

COMUNICACIÓN BREVE

## Efecto sobre la microbiota del suelo de extractos de *Citrus* spp. con actividad antifúngica

### Effects on the soil microbiota of *Citrus* spp. extracts with antifungal activity

Katia Ojito-Ramos<sup>1\*</sup> , René Cupull Santana<sup>2</sup> , Orelvis Portal<sup>1,3</sup> 

<sup>1</sup> Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, Carretera a Camajuaní km 5½, Santa Clara, Villa Clara, Cuba, 54 830

<sup>2</sup> Centro de Bioactivos Químicos, Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, Carretera a Camajuaní km 5½, Santa Clara, Villa Clara, Cuba, 54 830

<sup>3</sup> Centro de Investigaciones Agropecuarias, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, Carretera a Camajuaní km 5½, Santa Clara, Villa Clara, Cuba, 54 830

#### INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Recibido: 05/05/2020  
Aceptado: 14/09/2020

#### CONFLICTOS DE INTERESES

Los autores declaran no existir conflictos de intereses.

#### AUTOR PARA CORRESPONDENCIA

Katia Ojito-Ramos  
[kojito@uclv.edu.cu](mailto:kojito@uclv.edu.cu)



#### RESUMEN

La microbiota del suelo tiene un papel importante en los ecosistemas agrícolas, por lo que es imprescindible protegerla. Para aplicar de manera segura fungicidas de origen natural como extractos hidroalcohólicos de *Citrus* spp. que presentan actividad antifúngica frente a hongos fitopatógenos del tomate, se hace necesario determinar el efecto de estos sobre los microorganismos del suelo. Los extractos se obtuvieron mediante extracción por ultrasonido y se realizó el análisis microbiológico del sustrato en estudio posterior a la aplicación de los mismos. Se evaluaron bacterias, hongos totales, actinomicetes, azotobacter y hongos celulolíticos. Los extractos no mostraron efectos negativos sobre la microbiota del suelo, por lo que pueden emplearse en el control agroecológico de enfermedades en el tomate.

**Palabras clave:** análisis microbiológico, control agroecológico, tomate

#### ABSTRACT

The soil microbiota plays an important role in agricultural ecosystems, so it is essential to protect it. To safely apply fungicides of natural origin such as hydroalcoholic extracts of *Citrus* spp., that present antifungal activity against tomato phytopathogenic fungi, it is necessary to determine the effect of these on the soil microorganisms. The extracts were

obtained by ultrasound extraction and the microbiological analysis of the substrate under study was carried out after their application. Bacteria, total fungi, actinomycetes, azotobacter and cellulolytic fungi were evaluated. The extracts did not show any negative effects on the soil microbiota, so they could be used in the agroecological control of tomato diseases.

**Keywords:** microbiological analysis, agroecological control, tomato

Los hongos *Passalora fulva*, *Stemphyllium solani* y *Alternaria solani* son agentes causales de enfermedades de importancia económica en el tomate. El principal método de control de estos es el empleo de fungicidas sintéticos (Kristl *et al.*, 2019). El incremento de la resistencia a estos fungicidas sintéticos, la contaminación ambiental y la toxicidad provocada por el abuso de los mismos ha aumentado la demanda de antifúngicos de origen natural (El-Nagar *et al.*, 2020).

El género *Citrus* es una fuente importante de compuestos bioactivos con actividad antifúngica (Ramírez-Pelayo *et al.*, 2019). Se ha constatado que extractos hidroalcohólicos de hojas de *Citrus* spp. tienen actividad antifúngica frente a hongos fitopatógenos de tomate, basado en la concentración de fenoles totales. La mayor efectividad la presentaron los extractos etanólicos de hojas de *Citrus aurantiifolia* frente a *P. fulva* (Ojito-Ramos *et al.*, 2019) y de *Citrus latifolia* frente a *A. solani* (Ojito-Ramos *et al.*, 2017) con concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) de 20 mg de equivalentes de ácido gálico mL<sup>-1</sup> de extracto (mg EAG mL<sup>-1</sup>), el extracto etanólico de *Citrus aurantium* var. *sinensis* y el metanólico de *Citrus reticulata* frente a *S. solani* (Iglesias *et al.*, 2017) con CMI de 2,5 mg EAG mL<sup>-1</sup>. Para aplicar de manera segura cualquier fungicida, incluso de origen natural, se hace necesario validar que el mismo no es tóxico para el ambiente.

La microbiota del suelo tiene un papel importante en los ecosistemas agrícolas; participa en la adquisición de nutrientes, en el ciclo del nitrógeno, carbono y biogeoquímicos. Además, participa en la formación del suelo, favorece la fertilidad y la detoxificación de residuos de fungicidas (García-Delgado *et al.*, 2019). Por tal motivo, es necesario determinar el efecto de los extractos de *Citrus* spp. con

actividad antifúngica sobre la microbiota del suelo debido a que, aunque la aplicación de los mismos se realiza sobre las hojas de las plantas de tomate, cuando se logra una cobertura máxima de aplicación el extracto cae al sustrato, favoreciendo el proceso de lixiviación en el mismo.

Las hojas de *C. aurantiifolia*, *C. latifolia*, *C. aurantium* var. *sinensis* y *C. reticulata* se colectaron en el área de colecciones vivas de plantas del Jardín Botánico de Villa Clara, perteneciente a la Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, Santa Clara, Cuba (22N25'55", 79W53'44"). A 2 g de hojas pulverizadas se le adicionaron 20 mL de disolvente de extracción: etanol 70 % y metanol 70 %, según corresponda. La obtención de los extractos fue mediante extracción asistida por ultrasonido durante 20 min.

Como sustrato se empleó una mezcla (75:25) de biocompost y suelo pardo mullido medianamente lavado. El sustrato se colocó en macetas de 1 kg de capacidad y se asperjó con 10 mL de cada extracto a la concentración de fenoles totales, según la CMI efectiva referida anteriormente. Para ello, se cuantificaron los fenoles totales según Elkhatim *et al.* (2018). Como control negativo se utilizó un sustrato al que se le asperjó agua destilada estéril.

Después de 72 h de asperjado el sustrato con los extractos, se realizó el análisis microbiológico del suelo según lo orientado por Mayea *et al.* (1982). Se realizaron diluciones seriadas a partir de 1 g de sustrato tratado y control. El conteo de colonias de las bacterias fue ejecutado a las 48 h de incubación. Los hongos totales, azotobacter y actinomycetes se evaluaron a los siete días de incubación, mientras que los hongos celulolíticos a los 15 días de incubación. Los datos obtenidos se procesaron estadísticamente mediante la prueba T para muestras

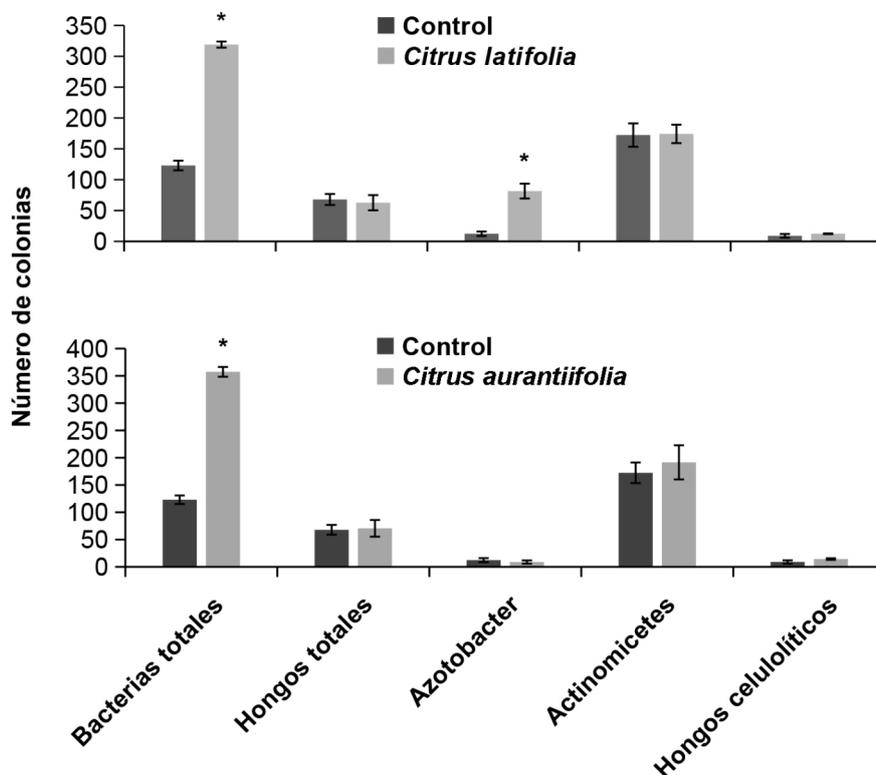
independientes. Por cada sustrato tratado con los extractos y el control negativo se realizaron tres réplicas, y el ensayo completo se realizó dos veces.

Los extractos evaluados no mostraron efectos negativos sobre la microbiota del suelo, debido a que no disminuyó la cantidad total de colonias de los microorganismos evaluados con respecto al control (Figuras 1 y 2). Solamente, disminuyó significativamente el número de colonias de actinomicetes (31 %) cuando se aplicó el extracto de *C. aurantium* var. *sinensis* respecto al número de colonias presentes en el sustrato control. No obstante, aumentaron en más de un 56 % el número de colonias de las bacterias totales con el empleo de todos los extractos y el número de colonias de azotobacter se incrementó un 86 %, cuando se usó el extracto etanólico de hojas de *C. latifolia*. En adición, no se encontraron diferencias en la cantidad de hongos totales del suelo, lo cual sugiere que los extractos evaluados pudieran

tener cierto grado de especificidad de acción frente a cada uno de los hongos fitopatógenos, frente a los cuales tienen actividad antifúngica.

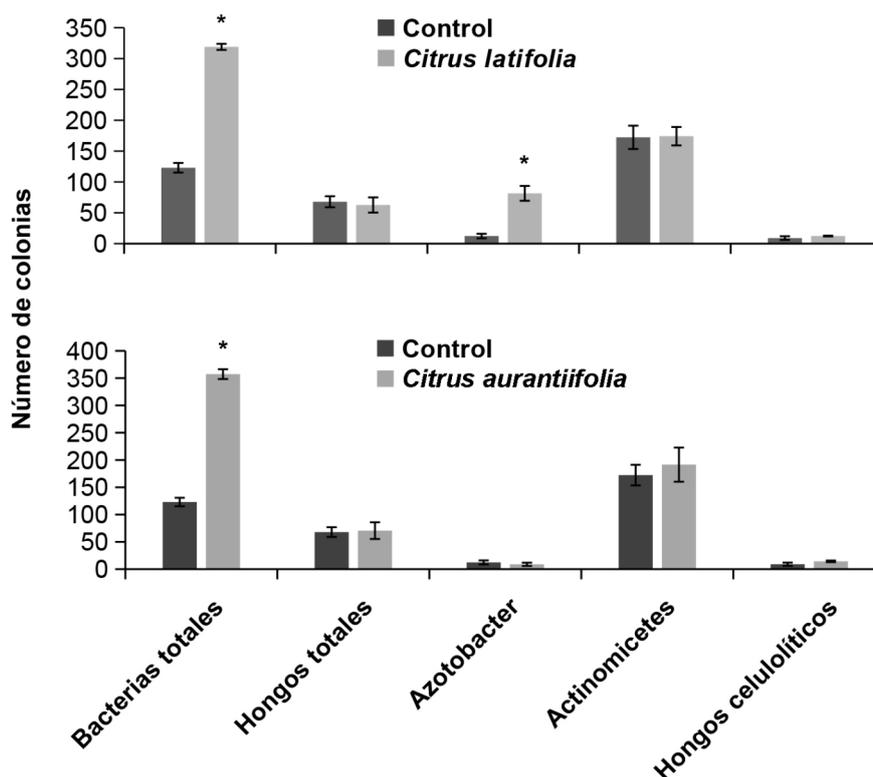
Se ha demostrado que existe una correlación significativa entre la actividad metabólica microbiana, la diversidad y el pH del suelo, el cual es un factor dominante de regulación de la biodisponibilidad de los nutrientes del suelo y la productividad primaria de las plantas (Hao *et al.*, 2020). Los fungicidas provocan daños al suelo porque reducen el número y diversidad de microorganismos, así como su actividad bioquímica y con ello la ruptura del balance natural (Rodríguez-Cruz *et al.*, 2019).

Los resultados de esta investigación demuestran que la utilización de estos extractos, de manera general, no afectan la microbiota del suelo; por lo tanto, los extractos de *Citrus* spp. evaluados pueden incluirse en un sistema de manejo integrado para el control agroecológico de enfermedades foliares en el cultivo del tomate.



Asteriscos en las barras indican diferencias estadísticas, según análisis de Prueba T para muestras independientes ( $p < 0,05$ )

**Figura 1.** Número de colonias de microorganismos presentes en el sustrato (75:25; biocompost: suelo pardo mullido medianamente lavado) asperjado con los extractos de hojas de *Citrus latifolia* y *Citrus aurantiifolia* o con agua destilada estéril (Control negativo)



Asteriscos en las barras indican diferencias estadísticas, según análisis de Prueba T para muestras independientes ( $p < 0,05$ )

**Figura 2.** Número de colonias de microorganismos presentes en el sustrato (75:25; biocompost: suelo pardo mullido medianamente lavado) asperjado con los extractos de hojas de *Citrus aurantium* var. *sinensis* y *Citrus reticulata* o con agua destilada estéril (Control negativo)

## CONTRIBUCIÓN DE CADA AUTOR

**Katia Ojito-Ramos:** conceptualizó y formuló los objetivos generales de la investigación, diseñó la investigación, analizó estadísticamente los datos, coordinó, planificó y ejecutó las actividades de investigación, fue el responsable de escribir el manuscrito publicado, específicamente, la redacción del borrador, incluida la rectificación de los señalamientos realizados al mismo por los árbitros y Consejo Editorial.

**René Cupull Santana:** contribuyó al diseño de la investigación, evaluó y recopiló los datos obtenidos en las pruebas de los experimentos.

**Orelvis Portal:** conceptualizó y formuló los objetivos generales de la investigación, contribuyó en la preparación, creación y presentación del trabajo publicado, fue el

responsable de la gestión, coordinación, planificación y ejecución de las actividades de investigación.

## BIBLIOGRAFÍA

- EL-NAGAR, A., ELZAAWELY, A.A., TAHA, N.A., *et al.* 2020. The antifungal activity of gallic acid and its derivatives against *Alternaria solani*, the causal agent of tomato early blight. *Agronomy*, 10: 1402.
- ELKHATIM, K.A.S., ELAGIB, R.A.A. and HASSAN, A.B. 2018. Content of phenolic compounds and vitamin C and antioxidant activity in wasted parts of *Sudanese citrus* fruits. *Food Science & Nutrition*, 6: 1214-1219.
- GARCÍA-DELGADO, C., BARBA-VICENTE, V., MARÍN-BENITO, J.M., *et al.* 2019. Influence of different agricultural

- management practices on soil microbial community over dissipation time of two herbicides. *Science of The Total Environment*, 646: 1478-1488.
- HAO, Z., CHEN, B. and LI, X. 2020. Relationship between soil chemical properties and microbial metabolic patterns in intensive greenhouse tomato production systems. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 66: 1334-1343.
- IGLESIAS, D., OJITO-RAMOS, K., LINARES RIVERO, C., *et al.* 2017. Actividad antifúngica *in vitro* de extractos de hojas de *Citrus* spp. frente a *Stemphyllium solani* Weber. *Centro Agrícola*, 44: 5-12.
- KRISTL, J., SEM, V., KRISTL, M., *et al.* 2019. Effects of integrated and organic pest management with copper and copper-free preparations on tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) fruit yield, disease incidence and quality. *Food Chemistry*, 278: 342-349.
- MAYEA, S., NOVO, R. y VALIÑO, A. 1982. Introducción a la microbiología del suelo. La Habana, Cuba, Pueblo y Educación, 186.
- OJITO-RAMOS, K., GONZÁLEZ-HERNÁNDEZ, D., IGLESIAS, D., *et al.* 2017. Efecto de extractos de hojas de *Citrus latifolia* (Tanaka ex Yu. Tanaka) Tanaka y *Citrus aurantiifolia* (Christm.) Swingle sobre la membrana y respiración celular de *Alternaria solani* Sor. *Revista de Protección Vegetal*, 32: 68-75.
- OJITO-RAMOS, K., GONZÁLEZ-HERNÁNDEZ, D., IGLESIAS, D., *et al.* 2019. Daño a la membrana y respiración celular de *Passalora fulva* por extractos de hojas de *Citrus aurantiifolia*. *Bioteconología Vegetal*, 19: 97-102.
- RAMÍREZ-PELAYO, C., MARTÍNEZ-QUIÑONES, J., GIL, J., *et al.* 2019. Coumarins from the peel of citrus grown in Colombia: composition, elicitation and antifungal activity. *Heliyon*, 5: e01937.
- RODRÍGUEZ-CRUZ, M.S., POSE-JUAN, E., MARÍN-BENITO, J.M., *et al.* 2019. Pethoxamid dissipation and microbial activity and structure in an agricultural soil: Effect of herbicide rate and organic residues. *Applied Soil Ecology*, 140: 135-143.



Artículo de libre acceso bajo los términos de una *Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-SinDerivar 4.0 Internacional*. Se permite, sin restricciones, el uso, distribución, traducción y reproducción del documento, siempre que la obra sea debidamente citada.