

Combate de *Fusarium thapsinum* y *Claviceps africana* mediante semillas de sorgo tratadas con productos naturales

Roberto Montes Belmont¹
Hilda Elizabet Flores Moctezuma¹

RESUMEN. Se evaluó el efecto del bicarbonato de sodio (Na_2CO_3), extractos acuosos, etanólicos, polvos y aceites esenciales de canela (*Cinnamomum zeylanicum*, Lauraceae),clavo (*Syzygium aromaticum*, Myrtaceae), epazote (*Teloxys ambrosioides*, Chenopodiaceae),orégano (*Origanum vulgare*, Lamiaceae) y tomillo (*Thymus vulgaris*, Lamiaceae),solos y combinados entre sí, así como de los aceites esenciales de yerbabuena (*Mentha x piperita* L., Lamiaceae) y ruda (*Ruta chalepensis*, Rutaceae) sobre dos patógenos del sorgo: *Claviceps africana* y *Fusarium thapsinum*. Esto se hizo tanto sobre su desarrollo micelial *in vitro* como *in vivo*, tratando semillas contaminadas con uno u otro hongo. La dosis letal mínima (Dlm) de los extractos acuosos *in vitro* varió de 1 - 6% para *C. africana* con los extractos de clavo, canela,epazote y Na_2CO_3 , mientras que para *F. thapsinum* únicamente se determinó una Dlm para el clavo al 6%;los otros extractos no retrasaron el crecimiento de las colonias de los hongos o no mostraron ningún efecto sobre éstos. En la evaluación *in vivo* el Na_2CO_3 , los extractos acuosos, etanólicos y polvos solo tuvieron un efecto fungistático pero después de 2 o 3 días los hongos recuperaron su capacidad de crecimiento.Todos los aceites tuvieron un efecto fungicida,al igual que la combinación de los aceites de canela y clavo a dosis inferiores a su Dlm. Únicamente el aceite de tomillo no afectó la germinación de las semillas ni la altura de las plántulas de sorgo, y el resto de los aceites tuvo efecto fitotóxico.

Palabras clave: *Claviceps africana*, *Fusarium thapsinum*, Sorgo, Semillas, Patógenos, Extractos vegetales, Polvos vegetales, Aceites esenciales.

ABSTRACT. Sorghum seeds treated with natural products for the control of *Fusarium thapsinum* and *Claviceps africana*. The effect of sodium bicarbonate (Na_2CO_3), aqueous and ethanol extracts, powders and essential oils of: cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*), clove (*Syzygium aromaticum*), Mexican tea (*Teloxys ambrosioides*), oregano (*Origanum vulgare*) and thyme (*Thymus vulgaris*), singly and in combination, as well as of the essential oils of yerbabuena (*Mentha x piperita* L.,Lamiaceae) and rue (*Route chalepensis*, Rutaceae) on two pathogens *C. africana* and *F. thapsinum*, of sorghum was evaluated. The effects on mycelial growth were determined *in vitro* and *in vivo* on seeds contaminated with one or other of the fungi. The minimum lethal doses (Mld) for the aqueous extracts *in vitro* ranged from 1 to 6% in *C. africana* with cinnamon, clove, Mexican tea and Na_2CO_3 , whilst for *F. thapsinum* only clove had a Mld in 6%. The other extracts did not delay colony growth of the fungi and showed no effect on them.In *in vivo* tests, Na_2CO_3 , aqueous and ethanol extracts and powders were found to have a fungistatic effect but after 2 or 3 days the fungi recuperated their capacity for growth.All the essential oils and the combination of clove with cinnamon had a fungicidal effect with doses less than their Mld.Only thyme essential oil did not affect either seed germination or sorghum seedling height. The rest of the oils were phytotoxic.

Key words: *Claviceps africana*, *Fusarium thapsinum*, Sorghum, Seeds, Pathogens, Plant extracts, Powders, Essential oils.

¹ Centro de Desarrollo de Productos Bióticos. Instituto Politécnico Nacional. Morelos, México. rbelmont@redipn.ipn.mx

Introducción

En la producción de semillas de híbridos de sorgo las empresas productoras utilizan, como parte de su tecnología de producción, el tratamiento con fungicidas como captan y thiram para evitar problemas de germinación, así como para disminuir la incidencia del ahogamiento de plántulas ocasionadas por hongos como *Fusarium* spp., *Pythium* spp., *Rhizoctonia* spp. y *Phoma* spp. (Odvody y Forbes 1992, Fredericksen y Odvody 2000). Desde la aparición del ergot del sorgo *Claviceps africana* Fredericksen, Mantle y de Millano en el Continente Americano en 1995 (Ries *et al.* 1996), se ha estipulado también la necesidad de estrictas medidas fitosanitarias que incluyan el tratamiento de semillas con fungicidas durante el intercambio de material genético entre países (Bandyopadhyay *et al.* 1998) y en regiones de un mismo país. En los últimos años se ha cuestionado la eficacia de esta medida fitosanitaria para el maíz debido a que en la región media occidental de Estados Unidos se han detectado incidencias de ahogamiento de plántulas cercanas al 35% (McGee 1998, Mao *et al.* 1997). En sorgo también se ha informado de la ineficacia de los fungicidas thiram y captan para controlar enfermedades de plántulas (Fredericksen y Odvody 2000). En 1998 se constató en los municipios de Yautepec y Jonacatepec del estado de Morelos (parte central de México con clima subtropical), incidencias de entre 70 y 90% de pudriciones de raíces en plántulas de híbridos de sorgo Pioneer 8418, tratadas con captan, (datos sin publicar). De éstas se hicieron aislamientos resultando como especie predominante *Fusarium thapsinum* Klittich, Leslie, Nelson et Manasas, con un 83% de frecuencia, y el 17% restante correspondió a *Fusarium graminearum* Schwabe y a otra especie no identificada. Esto mostró que a pesar de que el porcentaje de germinación era cercano al 95%, la protección postemergente era muy pobre.

Otro factor importante en este problema es la creciente presión de organismos no gubernamentales de carácter ecologista y de algunas instituciones gubernamentales, especialmente en países desarrollados, para evitar el uso de fungicidas sintéticos y consecuentemente el desarrollo de razas de patógenos resistentes y el potencial efecto carcinógeno de algunos de estos productos (Zaki *et al.* 1997, Wilson y Wisniewsky 1992). Una opción para el control de patógenos de semillas ha sido el uso de microorganismos benéficos, tanto bacterias como hongos antagonistas aplicados a las semillas (Harman 1991); sin embargo,

su uso ha sido limitado porque su eficacia es disminuida por factores ambientales. Otra opción potencial son los productos naturales derivados de plantas con propiedades antifúngicas que han dado resultados contra *Aspergillus flavus* en semillas de maíz (Montes y Carvajal 1998). En estudios *in vitro* con *Fusarium moniliforme* se ha encontrado que los polvos de *Amphipteridium adstringens*, *Rosmarinus officinalis*, *Thymus vulgaris*, *Piper nigrum*, *Cestrum nocturnum* y *Haematoxylon brasiletto* retrasan el crecimiento micelial y afectan la esporulación (Bravo *et al.* 2000). También se ha demostrado el efecto fungicida de aceites esenciales vegetales sobre este hongo (Bravo *et al.* 1998). En este trabajo se evaluó el efecto de extractos acuosos, etanólicos, polvos y aceites esenciales de origen vegetal, así como el bicarbonato de sodio, en forma individual y combinaciones de los tratamientos que lograron mejores resultados; tanto sobre el desarrollo micelial *in vitro*, como para el control de *F. thapsinum* y *C. africana* en semillas de sorgo, con base en experiencias previas de este tipo de productos con varios hongos fitopatógenos (Horst *et al.* 1992, Wilson 1997, Montes *et al.* 1997).

Materiales y métodos

Hongos y semillas utilizadas: En la comunidad de Tlayca, Jonacatepec, Morelos, México se recolectaron panojas de sorgo con síntomas de moho de los granos y panojas con granos infectados con ergot. De cada enfermedad se hicieron aislamientos en el laboratorio a partir de granos enfermos usando como medio de cultivo papa-dextrosa -agar (PDA). Se obtuvieron cepas de *Sphacelia sorghi* (anamorfo de *C. africana*) y *F. thapsinum*. Se seleccionó una cepa de cada especie y se cultivaron en medio PDA, manteniendo los cultivos bajo refrigeración para su conservación.

Se separaron dos muestras de 1 kg de semillas del híbrido Pioneer 8418, una de semillas maduras con síntomas de moho de los granos y otra con semillas inmaduras con glumas contaminadas con secreciones de *S. sorghi* y esfacelios del hongo, para su utilización en el tratamiento de semillas.

Productos naturales: Se utilizó corteza de canela (*Cinnamomum zeylanicum* Blum., Lauraceae), brotes florales de clavo (*Syzygium aromaticum* Merr. Perry, Myrtaceae), hojas, tallos e inflorescencias de epazote (*Teloxys ambrosioides* Weber, Chenopodiaceae), de orégano (*Origanum vulgare* L., Lamiaceae) y de tomi-

llo (*Thymus vulgaris* L., Lamiaceae). El epazote fue obtenido en fresco y secado a la sombra, las otras plantas se adquirieron secas. Todos los materiales fueron pulverizados en una picadora de vegetales (Moulimex) y después cernidos con un tamiz de 100 mallas/pulg².

Los aceites esenciales concentrados de tomillo, canela, clavo, epazote, yerbabuena (*Mentha x piperita* L., Lamiaceae) y ruda (*Ruta chalepensis*, Rutaceae) se obtuvieron de la empresa Esencias y Aceites S. A. (México D.F.); el bicarbonato de sodio (Na₂CO₃) usado fue un producto farmacéutico de grado alimenticio.

Determinación de la dosis letal mínima de extractos acuosos. Se determinó la dosis letal mínima inhibitoria (Dlm) de cada especie vegetal en forma de extracto acuoso incluyendo Na₂CO₃, en medio de cultivo sobre *S. sorghi* y *F. thapsinum*. Cada extracto se preparó agregando 20 g de polvo en 100 ml de agua destilada, dejando en reposo durante 12 h; después se filtró la suspensión con papel Whatman No. 1. La solución filtrada se evaporó en cápsulas de porcelana en baño María hasta obtener 20 ml para tener una concentración estandarizada que contenía 1 g/ml de material seco. Del extracto resultante se agregó al medio de cultivo (PDA) la cantidad necesaria para tener concentraciones de 10; 8; 6; 4; 3,5; 1,5; 1 y 0,5%. Posteriormente, todos los medios de cultivo con extracto y sin éste se esterilizaron en autoclave a 15 lb de presión durante 15 min. Cada medio de cultivo conteniendo extracto fue colocado en cajas de Petri (4/concentración/hongo) y en cada caja se inocularon en la parte central un disco de medio de cultivo con cada uno de los hongos de prueba. Todas las cajas se incubaron a temperatura ambiente (23-25 °C en promedio diario) y a los 5 días se les determinó su efecto sobre el crecimiento del micelio comparando con el respectivo testigo. Los datos fueron sometidos a un análisis de varianza y Prueba de Tukey.

Efecto sinérgico de extractos acuosos. Usando dosis menores a la Dlm de cada especie vegetal (0,5% para clavo de olor, 3,5% para canela y epazote y 3,0% Na₂CO₃) se hicieron combinaciones de los cuatro mejores productos para *S. sorghi*, siguiendo el procedimiento de preparación y evaluación descrito para la determinación de la Dlm. Después de cuatro días de incubación se midió el diámetro de las colonias de los hongos, en los tratamientos que mostraban crecimen-

to. Se consideró sinergismo cuando la combinación de dos dosis menores a la Dlm ejercieron un efecto fungicida. Al igual que la prueba anterior, los datos fueron sometidos a análisis de varianza y Prueba de Tukey.

Tratamiento de semillas con productos naturales. Con base en los resultados de las Dlm y al efecto sinérgico con extractos acuosos, se establecieron lotes experimentales para el tratamiento de semillas visiblemente infectadas con *C. africana* o *F. thapsinum*. Se probaron extractos acuosos, etanólicos, polvos y aceites esenciales. Los extractos acuosos y etanólicos se prepararon agregando 10 g de polvo en 100 ml de solvente. Los aceites se evaluaron en concentraciones de 100,50,25, 10,5 y 1 % usando como solvente etanol-agua en una relación 1:1. Todos los extractos se prepararon 18 h antes de su uso y se filtraron con papel Whatman No. 1. Se incluyeron también las mejores combinaciones de la prueba anterior, más las combinaciones de los mejores aceites esenciales, en este último caso sólo se evaluó para el control de *F. thapsinum*. En cada una de las soluciones filtradas se colocaron 100 semillas infectadas por cada hongo y se dejaron en agitación constante durante 30 min. Después las semillas se retiraron de la solución y se colocaron en toallas de papel por 30 min y finalmente se sembraron 25 de ellas por caja de PDA previamente preparadas (4 cajas/tratamiento). En el caso de los polvos, las semillas fueron remojadas previamente en agua destilada durante 10 min y posteriormente se espolvorearon con el polvo cubriendo totalmente la superficie con el producto; luego se sembraron como los demás tratamientos. Todas las cajas se incubaron a temperatura ambiente y diariamente, durante cuatro días, se determinó el número de semillas con crecimiento micelial. Los datos obtenidos para este tipo de pruebas fueron sometidos a análisis de varianza y pruebas de comparación múltiple de medias de Tukey.

Efecto de aceites esenciales en la emergencia y el desarrollo de plántulas de sorgo. Se recolectaron 100 kg de suelo infestado en forma natural con *F. thapsinum*, la mitad del suelo se esterilizó en una autoclave a 15 lb de presión por 2 h. Posteriormente, el suelo esterilizado y no esterilizado se depositó en macetas de plástico de 500 g de capacidad en un invernadero. Se seleccionaron 200 semillas de sorgo del híbrido Pioneer 8418 para cada uno de los aceites esenciales a evaluar: tomillo, canela, clavo, epazote, yerbabuena y ruda. Los

tratamientos consistieron en la inmersión de las semillas en soluciones del aceite al 10 % (usando como solvente etanol), durante 30 min. Después se retiraron de la solución, se dejaron secar durante 30 min en toallas de papel y se sembraron 5 semillas por maceta. En total se sembraron 100 semillas por cada tratamiento de aceite en suelo estéril y 100 por tratamiento de aceite en suelo sin tratar. El total de tratamientos fueron arreglados en un diseño de parcelas subdivididas, siendo las parcelas grandes suelo infestado y suelo estéril; con cinco repeticiones por tratamiento, la unidad experimental fue de cuatro macetas. Diariamente, a partir del tercer día después de la siembra, se registró el número de plántulas emergidas en cada maceta. A los 10 días de emergida cada plántula se registró su altura en cm. También se registró el porcentaje de superficie radical con síntomas del hongo en cada planta. Los datos fueron procesados para análisis de varianza y pruebas de comparación múltiple de medias de Tukey.

Resultados y discusión

Determinación de la dosis letal mínima de extractos acuosos. La respuesta de los extractos fue variable entre plantas y dosis para cada hongo (Cuadro 1). Los hongos en PDA sólo crecieron sobre toda la superficie del medio en un diámetro de 10 cm. *S. sorghi* en general, fue más susceptible a los extractos y en el caso de *F. thapsinum*, de las Dlm evaluadas sólo el clavo tuvo efecto fungicida. Para *S. sorghi* la menor Dlm se obtuvo con el clavo en una concentración de 1%,

también se determinó efecto con canela, epazote y Na_2CO_3 ; el orégano y el tomillo sólo retrasaron el crecimiento del micelio (fungistasis) en la máxima concentración. Estos resultados amplían el conocimiento del espectro de acción del clavo, la canela, el epazote y el Na_2CO_3 , de los cuales se conoce acción sobre diversos hongos fitopatógenos pertenecientes a los grupos Deuteromycetes, Ascomycetes y Basidiomycetes (Montes 1996, Smilanick *et al.* 1999). La acción fungicida de los extractos, a pesar de la esterilización a que son sometidos, demuestra que sus principios activos no son termolábiles, al menos dentro de las temperaturas alcanzadas en esta evaluación.

Efecto sinérgico de extractos acuosos sobre *S. sorghi*.

De las combinaciones de los cuatro productos que dieron resultados en la Dlm (clavo, canela, epazote y Na_2CO_3) sólo dos combinaciones, clavo-epazote y canela epazote, no tuvieron efecto fungicida a las dosis probadas (Cuadro 2), lo que evidencia su carácter incompatible. El Na_2CO_3 en cualquiera de sus combinaciones se comportó como sinérgico. Estos resultados confirman lo determinado en una evaluación con semillas de maíz para prevenir la contaminación con *Aspergillus flavus*, en la cual la combinación de la canela con el clavo produjo un efecto sinérgico (Montes y Carvajal 1998). Este potencial sinérgico es considerado como la mejor alternativa para prevenir los problemas de resistencia que podrían presentarse con el uso de las plantas antifúngicas, debido a que las com-

Cuadro 1. Efecto de diferentes concentraciones de extractos acuosos sobre el desarrollo micelial* de *S. sorghi* y *F. thapsinum*.

| Extracto | Patógeno | Concentración de los extractos en el medio de cultivo (%) | | | | | | | | |
|--------------------------|---------------------|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | | 10 | 8 | 6 | 4 | 3,5 | 1,5 | 1 | 0,5 | |
| Clavo | <i>S. sorghi</i> | 0 a | 0 a | 0 a | 0 a | 0 a | 0 a | 0 a | 0 a | 4,0 b |
| | <i>F. thapsinum</i> | 0 a | 0 a | 0 a | 4,1 b | 9,2 c | 9,2 c | 9,1 c | 9,6 c | 9,6 c |
| Canela | <i>S. sorghi</i> | 0 a | 0 a | 0 a | 0 a | 5,3 b | 9,3 c | 9,5 c | 9,8 c | 9,8 c |
| | <i>F. thapsinum</i> | 5,4 b | 5,3 b | 9,0 c | 10 c | 10 c | 10 c | 10 c | 10 c | 10 c |
| Epazote | <i>S. sorghi</i> | 0 a | 0 a | 0 a | 0 a | 3,4 b | 8,3 c | 7,8 c | 9,2 c | 9,2 c |
| | <i>F. thapsinum</i> | 5,1 b | 8,7 c | 9,5 c | 10 c | 10 c | 10 c | 10 c | 10 c | 10 c |
| Orégano | <i>S. sorghi</i> | 5,3 b | 9,1 c | 8,9 c | 9,4 c | 10 c | 10 c | 10 c | 10 c | 10 c |
| | <i>F. thapsinum</i> | 10 c | 10 c | 10 c | 10 c | 10 c | 10 c | 10 c | 10 c | 10 c |
| Tomillo | <i>S. sorghi</i> | 5,1 b | 9,2 c | 9,6 c | 10 c | 10 c | 10 c | 10 c | 10 c | 10 c |
| | <i>F. thapsinum</i> | 5,0 b | 9,4 c | 9,9 c | 10 c | 10 c | 10 c | 10 c | 10 c | 10 c |
| Na_2CO_3 | <i>S. sorghi</i> | 0 a | 0 a | 0 a | 0 a | 5,8 b | 6,1 b | 10 c | 10 c | 10 c |
| | <i>F. thapsinum</i> | 3,3 b | 3,6 b | 9,0 c | 10 c | 10 c | 10 c | 10 c | 10 c | 10 c |

* Diámetro de las colonias en cm.

Valores seguidos de la misma letra en cada fila no difieren entre sí. (Tukey 0,05).

binaciones de productos diversifican los principios activos, y por tanto, los hongos requieren un mayor número y combinación de mutaciones para evitar la acción de estos productos (Wilson *et al.* 1999).

Cuadro 2 . Efecto sinérgico de extractos combinados entre si a dosis inferiores a la mínima letal sobre *S. sorghi*.

| Combinación de extractos acuosos | Crecimiento micelial* (cm) |
|---|----------------------------|
| Clavo (0,5 %)-Canela (3,5 %) | 0 a |
| Clavo (0,5 %)-Epazote (3,5 %) | 7,3 b |
| Clavo (0,5 %)- Na ₂ CO ₃ (3 %) | 0 a |
| Canela (3,5 %)-Epazote (3,5 %) | 5,5 b |
| Canela (3,5)- Na ₂ CO ₃ (3 %) | 0 a |
| Epazote (3,5 %) - Na ₂ CO ₃ (3 %) | 0 a |
| Testigo sin extractos | 10 b |

*Diámetro de las colonias en cm.

Valores seguidos de la misma letra, no difieren entre sí (Prueba de Tukey 0,05)

Tratamiento de semillas con productos naturales.

Extractos acuosos. En el caso de *C. africana* (Fig. 1) en la mayoría de los tratamientos se obtuvo una notable disminución en la contaminación de las semillas en el primer día de incubación, pero a las 48 h desapareció el efecto, excepto para la combinación del Na₂CO₃ con el clavo, que redujo la contaminación significativamente (40%); a las 72 h ningún tratamiento permanecía libre de contaminación de sus semillas. Con *F. thapsinum* (Fig. 2) sólo la combinación del Na₂CO₃ con el clavo tuvo efecto fungistático durante las primeras 24 h y posteriormente perdió el efecto, ninguno de los demás tratamientos redujo la contaminación

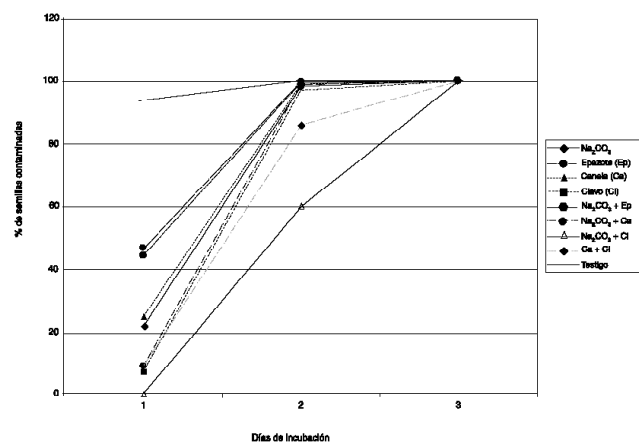


Figura 1. Efecto de extractos acuosos sobre el porcentaje de semillas contaminadas con *C. africana*.

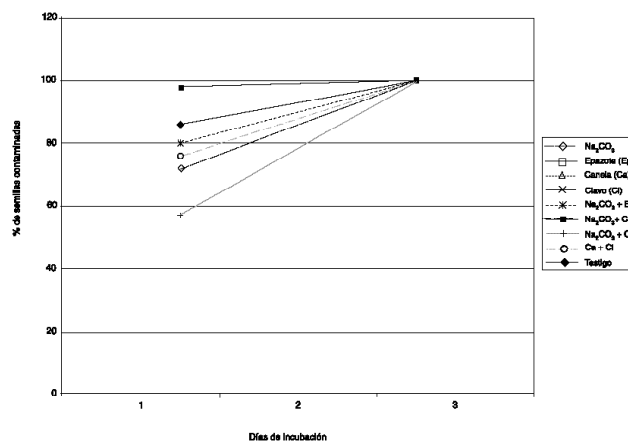


Figura 2. Efecto de extractos acuosos sobre el porcentaje de semillas contaminadas con *F. thapsinum*.

significativamente. La corta duración de la acción se explica por la inestabilidad de los principios activos, debida en unos casos al carácter volátil (Domínguez 1978), así como a que el pericarpio de las semillas no permite su penetración en el embrión, sitio en donde permanece el hongo, pero que después de un tiempo crece hacia el exterior de las semillas (Williams y McDonald 1983), cuando la concentración del extracto disminuye al diluirse por el agar circundante.

Extractos etanólicos. Tanto en *C. africana* (Fig.3) como en *F. thapsinum* (Fig.4) se presentó una situación similar de efecto fungistático a las 24 h en los tratamientos de clavo, canela y las combinaciones de Na₂CO₃ con clavo y canela con clavo. Al segundo día ningún extracto fue diferente al testigo. La similitud de los resultados con los extractos acuosos, se debe a que ambos tipos de solventes tienen una polaridad que no difiere notablemente porque los principios activos que se liberan no

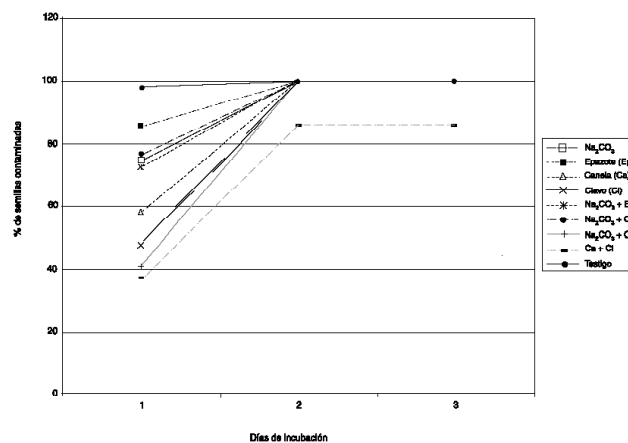


Figura 3. Efecto de extractos etanólicos sobre el porcentaje de semillas contaminadas con *C. africana*.

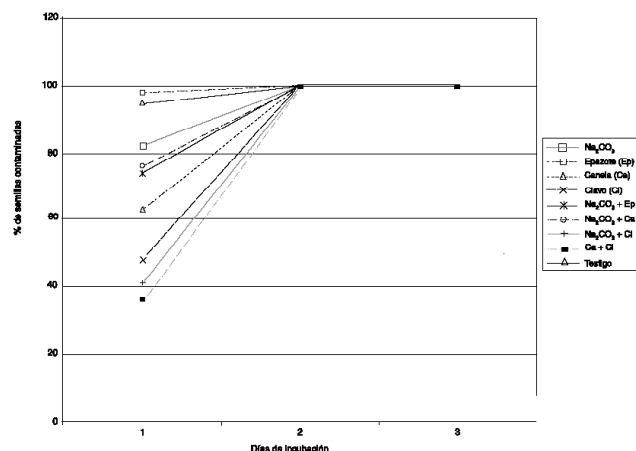


Figura 4. Efecto de extractos etanólicos sobre el % de semillas contaminadas con *F. thapsinum*.

son muy diferentes cualitativamente y por tanto, su acción sobre los hongos es similar (Valencia 1995).

Polvos. En *C. africana* (Fig.5) durante el primer día hubo una reducción de 100% de la contaminación en los tratamientos de aceites de clavo, canela y las combinaciones de Na₂CO₃ con clavo y de canela con clavo. El segundo día sólo el clavo mantuvo ese grado de eficacia y los otros tratamientos comenzaron a tener

contaminación con hongos de los géneros *Rhizopus* y *Fusarium*, sin aparente presencia de *S. sorghi*; el mismo problema se presentó con el clavo al tercer día. Con *F. thapsinum*, sólo la combinación de Na₂CO₃ con el clavo mantuvo una eficacia de 100% a las 24 h, pero a las 48 h se redujo a 60% y desapareció totalmente a las 72 h (Fig. 6). Estos resultados confirman lo discutido para los extractos acuosos, de que estas formulaciones no son estables en su acción debido a la disminución de la concentración en el tiempo por la dilución de los principios activos en el agar, o bien que sólo son capaces de detener temporalmente el crecimiento del hongo y finalmente éste es capaz de desactivar los mecanismos inhibitorios por reacciones bioquímicas (Akgul *et al.* 1991).

Aceites esenciales y sus combinaciones. Con excepción del de ruda, todos los aceites esenciales tuvieron efecto fungicida en por lo menos dos de las concentraciones probadas (Cuadro 3) porque después de 7 días de incubación no existía ningún signo de crecimiento de *C. africana* o *F. thapsinum*. *C. africana* fue más sensible a los aceites esenciales porque el efecto se presentó en concentraciones menores que *F. thapsinum*; los aceites

Cuadro 3. Efecto fungicida de aceites esenciales de seis especies vegetales y tres combinaciones sobre *C. africana* y *F. thapsinum* a diferentes concentraciones.

| Aceite | Patógenos | Concentración del aceite (%) | | | | | |
|-------------|---------------------|------------------------------|----|----|----|---|---|
| | | 100 | 50 | 25 | 10 | 5 | 1 |
| Tomillo | <i>C. africana</i> | + | + | + | + | - | - |
| | <i>F. thapsinum</i> | +* | + | + | + | - | - |
| Canela | <i>C. africana</i> | + | + | + | + | + | - |
| | <i>F. thapsinum</i> | + | + | + | + | - | - |
| Clavo | <i>C. africana</i> | + | + | + | + | + | - |
| | <i>F. thapsinum</i> | + | + | + | + | - | - |
| Epazote | <i>C. africana</i> | + | + | + | - | - | - |
| | <i>F. thapsinum</i> | + | + | - | - | - | - |
| Yerbabuena | <i>C. africana</i> | + | + | + | + | - | - |
| | <i>F. thapsinum</i> | + | + | + | - | - | - |
| Ruda | <i>C. africana</i> | - | - | - | - | - | - |
| | <i>F. thapsinum</i> | - | - | - | - | - | - |
| Tomillo 5%+ | | | | | | | |
| Clavo 5% | <i>F. thapsinum</i> | | | | | - | |
| Tomillo 5%+ | | | | | | | |
| Canela 5% | <i>F. thapsinum</i> | | | | | - | |
| Clavo 5% + | | | | | | | |
| Canela 5% | <i>F. thapsinum</i> | | | | | + | |

+ con efecto fungicida; -sin efecto fungicida

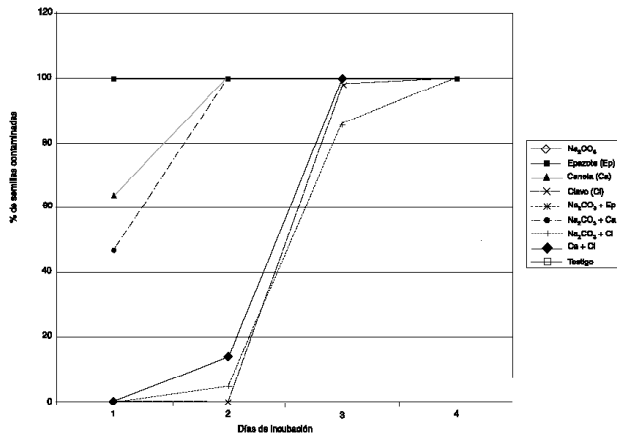


Figura 5. Efecto de polvos sobre el porcentaje de semillas contaminadas con *C. africana*.

de epazote y yerbabuena fueron los que requirieron mayores concentraciones para ser eficaces contra ambos hongos. De las combinaciones sólo la de canela con clavo fue eficaz contra *F. thapsinum*, lo que confirma el efecto sinérgico encontrado contra *Aspergillus flavus* con esta misma combinación (Montes y Carvajal 1998); las otras combinaciones resultaron incompatibles, lo

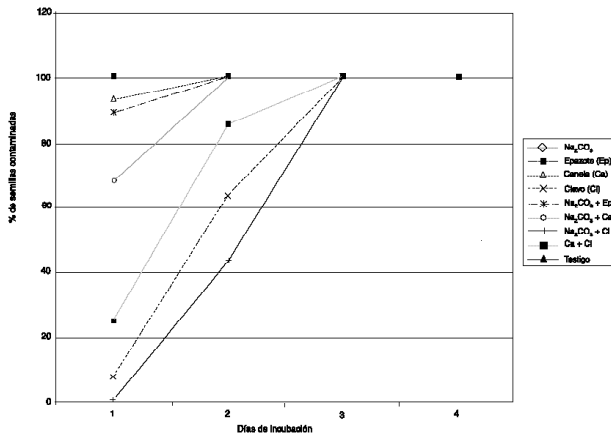


Figura 6. Efecto de polvos sobre el porcentaje de semillas contaminadas con *F. thapsinum*.

que se evidenció al perderse el efecto de los principios activos que tienen los aceites por separado.

Efecto de aceites esenciales en la emergencia y el desarrollo de plántulas de sorgo. En cuanto al porcentaje de plántulas emergidas sólo el tomillo y el clavo tuvieron un comportamiento estadísticamente igual al testigo (Fig. 7) y el resto de los tratamientos no evitaron la reducción significativa de la germinación de las semillas ($\leq 0,05$); sin embargo, en cuanto a la altura el clavo y

los demás aceites esenciales la redujeron significativamente; sólo el tomillo tuvo un comportamiento similar al testigo (Fig. 8). Este evidente efecto fitotóxico que afectó tanto la germinación como el desarrollo de las plantas se explica porque los aceites esenciales son un complejo de sustancias químicas entre las que se inclu-

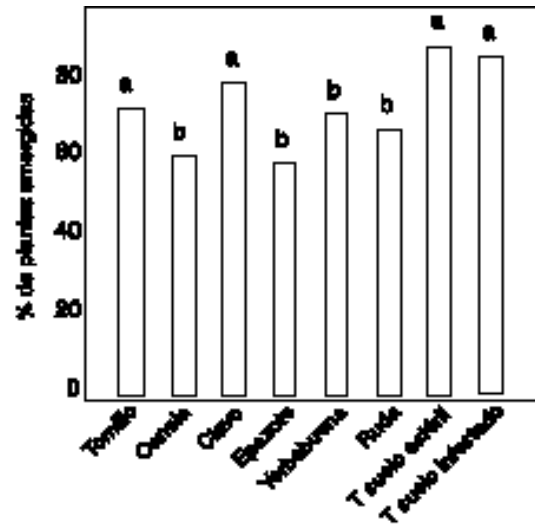


Figura 7. Efecto de aceites esenciales en el porcentaje de emergencia de plántulas de sorgo.

yen componentes oxigenados como cetonas, fenoles y óxidos además de componentes nitrogenados y azufrados algunos de los cuales podrían ser responsables de este efecto fitotóxico (Heath 1978). No se descarta la posibilidad de que una formulación especial podrían evitar este problema, como sucede con los aceites de uso agrícola usados para enfermedades foliares (Wellman 1977). En cuanto a la sanidad de las raíces, no hubo diferencias significativas entre tratamientos, fluctuando los porcentajes de raíces infectadas desde 1,5

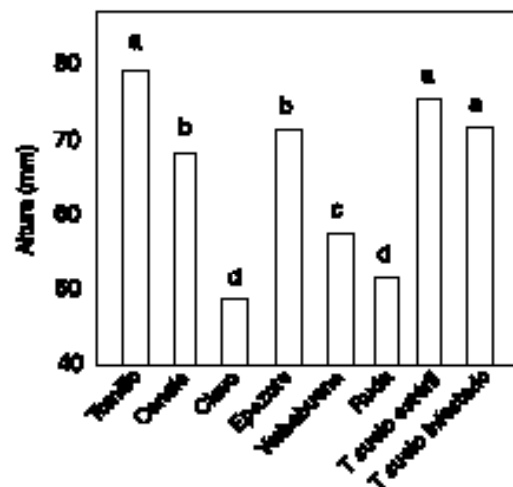


Figura 8. Efecto de aceites esenciales en la altura de plántulas de sorgo.

hasta 3,8%, lo cual pudo deberse a una baja población del hongo en el sitio en donde se recolectó el suelo.

Es necesario investigar la respuesta de diferentes tipos de semillas, tanto de granos básicos como hortalizas a los aceites esenciales probados, además de probar otros aceites esenciales como el de zacate limón (*Cymbopogon citratus*) que tiene un amplio espectro de acción (Maruzzella y Balter 1959). Otra posibilidad para evaluar es la aplicación de estos aceites directamente al suelo para el control de hongos habitantes de este medio (Bowers y Locke 2000).

Conclusiones

Existe una mayor susceptibilidad de *C. africana* a los productos naturales en comparación a *F. thapsinum*. De los tratamientos evaluados, únicamente los aceites esenciales vegetales tuvieron un efecto fungicida destacando los de clavo, canela y tomillo por actuar a menores concentraciones. Las combinaciones de extractos acuosos de clavo, canela y epazote con Na₂CO₃ y la de clavo con canela tienen efecto sinérgico *in vitro* y sólo la de clavo y canela mantienen su efecto *in vivo*. Con excepción del de tomillo, todos los aceites esenciales tuvieron efecto fitotóxico. Los aceites esenciales son productos naturales con posibilidades para su uso en el tratamiento de semillas para el combate de hongos fitopatógenos.

Literatura citada

Akgul, A.; Kivanc, M.; Sert, S. 1991. Effect of carvacrol on growth and toxin production by *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*. *Sciences des Aliments* 11:361-370.

Bandyopadhyay, R.; Frederiksen, DE; McLaren, NW; Odvody, GN; Ryley, MJ. 1998. Ergot: A new threat to sorghum in the Americas and Australia. *Plant Disease* 82:356-367.

Bowers, JH; Locke, JC. 2000. Effect of botanical extracts on the population density of *Fusarium oxysporum* in soil and control of *Fusarium* wilt in the greenhouse. *Plant Disease* 84: 300-305.

Bravo, LL; Bermúdez, TK; Montes, BR. 1998. Inhibición del crecimiento micelial y esporulación de *Fusarium moniliforme* Sheld., mediante aceites esenciales vegetales y algunos de sus componentes químicos. *Revista Mexicana de Fitopatología* 16:18-23.

Bravo, LL; Bermúdez, TK; Montes, BR. 2000. Inhibición de *Fusarium moniliforme* mediante polvos vegetales y algunos de sus componentes químicos. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 57:29-34.

Domínguez, XA. 1978. Métodos de investigación fitoquímica. México, Ed. Limusa. 204 p.

Frederiksen, RA; Odvody. 2000. Compendium of sorghum diseases. Saint Paul, Minnesota, APS Press. 78 p.

Harman, GE. 1991. Seed treatments for biological control of plant disease. *Crop Protection* 10:166-171.

Heath, HB. 1978. Flavor technology: profiles, products applications. Avi Publishing Inc. Westport Connecticut, USA. 542 p.

Horst, RK; Kawamoto, SO; Porter, LL. 1992. Effect of sodium bicarbonate and oils on the control of powdery mildew and black spot of roses. *Plant Disease* 76:247-251.

Mao, W; Lewis, JA; Hebbbar, PK; Lumsden, RD. 1997. Seed treatment with a fungal or a bacterial antagonist for reducing corn damping off caused by species of *Pythium* and *Fusarium*. *Plant Disease* 81:450-454.

Maruzzella, JC; Balter, J. 1959. The action of essential oils on phytopathogenic fungi. *Plant Disease Reporter* 43:1143-1147.

McGee, DC. 1998. Maize Diseases. A reference source of seed technologist. Part 3. Diseases that are not seedborne or seed transmitted. Saint Paul, Minnesota, APS Press. p 100-103.

Montes, BR. 1996. Productos naturales de origen vegetal para el combate de fitopatógenos. *Revista Mexicana de Fitopatología* 14:9-14.

Montes, BR; Carvajal, M; Figueroa, R; Méndez, I. 1997. Extractos sólidos acuosos y hexánicos de plantas para el combate de *Aspergillus flavus* Link. en maíz. *Revista Mexicana de Fitopatología* 15:26-30.

Montes, BR; Carvajal, M. 1998. Control of *Aspergillus flavus* in maize with plant essential oils and their components. *Journal of Food Protection* 61: 616-619.

Odvody, GN; Forbes, G. 1992. *Pythium* root and seedling rots. In Mughogho, LK. Ed. Sorghum root and stalk rots: A critical review. Patancheru, India, International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics. p 31-35.

Ries, EM; Mantle, PG; Hassan, HAG. 1996. First report in the Americas of sorghum ergot disease, caused by a pathogen diagnosed as *Claviceps africana*. *Plant Disease* 80:463-469.

Smilanick, JL; Margosan, DA; Mhicota, F; Usallo, J; Michael, IF. 1999. Control of citrus green mold by carbonate and bicarbonate salts and the influence of commercial postharvest practices on their efficacy. *Plant Disease* 83: 139-145.

Valencia, OC. 1995. Fundamentos de Fitoquímica. México, Trillas. 235 p.

Wellman, RH. 1977. Problems in development, registration and use of fungicides. *Annual Review of Phytopathology* 15: 153-163.

Williams, RJ; MacDonald, D. 1983. Grain molds in the tropics: problems and importance. *Annual Review of Phytopathology* 21: 153-178.

Wilson, CL; Wisniewski, ME. 1992. Future alternatives to synthetic fungicides for control of postharvest diseases. In Tjamos, ET. Ed. Biological control of plant diseases. New York, Plenum Press. p. 133-138.

Wilson, CL. 1997. Rapid evaluation of plant extracts and essential oils for antifungal activity against *Botrytis cinerea*. *Plant Disease* 81:204-210.

Wilson, CL; El Ghaouth, A; Wisniewski, ME. 1999. Prospecting in Nature's Storehouse for Biopesticides. *Revista Mexicana de Fitopatología* 17:49-53.

Zaki, K; Misaghi, IJ; Heydari, A. 1997. Control of cotton seedling damping off in the field by *Burkholderia (Pseudomonas) cepacia*. *Plant Disease* 82: 291-293.