHOLD, C.A.; SCHWAN - ESTRADA, K. P. F. 2004. Control Alternativo de las enfermedades de final de ciclo y oidio en el cultivo de soja. Fitopatología Brasileira. Vol. 29. 163 p.
- BOLKAN, H. A.; WILMA, R. C. 1981. Efeito de extracto de alho em *Cylindrocladium clavatum*, *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans* e *Rhizoctonia solani*. Fitopatología Brasileira (BR). 6 (3): 565 - 566.
- GUIRADO, N.; NOGUEIRA, N. L.; AMBROSANO, E. J.; FRANÇOZO, M. 2001. Efeitos de extractos vegetais na atividade vetora de *Brevipalpus phoenicis*. Summa Phytopathologica (BR). 27 (4): 343 - 347.
- LATORRE, B. A. 1990. Plagas de las hortalizas: Manual de manejo integrado. Santiago, CH.; FAO. 31 p.
- MARTENS, L. 2006. Estudio de la eficacia de extractos vegetales en el control de Septorios (*Septoria lycopersici* Speg.) en tomate. Tesis (Ing. Agr.). San Lorenzo, PY: Carrera de Ingeniería Agronómica. FCA. UNA. 31h.
- NÚÑEZ, I. 2009. Acción fungistática de extractos vegetales sobre los hongos *Macrophomina phaseolina* y *Alternaria solani*, *in vitro*. Tesis (Ing. Agr.). San Lorenzo, PY: Carrera de Ingeniería Agronómica. FCA. UNA. 37h.
- OLIVEIRA, M. D. M.; NASCIMENTO, L. C.; LEITE, R. P.; SOUTO, F. M. 2007. Influencia de extractos vegetais no crescimento micelial de *Fusarium subglutinans* f. sp. *ananasi* *in vitro*. Fitopatología Brasileira (BR). 32: 144.
- PEREZ, W.; BERNAL, B.; MARTIN, A.; ROMEU C. 2000. Estudio preliminar de dos extractos vegetales para el control *in vitro* del hongo *Corynespora cassiicola*. Fitosanidad. (CU). 4 (1-2): 43 - 46.
- ROMEU, C. R.; GONZALEZ, A. L.; MARRERO, A.; MARTIN, V.; MILLAN, V.; IGLASIAS, G.; COMPAÑA, H. 2000. Obtención de extractos vegetales asisti-

do por la energía de microondas. Comparación con métodos convencionales. Fitosanidad. (CU). 4 (3-4): 43-46.

ROSALES, S. A.; MARTINEZ, N. B.; DOMINGUEZ, B. 1992. Manejo Fitosanitario de las hortalizas en México, Chapingo, MX. 277 p.

SARUBBI, H. J. 2002. Control alternativo de *Rhizoctonia solani* Kühn en petunia (*Petunia x híbrida*). Tesis (Maestría). San Lorenzo, PY: Carrera de Ingeniería Agronómica. FCA. UNA. 36h.

STAUFFER, A.; ORREGO, A.; AQUINO, A. 1995. Selección de extractos vegetales con efecto fungicida y/o bactericida. San Lorenzo, Py.