

Actividad antifúngica de extractos acuosos de *Spathodea campanulata* Beauv. sobre la roya del frijol común (*Uromyces phaseoli* Pers. (Wint) var. *typica* Arth.)

Antifungal activity of *Spathodea campanulata* Beauv. aqueous extracts on bean rust (*Uromyces phaseoli* Pers. (Wint) var. *typica* Arth.)

Alexander Bernal Cabrera¹, Aliesky Fleites Poch² y Rafael Sosa Martínez³

¹ Centro de Investigaciones Agropecuarias, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, Carretera a Camajuani Km 5½, Santa Clara, Villa Clara, Cuba. CP 54830.

² Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal de Villa Clara, Carretera de Malezas, km 2½, Santa Clara, Villa Clara, Cuba. CP 50300.

³ Centro de Bioactivos Químicos. Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, Carretera a Camajuani Km 5½, Santa Clara, Villa Clara, Cuba. CP 54830.

E-mail: alexanderbc@uclv.edu.cu

RESUMEN. Con el objetivo de evaluar la actividad antifúngica de extractos acuosos de *Spathodea campanulata* Beauv. como alternativa viable para el control de la roya del frijol se desarrolló el presente trabajo en la finca de un productor independiente del Municipio Corralillo, provincia Villa Clara, en el período comprendido entre enero y mayo de 2014. Para ello, se evaluó el efecto de la aplicación de los extractos acuosos de hojas y flores al 5 y 10 % sobre la enfermedad roya del frijol en la variedad BAT-304. Se utilizó un diseño de bloques al azar con seis tratamientos y tres repeticiones. Las aplicaciones se iniciaron a los 30 días de edad (floración) y la última a los 65 días, con una frecuencia de cinco días. Las evaluaciones consistieron en determinar la intensidad de la infección y distribución de la roya en cada tratamiento, así como su efecto sobre las variables cuantitativas número de pústulas/hojas, diámetro de las pústulas y el rendimiento agrícola. Los extractos acuosos de hojas y flores de *S. campanulata*, mostraron actividad antifúngica contra *Uromyces phaseoli* Pers. (Wint) var. *typica* Arth. sobresaliendo los resultados alcanzados con los extractos acuosos al 10 %, de hojas y flores.

Palabras clave: extractos acuosos, frijol común, roya, *Spathodea campanulata*.

ABSTRACT. In order to evaluate the antifungal activity of *Spathodea* aqueous extracts, as a viable alternative for the control of bean rust, this work was realized in an independent farmer in Corralillo municipality, Villa Clara province, between January and May 2014. For this, aqueous extracts from leaves and flowers were applied at 5 and 10 % on BAT-304 bean variety. The experiment was made under a design of random blocks with six treatments and three replications. The extract applications began from 30 days of age (flowering) and the last 65 days, with a frequency of five days. It was objective determining the infection intensity and rust distribution in each one of the treatments as well as their effect on quantitative variables (number of pustules/leaf, pustules diameter and yield). As results was found that the aqueous extracts of leaves and flowers of *S. campanulata*, showed antifungal activity against *Uromyces phaseoli* applied at 10 %.

Keywords: aqueous extracts, bean, rust, *Spathodea campanulata*.

INTRODUCCION

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es la leguminosa de grano de mayor consumo en el mundo, y la más importante para cerca de 300 millones de personas. Esta leguminosa se

considera la segunda fuente de proteínas en África Oriental, del sur y la cuarta en América tropical (Paredes *et al.*, 2006; León *et al.*, 2008). Su mayor área de producción se concentra en

América Latina, donde se localiza cerca del 45 % de la producción mundial y representa además, la región de mayor consumo del grano (Montes, 2000).

La roya, causada por el hongo *Uromyces phaseoli* (Pers) Wint. var. *typica* Arthur, es considerada la principal enfermedad fúngica del frijol en nuestro país, estando distribuida su incidencia en todo el territorio nacional (Socorro y Martín, 1989).

Para el control del agente causal de la roya del frijol se han empleado métodos que incluyen el control químico, la resistencia varietal y las labores culturales, hasta las tendencias más modernas que evidencian la práctica del control biológico como una medida altamente promisorio que contribuye a la preservación del ambiente (Martínez *et al.*, 2007).

El empleo de extractos vegetales para el control de plagas y enfermedades en el marco de una agricultura sostenible constituye una alternativa promisorio, por su elevada efectividad, bajo costo y ser menos contaminantes del ambiente. Estos bioproductos se caracterizan por la presencia de determinados compuestos de origen natural que forman parte de las estrategias defensivas de las plantas (Martínez *et al.*, 2005). Por ello, el objetivo del presente trabajo fue evaluar la actividad antifúngica de los extractos acuosos de hojas y flores de *S. campanulata* como alternativa viable para el control de la roya del frijol.

MATERIALES Y METODOS

Se estudió el efecto de la aplicación de los extractos acuosos de hojas y flores de la planta objeto de estudio al 5 y 10 % (p/v) sobre la enfermedad roya del frijol en la variedad BAT-304 (MINAG, 2013). El diseño experimental utilizado fue bloques al azar con cuatro repeticiones para lo que se sembraron parcelas con cuatro hileras de 4,0 m de longitud, separadas a 0,7 m entre sí y 0,07 m entre plantas (área de 11,2 m² por parcela).

Las labores de preparación y surcado del suelo se realizaron con tracción animal. La siembra de la semilla Básica se realizó de forma manual. En todos los casos la siembra fue realizada el 27 de diciembre de 2013.

Las atenciones culturales consistieron en labores de control mecánico de malezas, la aspersión de Bayfolan® Forte SL (2-3 L ha⁻¹) en tres oportunidades y la aplicación de seis riegos a un intervalo de 7 días.

Tratamientos:

- Extracto acuoso de hojas al 5 %
- Extracto acuoso de hojas al 10 %
- Extracto acuoso de flores al 5 %
- Extracto acuoso de flores al 10 %
- Control estándar (químico con Tebuconazole a dosis de 0,5 L ha⁻¹)
- Control absoluto

Para la preparación de las concentraciones de los extractos se tomaron 50 y 100 g del material seco y molido de cada uno de los órganos colectados (hojas y flores) de la especie de planta estudiada y se le adicionaron 1000 mL de agua destiladas des-ionizada. Luego, las soluciones acuosas obtenidas fueron filtradas a través de una gasa y posteriormente, cada extracto fue aplicado con una mochila manual “Guarany” de 16 L de capacidad, por el haz y envés de las hojas de las plantas. Se hizo una aplicación cada cinco días, la primera, 30 días posteriores a la germinación de las semillas (antes de la floración) y la última, a los 67 días (llenado de las legumbres). Todas las aplicaciones se efectuaron en horas de la tarde, después de cada riego.

En cada uno de los tratamientos, a partir del inicio de los síntomas y con una frecuencia quincenal se efectuaron las siguientes evaluaciones:

- **Porcentaje de grado de ataque:** Se determinó mediante la evaluación de 20 plantas al azar, ubicadas en los surcos centrales de cada parcela con base a una escala de siete grados (tabla 1) con la ayuda de la fórmula Townsend y Heuberger (Ciba-Geigy, 1981).
- **Número de pústulas:** A los 60 días de la siembra se recolectaron 20 hojas (al azar) de los surcos centrales de cada parcela, a las que se les realizó un conteo de pústulas. Subsiguientemente, se ubicaron los tratamientos según la cantidad de pústulas en los rangos definidos de la gradología (tabla 2).
- **Diámetro de las pústulas:** Consistió en medir bajo el microscopio estereoscópico el diámetro de las pústulas para diferenciar el tipo de ataque. La clasificación del grado de susceptibilidad de la variedad se realizó al determinar el tamaño promedio del tipo de pústula predominante según la escala del Vivero Internacional de Roya del Frijol (tabla 3).

Tabla 1. Escala de siete grados de González y García

Grado	Descripción
0	Planta sana
0,1	Aparición de las primeras pústulas
1	Hasta un 20 % del área foliar afectada
2	De 21-40 % del área foliar afectada
3	De 41-60 % del área foliar afectada
4	De 61-80 % del área foliar afectada
5	Más del 80 % del área foliar afectada

Tabla 2. Gradología según el número de pústulas de *U. phaseoli*

Grado	Número de pústulas
0	0
1	1-10
2	11-30
3	31-60
4	61-100
5	más de 100

• **Rendimiento:** Se cosecharon 10 plantas de los dos surcos centrales y después de ser pesada la producción obtenida, se calculó el rendimiento (g/planta) de cada tratamiento.

El procesamiento estadístico de los datos consistió en el análisis de varianza de clasificación simple, posterior a la comprobación de los supuestos de homogeneidad de varianza y normalidad. Se realizaron comparaciones de medias mediante las pruebas de Duncan y Tukey. El paquete estadístico utilizado fue STATGRAPHICS Centurium XV sobre Windows.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos sobre el efecto de la aplicación de los tratamientos en la distribución de la enfermedad e intensidad de la infección provocado por *U. phaseoli* en diferentes momentos de evaluación se muestran en la figura 1 y la tabla 4. A los 35 días, el mayor porcentaje de intensidad de ataque y distribución de la enfermedad se produjo en el tratamiento control absoluto (sin aplicación de extracto), momento en el cual se detectó el inicio de la enfermedad, coincidiendo con la fase fenológica de inicio de la floración. El resto de los tratamientos mostraron diferencias estadísticas entre sí respecto a estas variables evaluadas, con excepción de los tratamientos donde se aplicaron los extractos de flores al 10 % y extractos de hojas al 5 % para el caso de la variable distribución de la enfermedad, y los tratamientos donde se asperjaron los extractos de flores al 5 y 10 % respectivamente, para la intensidad del ataque de la enfermedad.

Debido a la diversidad de la naturaleza química de los diferentes agentes alelopáticos, no existe

Tabla 3. Escala del Vivero Internacional de Roya del Frijol (IBRN) descrita por el CIAT (1984)

Grado	Características de las pústulas	Categorías
1	Sin evidencias de infección	Inmune
2	Manchas necróticas sin esporulación	Resistente
3	Pústulas menor de 0,3 mm	Moderadamente resistente
4	Pústulas de 0,3-0,5 mm y algunas veces rodeadas por halos cloróticos	Moderadamente susceptible
5	Pústulas mayor de 0,5 mm y generalmente rodeadas por halos cloróticos	Susceptible

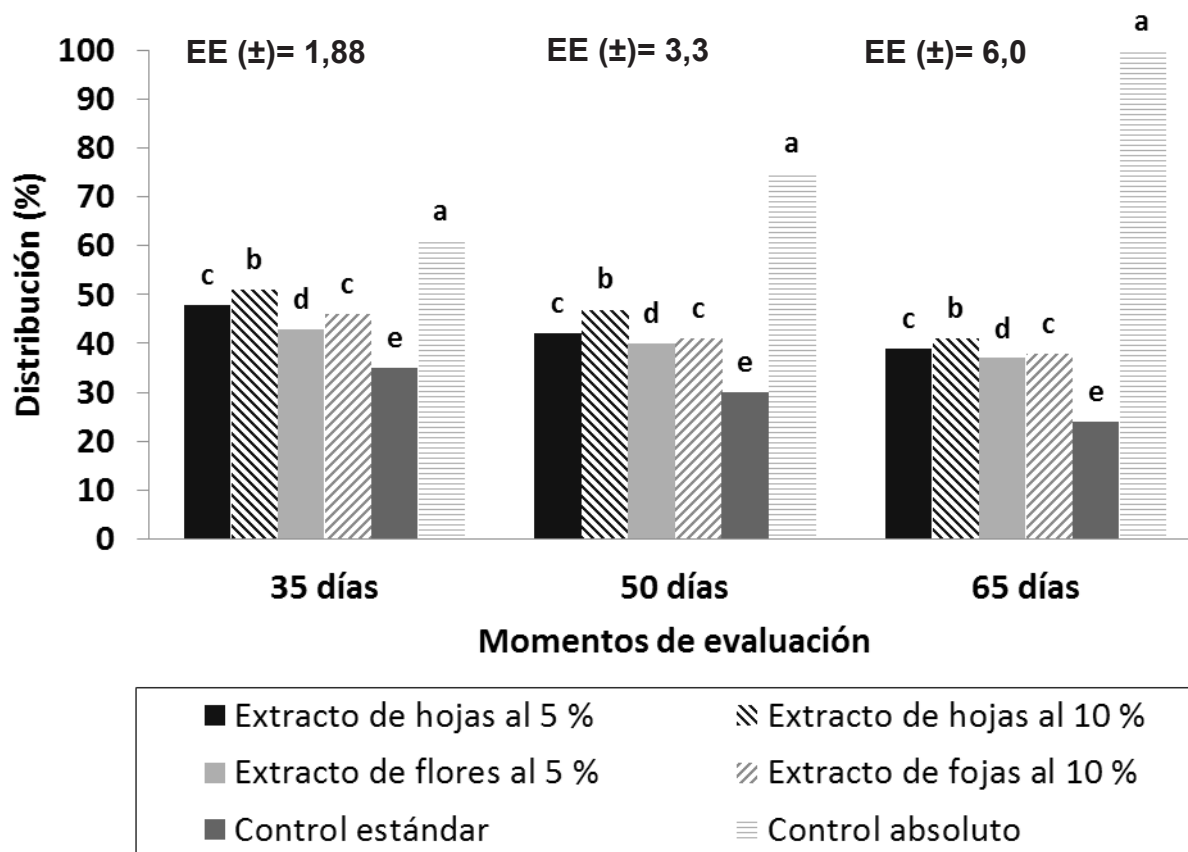


Figura 1. Efecto de los extractos de *S. campanulata* sobre la distribución de la roya del frijol en los diferentes momentos de evaluación

*Medias con letras desiguales en las barras para cada momento de evaluación difieren según la prueba de Tukey (P<0,05)

Tabla 4. Efecto de los extractos de *S. campanulata* sobre la intensidad de la roya del frijol en los diferentes momentos de evaluación

Tratamientos	Intensidad de ataque (%)		
	35 días	50 días	65 días
Extracto de hojas al 5 %	35,5 b	31,8 b	23,6 c
Extracto de hojas al 10 %	37,6 b	33,3 b	26,6 b
Extracto de flores al 5 %	30,0 c	26,0 c	19,8 c
Extracto de flores al 10 %	33,6 bc	29,5 b	22,0 c
Control estándar	19,6 d	11,8 d	5,5 d
Control absoluto	42,0 a	53,2 a	61,6 a
E.E. (±) \bar{x}	1,7	2,96	4,14
C.V. (%)	11,92	10,59	16,21

Medias con letras desiguales en el sentido de las columnas difieren según la prueba de Tukey (P<0,05)

un mecanismo de acción único que explique la manera en que éstos afectan a la planta receptora. Esto se debe a las interacciones sinérgicas y aditivas, lo cual dificulta determinar la actuación de cada compuesto presente (Sampietro, 2008).

Los mecanismos de acción de los metabolitos secundarios son variables: Inhibición enzimática por oxidación de compuestos, rompimiento de la membrana a través de los compuestos lipofílicos, intercalado con el DNA de la célula del hongo, formación de canales iónicos en la membrana fúngica, inhibición competitiva por adhesión de proteínas microbianas a los polisacáridos receptores del hospedante (Hernández-Lazurdo *et al.*, 2007).

Varios autores refieren que tanto los taninos como los flavonoides pueden afectar diferentes componentes de la cadena respiratoria. Uno de los más sensibles a la acción de estos metabolitos es el complejo II (succinato deshidrogenasa). Los taninos pueden acoplarse a este enzima y provocar su inhibición de forma tal que no permita el paso electrónico del complejo I al III, por tanto no se obtiene la energía necesaria para el desarrollo celular (Gregory, 2005). Es posible que de esta forma también se afecte el ciclo de Krebs pues este enzima participa en la conversión del

succinato en fumarato, además, sirve de enlace entre la cadena respiratoria en el ciclo.

Ciertos flavonoides parecen interferir en la organización funcional o estructural del cloroplasto. El quemperol, por ejemplo, aparentemente inhibe la transferencia de energía, impidiendo la síntesis de ATP.

A los 50 días, de manera similar a los resultados obtenidos en la evaluación anterior, se encontró el mayor porcentaje de intensidad de ataque y distribución de *U. phaseoli* en el control absoluto, el cual difirió del resto de los tratamientos.

El menor valor de intensidad de ataque se obtuvo en el tratamiento donde se aplicó el fungicida Orius, producto recomendado para el control de la roya del frijol en la estrategia nacional fitosanitaria (MINAG, 2013).

En el último momento de evaluación (65 días), la distribución de la enfermedad alcanzó el 100 % en el control absoluto, sin embargo, sobre el resto de los tratamientos estas variables fueron declinando con el tiempo, efecto que se atribuye al efecto protector de los extractos de plantas sobre la enfermedad.

Al analizar las otras variables cuantitativas que caracterizan la resistencia del hospedante a la enfermedad tales como el número de pústulas por hojas (pústulas/hoja) y el diámetro de las

Tabla 5. Influencia de los tratamientos sobre las variables cuantitativas de la enfermedad

Tratamientos	Número de pústulas/hoja	Diámetro de la pústula (mm)
Extracto de hojas al 5 %	56 b	0,42 b
Extracto de hojas al 10 %	59 b	0,46 b
Extracto de flores al 5 %	25 d	0,28 d
Extracto de flores al 10 %	39 c	0,35 c
Control estándar	16 e	0,23 e
Control absoluto	99 a	0,60 a
E.E. (\pm) \bar{x}	2,81	0,01
C.V. (%)	12,8	13,5

*Medias con letras desiguales en el sentido de las columnas difieren según la prueba de Tukey ($p < 0,05$)

pústulas se hallaron diferencias estadísticas entre los tratamientos (Tabla 5).

Los mejores resultados, para estas variables se obtuvieron con el control estándar (tebuconazole), los cuales difirieron de los extractos de hojas al

5 y 10 %. No obstante, los peores resultados se obtuvieron en el control absoluto (tratamiento donde no se aplicó extracto vegetal).

Entre los extractos acuosos, los que mejores resultados arrojaron fueron los de flores al 5 y

10 %, respectivamente, al encontrarse menor cantidad de pústulas por hojas y diámetros de las pústulas. Ambas variables caracterizan la infección de este agente patógeno. Este resultado puede explicarse debido al efecto inhibitorio del extracto de *S. campanulata* sobre las estructuras de reproducción del hongo fitopatógeno, lo cual, desde el punto de vista epifitológico, permite una menor dispersión de la enfermedad en las condiciones de campo, al encontrarse presente menor cantidad de inóculo.

Este resultado también puede estar influenciado por la actividad antifúngica de algunos aleloquímicos del tipo terpenoides, producidos por diversas plantas, los que actúan sobre rutas metabólicas específicas que les confieren a los patógenos su resistencia a factores adversos. Un ejemplo de ello se obtiene con un terpenoide del extracto etanólico de Neem, este compuesto tiene la capacidad de afectar la ruta de generación de melanina en ciertos hongos como *Aspergillus* o *Rhizopus*, lo cual deforma sus esporas e impide que continúen desarrollándose.

En la literatura científica son escasas las referencias que abordan las propiedades antifúngicas de esta especie vegetal para el

control de la roya del frijol. Al analizar el efecto de los tratamientos sobre el rendimiento se puede constatar que los mejores resultados coinciden con el tratamiento donde se asperjó el fungicida tebuconazole (figura 2). Entre los tratamientos donde se aplicaron los extractos acuosos a las dos concentraciones en estudio no se encontraron diferencias significativas.

En la literatura consultada se hace referencia a los extractos alelobióticos o estimuladores del desarrollo vegetal, los cuales son sustancias exógenas no nutritivas que inciden en el crecimiento, el desarrollo y la composición de las plantas. De acuerdo con la literatura especializada, la función de estos extractos puede estar relacionada con grupos fitohormonales endógenos que actúan como retardantes del crecimiento, inductores de la floración, promotores de madurez, aumentadores de la producción de biomasa, entre otros.

CONCLUSIONES

1. Los mejores tratamientos para el control de la roya fueron los extractos acuosos de hojas y flores de *S. campanulata* a la concentración de 10 %.

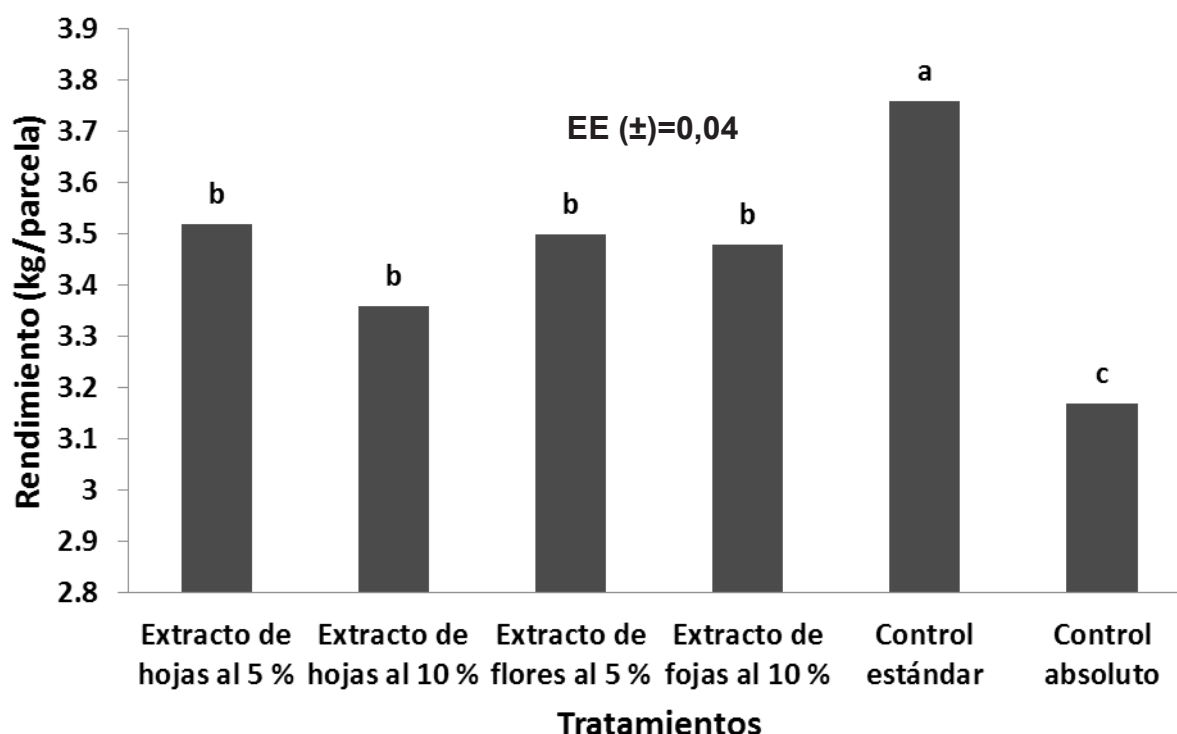


Figura 2. Efecto de los tratamientos sobre el rendimiento del cultivo

*Medias con letras desiguales en el sentido de las columnas difieren según la prueba de Duncan ($p < 0,05$)

2. Se demostró que todos los extractos fueron superiores al control absoluto e inferiores al estándar.

BIBLIOGRAFIA

1. CIAT: Vivero internacional de roya del frijol (IBRN). Resultados 1979-1980. Cali, Colombia, p. 4-5, 1984. ISSN: 0120-5935.
2. Ciba - Geigy: Manual para ensayos de campo en protección vegetal. 2da Edición. Basilea, Suiza. p.11-20, 1981.
3. Gregory, B. S.: Estructura y actividad de los antifúngicos. *Rev. Cubana de Farmacia*, 39 (2):45-51, 2005.
4. Hernández-Lauzardo, A.; S. Bautista-Baños y M. Velázquez: Prospectiva de extractos vegetales para controlar enfermedades postcosecha hortofrutícolas. *Rev. Fitotecnia Mexicana*, 2: 119-123, 2007.
5. León, I.; B. Faure; O. Rodríguez; R. Benítez; Y. Suarez y R. Rodríguez: Selección de nuevas variedades de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) frente a las principales enfermedades del cultivo en Cuba. *Fitosanidad*, 12 (1):27-31, 2008.
6. Martínez, J. V.; E. Estrada; A. Cáceres; G. Álvarez; P. A. García y S. Enrique: Detección de las plantas utilizadas para el manejo y control de enfermedades fungosas en los principales cultivos alimenticios y evaluación preliminar de su actividad in vitro. Proyecto de investigación, DIGI, Área técnica y científica asistencial, Universidad de San Carlos, Guatemala, 8 p., 2005.
7. Martínez, E.; G. Barrios; L. Revestí y R. Santos: Manejo integrado de plagas. Manual Práctico. Proyecto Biopreparados. CNVS (Centro Nacional de Sanidad Vegetal), La Habana, Cuba, 2007, 529 p.
8. MINAG: Listado oficial de variedades comerciales. Subdirección de certificación de semilla. CENSA, Mayabeque, Cuba. 2013, 41 p.
9. Montes, R.; V. Cruz; G. Martínez; G. Sandoval; R. García; S. Zilch; [et al.]: Propiedades antifúngicas en plantas superiores. Análisis retrospectivo de investigaciones. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 18 (2):125-131, 2000.
10. Paredes, L. O.; F. L. Guevara y L. A. Bello: Los alimentos mágicos de las culturas mesoamericanas. Editorial Fondo de Cultura Económica, México, D.F., 2006, 205 p. ISBN: 9681675673.
11. Sampietro, D. A.: Definición de alelopatía. *Futuro Verde*. 2008. En sitio web: http://www.pwp.007mundo.com/futuroverde/documentos_658.htm consultado el 20 diciembre de 2011.
12. Socorro, Q. M. y F. D. Martín: Granos. Editorial Pueblo y Educación, La Habana, Cuba. 1989, 318 p.

Recibido el 14 de septiembre y aceptado el 22 de octubre de 2015