

## EFECTO INHIBITORIO *IN VITRO* DE CINCO MONOTERPENOS DE ACEITES ESENCIALES SOBRE UN AISLADO DE *RHIZOCTONIA SOLANI* EN PAPA (*SOLANUM TUBEROSUM* L.)

Daymara Vaillant Flores,<sup>1</sup> Carlos Romeu Carballo,<sup>1</sup> Elda Ramos Ramos,<sup>1</sup> Marleny González García,<sup>1</sup> Rebeca Ramírez Ochoa<sup>1</sup> y Johan González Pentón<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 no. 514 e/ 5.<sup>a</sup> B y 5.<sup>a</sup> F, Playa, Ciudad de La Habana, CP 11600, [dvaillant@inisav.cu](mailto:dvaillant@inisav.cu)

<sup>2</sup> Instituto Politécnico de Química Industrial Mártires de Girón. Ave 5.<sup>a</sup> no. 16607, Playa, Ciudad de La Habana

### RESUMEN

En los últimos años la sociedad mundial ha priorizado los aspectos ambientales, y ha conducido un grupo de investigaciones hacia el descubrimiento de nuevas alternativas para el manejo integrado de plagas y enfermedades, con menos efectos negativos al ambiente. Los aceites esenciales, que hasta hace poco eran empleados solamente en la industria farmacéutica y cosmética, en la actualidad tienen gran importancia por su efecto en el control de plagas y enfermedades de las plantas. Basado en este criterio, se evaluó la actividad fungicida de cinco monoterpenos (mentol, timol, alcanfor, citronelal y 1,8 cineol) comúnmente encontrados en aceites esenciales. Se empleó el método de envenenamiento del medio de cultivo a concentraciones de 0,5; 0,1 y el 0,05% p/v para evaluar el efecto inhibitorio de cada uno sobre un aislado de *Rhizoctonia solani*, causante de la rizoctoniasis en papa. Se calculó el porcentaje de inhibición y los resultados se analizaron estadísticamente. Se obtuvo que timol, mentol y citronelal tuvieron el 100% de inhibición al 0,1 y el 0,5%; Por otra parte, alcanfor y 1,8 cineol mostraron resultados por debajo del 100%; pero se valorarán para posteriores estudios, donde el rango de concentración sea mayor.

Palabras claves: *Rhizoctonia solani*, aceites esenciales, monoterpenos, efecto inhibitorio

### ABSTRACT

The looking for new alternative to chemical control for integrated pest management to reduce the environmental impact has received attention internationally in last decades. Essentials oils have been using in pharmaceutical and cosmetic industry, recently they have become in an interesting possibility for pest and disease control. The fungicide activity of five monoterpenes (menthol, thymol, camphor, citronellal and 1,8 cineol), commonly found in essentials oils was evaluated. The method of culture media poisoning was used with concentration of 0,5; 0,1 y 0,05% w/v. The inhibitory effect was evaluated on a *Rhizoctonia solani* isolate, pathogen which causes rizoctoniasis in potato crops. The inhibition percentage was calculated and the results were statistically analyzed. Thymol, menthol and citronellal showed 100% of inhibition at 0,5 and 0,1%. The monoterpenes camphor and 1,8 cineol showed lower values of inhibition percentage, but they will taking into account for future studies with a wider range of concentration.

Key words: *Rhizoctonia solani*, essentials oils, monoterpenes, inhibitory effect

### INTRODUCCIÓN

El cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* L.) constituye una valiosa fuente de alimentación en un gran número de países [Estévez *et al.*, 2001]. Una de las enfermedades fungosas que más daño causa a este cultivo es la rizoctoniasis (*Rhizoctonia solani* teleomorfo: *Tanetephorus cucumeris*) [Castellanos *et al.*, 2005]. Este patógeno está presente en numerosas áreas productivas, y afecta todas las fases del cultivo desde la emergencia hasta la cosecha. Las plantas infectadas tienden a producir tubérculos deformes, lo que reduce el rendimiento comercial [Acuña y Vargas, 2004].

Se ha comprobado que los plaguicidas químicos, y en particular los fungicidas, pueden tener impactos negativos en la biodiversidad de los agroecosistemas, así como en la salud pública. Por esta razón los científicos trabajan en el desarrollo de alternativas de control ecológicas [Zavaleta, 2000]. Una de las más actuales es el uso de productos derivados de las plantas, como aceites esenciales: terpenos, lignanos, alcaloides, azúcares, esteroides, entre otros [Dixon, 2001].

Los monoterpenos presentes en aceites esenciales son compuestos que resultan menos perjudiciales que los

fungicidas químicos desde el punto de vista ambiental [Saccheti *et al.*, 2005]. Varios investigadores han comprobado el efecto de estas sustancias sobre insectos plaga y microorganismos que afectan cultivos de importancia económica [Gómez, 2006].

En el presente trabajo se evalúa la actividad fungicida *in vitro* de cinco monoterpenos a diferentes concentraciones sobre un aislado del hongo *R. solani* obtenido de papa.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Los monoterpenos 1,8 cineol, timol, mentol y alcanfor se utilizaron con una pureza superior al 90%. El citronelal se obtuvo a partir de *Cymbopogon nardus* L.

(citronela) por el método de hidrodestilación, y el porcentaje del monoterpeno fue del 60%.

Se prepararon soluciones al 10% de cada monoterpeno en volumétrico de 25 mL, se le añadió 10 mL de ciclohexano hasta disolver y 5 mL de tween 80, y posteriormente se enrasó con ciclohexano. Como blanco se utilizó una solución de tween 80 al 20% en ciclohexano.

Para el bioensayo se empleó un aislado del hongo *Rhizoctonia solani* obtenido de papa, debidamente conservado. Para evaluar el efecto inhibitorio de los cinco monoterpenos sobre el hongo se prepararon tres soluciones a las concentraciones del 0,5; 0,1 y 0,05% [Zygodlo *et al.*, 2000], como indica la *Tabla*, disueltas en PDA previamente esterilizado en autoclave a 1 atm por 20 min.

**Contenido de los medios de cultivo envenenado**

Concentración del monoterpeno en PDA	Forma de obtención
0,5%	5 mL de solución 10% + 95 mL PDA
0,1%	1 mL de solución 10% + 99 mL PDA
0,05%	0,5 mL de solución 10% + 99,5 mL PDA

Las soluciones se extendieron en placas Petri de 9 cm de diámetro, con tres réplicas y un control negativo solo con medio PDA, además de un testigo que consistió en 0,5 mL de solución blanco en 95 mL de PDA. Una vez solidificado el medio se colocaron discos de 1 cm de diámetro del hongo *R. solani* en el centro de la placa y se incubaron a 28°C durante 72 h. Transcurrido el período de incubación se midió el diámetro de las colonias tratadas con el monoterpeno y la colonia testigo, y se calculó el porcentaje de inhibición mediante la fórmula:

$$\% \text{ inhibición} = [(DCC - DCT)/DCC] \times 100$$

*DCC*: Diámetro de la colonia control

*DCT*: Diámetro de la colonia tratada

Los datos de los experimentos descritos en los acápites anteriores se procesaron mediante análisis de varianza de clasificación simple (Anova) por medio del programa Analest.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la *Fig. 1* se muestra el comportamiento de cada monoterpeno a las diferentes concentraciones. Se des-

taca la actividad fungicida del timol y mentol, los cuales mostraron el 100% de inhibición a las concentraciones del 0,5 y el 0,1% significativamente diferentes con el control. Al 0,05% el timol obtuvo el mayor porcentaje de inhibición con respecto a los restantes monoterpenos, y mostró diferencias significativas con el control. Algunos autores han demostrado la actividad fungicida de aceites esenciales que contienen timol sobre hongos fitopatógenos tales como *Botrytis cinerea* y *Fusarium oxysporum* [Hernández *et al.*, 2007]. Existe un producto donde uno de los principios activos es el timol, el cual se emplea para el control de enfermedades fúngicas de poscosecha en frutas y hortalizas [García *et al.*, 2002].

También se ha probado el efecto inhibitorio del mentol sobre *R. solani* con porcentajes menores a los empleados [Gherman *et al.*, 2000]. Está reconocido además como un importante agente tóxico en insectos [Molina *et al.*, 2006].

En el caso del citronelal, para este monoterpeno se obtuvieron valores significativos sobre *R. solani* a las concentraciones del 0,5 y el 0,1%, que mostraron el 100% de inhibición del crecimiento del hongo (*Fig. 2*). Al 0,05% no mostró porcentajes elevados a pesar de que

tuvo diferencias significativas con respecto a los restantes monoterpenos y el control. La planta de citronela tiene como principal compuesto el citronelal, empleado

en la preparación de insecticidas [Guzmán *et al.*, 2004]. No se tienen informes acerca del uso de este monoterpeno como fungicida.

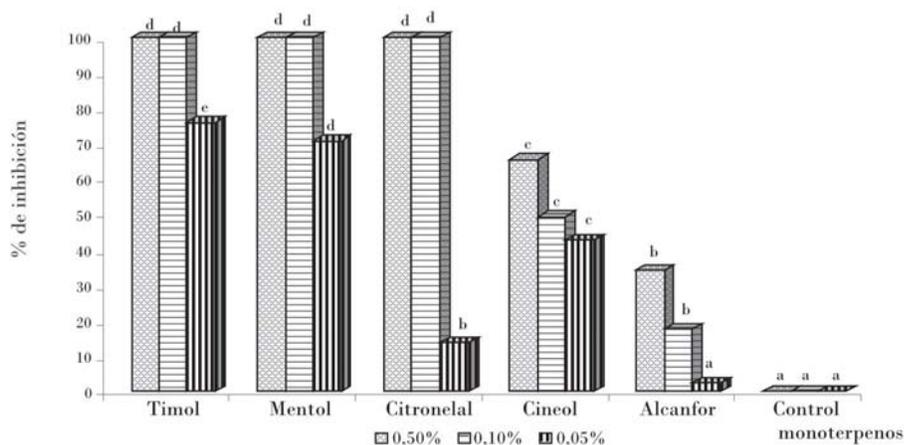


Figura 1. Porcentaje de inhibición de cada monoterpeno a las diferentes concentraciones.

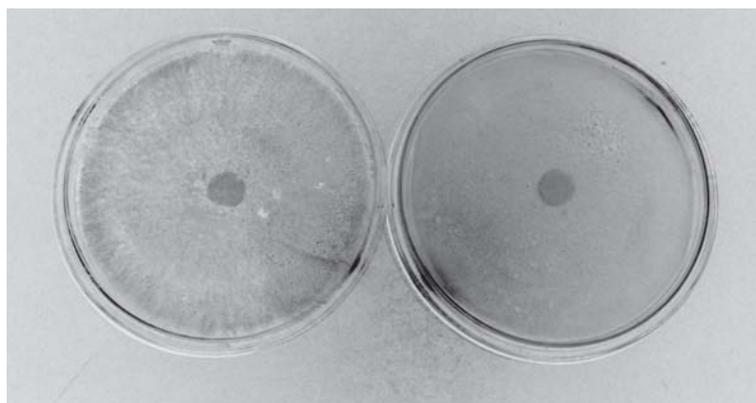


Figura 2. Efecto inhibitorio de citronelal. A la izquierda se muestra el crecimiento de *R. solani* sin el producto, y a la derecha el hongo con citronelal al 0,1%.

El 1,8 cineol obtuvo valores por encima del 70% de inhibición. Cada una de sus concentraciones mostró diferencias significativas con el control y el resto de los monoterpenos. El cineol está reconocido por su potencial alelopático contra malezas y plantas de cultivo, se utiliza desde hace mucho tiempo y su funcionamiento se basa en repeler insectos, gusanos y agentes vectores de enfermedades [Maggi, 2004]. No se encontraron informes acerca de su empleo como fungicida.

El alcanfor fue el monoterpeno que más bajos porcentajes obtuvo. Al 0,5 y al 0,1% solo logró inhibir con

valores inferiores al 50% con diferencias significativas. A la menor concentración el resultado fue muy pobre, y no mostró diferencias significativas con respecto al control. Se tienen referencias acerca de la actividad fungicida del alcanfor sobre *Alternaria solani*, *Sclerotium cepivorum* y *Colletotrichum coccodes* a una concentración de 100 mg/mL superior a las utilizadas en este trabajo [Firn y Jones, 2003]. El alcanfor además actúa como alelopático, e inhibe la germinación y el crecimiento de gramíneas que resultan malezas en los cultivos [López, 2008]. Este resultado discreto del alcanfor qui-

zás se deba a que las concentraciones que se han empleado resulten bajas para su actividad.

## CONCLUSIONES

- Timol y mentol resultaron los monoterpenos más efectivos contra *R. solani* a las dosis del 0,5; 0,1 y 0,05% p/v empleadas.
- El 1,8 cineol solo mostró valores significativos de inhibición del crecimiento micelial a la concentración del 0,5%.
- El alcanfor fue el menos activo con porcentaje de inhibición muy bajos a las concentraciones estudiadas.

## REFERENCIAS

- Acuña, I.; M. Vargas: «Rhizoctoniasis de la papa», *Boletín Informativo* 46:1-4, Instituto de Investigaciones Agropecuarias, La Habana, 2004.
- Castellanos, L.; T. Rivero; A. Pomas; J. Pajón: «Modelación matemática de *Alternaria solani* Sor en papa en función del tiempo», *Fitosanidad* 9 (1):28-33, La Habana, 2005.
- Dixon, R.: «Natural Products and Plant Disease Resistance», *Nature* 411:843-847, EE.UU., 2001.
- Estévez, A.; M. E. González; M. M. Hernández; J. Castillo; O. Moré; M. Cordero: «Estrategia para el desarrollo del mejoramiento de la papa», *Granma Ciencia* 5: 21-30, Cuba, 2001.
- Firn, R. D.; C. G. Jones: «Natural Products. A simple Model to Explain Chemical Diversity», *Natural Product Reports* 20 (3):382-391, Inglaterra, 2003.
- García, J. M.; I. Cenoz; C. García: «Composición natural para controlar la patología poscosecha de frutas y hortalizas y método de aplicación», Oficina Española de Patentes y Marcas, ES 2 163 999 1, 2002.
- Gherman, C.; M. Culea; O. Cozar: «Comparative Analysis of Some Active Principles of Herb Plants by GC/MS», *Talanta* 53 (1):253-262, Elsevier, Rumania, 2000.
- Gómez, M.: «Aceites esenciales contra hongos fitopatógenos» *Revista Andalucía Investiga*: 3, [http://www.andaluciainvestiga.com/espanol/revista/revista\\_2004.asp](http://www.andaluciainvestiga.com/espanol/revista/revista_2004.asp), 2006.
- Guzmán, S. P.; A. Trochéz; M. Zúñiga: «Efecto insecticida y residual de tres extractos de *Lippia alba* para el control de *Acanthoscelides obtectus* en frijol», *Diacol Calima*, Revista Científica Guillermo de Ockham 7 (1), Colombia, 2004.
- Hernández, A. N.; S. Bautista; M. G. Velásquez: «Prospectiva de extractos vegetales para controlar enfermedades poscosecha hortofrutícolas», *Revista Fitotecnia Mexicana* 30 (2):119-123, 2007.
- López, M. D.: «Toxicidad volátil de monoterpenoides y mecanismos bioquímicos en insectos plagas del arroz almacenado», Tesis en opción al título de Doctor en Ciencias, Universidad de Murcia, España, [http://www.tesisenxarxa.net/TESIS\\_UM/AVAILABLE/TDR-1218108-132706/LopezBelchi.pdf](http://www.tesisenxarxa.net/TESIS_UM/AVAILABLE/TDR-1218108-132706/LopezBelchi.pdf), 2008 (consulta 4 de septiembre del 2008).
- Maggi, M. E.: «Insecticidas naturales», <http://www.monografias.com/trabajos18/insecticidas-naturales/insecticidas-naturales.shtml>, 2004 (consultado 4 de septiembre del 2008).
- Molina, M.; I. Cabello; O. Lock: «Análisis cuantitativo de mentol en aceite esencial de menta», <http://old.iupac.org/publications/cd/medicinalchemistry/Practica-VI-4.pdf>, 2006 (consultado 4 de septiembre del 2008).
- Sacchetti, G.; S. Maietti; M. Muzzoli; M. Scaglianti; S. Manfredini; M. Radice; R. Bruni: «Comparative Evaluation of 11 Essential Oils of Different Origin As Functional and Spatial Analysis of Epidemics Caused by Species in the Genus Antioxidants, Antiradicals and Antimicrobials in Foods», *Food Chem.* 91:621-632, Alemania, 2005.
- Zavaleta, E.: «Alternativas del manejo de las enfermedades de las plantas», *Terra* 17:202-217, México, 2000.
- Zygodlo, J. A.; D. M. Maestri; A. L. Lamarque; C. A. Guzmán: «Fungitoxicidad de algunos terpenoides de *Lippia junelliana* (mold.) tronc», vol. XVI, IX Congreso Nacional de Recursos Naturales Aromáticos y Medicinales, Argentina, del 18 al 20 de noviembre del 2000, pp. 147-149.