EFECTO *IN VITRO* DE EXTRACTOS DE PLANTAS SOBRE ESPECIES BACTERIANAS DEL GÉNERO *XANTHOMONAS*

Marusia Stefanova Nalimova, Sandra G. Rizo Peña y María F. Coronado Izquierdo

Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 no. 514 e/ 5a. B y 5a. F, Playa, Ciudad de La Habana, CP 11600, c.e.: mstefanova@inisav.cu

RESUMEN

Diversos extractos vegetales poseen efecto bactericida con posibilidades promisorias para el control de las enfermedades en las plantas. Se estudió el efecto in vitro *de extractos metanólicos de hojas y tallos de* Bixa orellana, Gliricidia sepium, Ocimun basilicum *y* Petiveria alliacea *frente a 14 aislamientos de* Xanthomonas axonopodis *pv.*. vesicatoria *(4),* Xanthomonas campestris *pv.* campestris *(1),* Xanthomonas axonopodis *pv.*. manihotis *(1),* Xanthomonas axonopodis *pv.* malvacearum *(1) y* Xanthomonas *sp. (7). Se utilizó el método de doble capa de agar y discos impregnados con los extractos a 12,5% (p/v) colocados en la superficie de la capa superior del medio de cultivo, inoculada con la suspensión bacteriana. El extracto de* Bixa orellana *resultó efectivo para 92,8% de las cepas estudiadas. Solo el aislamiento de* X. axonopodis *pv.* malvacearum *no mostró sensibilidad. Los halos de inhibición oscilaron entre 17 y 21 mm de diámetro. Los extractos restantes no mostraron efecto sobre las bacterias estudiadas.*

Palabras clave: *extracto vegetal, bacteria, Xanthomonas*

ABSTRACT

Diverse plant extracts possess bactericidal effect with promissory possibilities to the control of plant diseases. The effect of methanolic extracts of leaves and stems of Bixa orellana, Gliricidia sepium, Ocimun basilicum and Petiveria alliacea *was studied* in vitro *against 14 isolations of* Xanthomonas axonopodis *pv*. vesicatoria *(4),* Xanthomonas campestris *pv*. campestris *(1),* Xanthomonas axonopodis *pv*. manihotis *(1),* Xanthomonas axonopodis *pv*. malvacearum *(1)* and Xanthomonas *sp*. *(7). The method of double agar layer and disks impregnated with 12.5% (h/v) extracts was used; they were placed on the surface of the higher layer of media and inoculated with the bacterial suspension. The extract of* Bixa orellana *was effective for 92.8% of the studied isolates, only the isolate of* X. axonopodis *pv.* malvacearum *did not show sensibility. The inhibition halos oscillated between 17 and 21 mm of diameter. The remaining extracts did not show effect on the studied bacteria.*

Key words: *plant extracts, bacteria, Xanthomonas*

INTRODUCCIÓN

El manejo de las enfermedades bacterianas se ha hecho mundialmente difícil debido a la resistencia a los fungicidas cúpricos y los antibióticos que durante muchos años han sido empleados en la agricultura. Esta situación ha motivado la búsqueda de alternativas biológicas. Entre ellas los extractos de plantas han resultado promisorios por su destacado efecto bactericida.

Diversos autores han señalado la reacción inhibitoria de extractos naturales frente a especies del género *Xanthomonas*. En este sentido, García y Rodríguez (1994) probaron extractos acuosos de diversas plantas frente a cultivos puros de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris,* y encontraron que los provenientes de *Ruta graveolens*, *Jaracanda acutifolia* y *Aloe vera* poseen propiedades bactericidas contra la bacteria. Estos autores incluso lograron reducir los daños foliares a nivel de plantas con los extractos promisorios.

Extractos de *Zingiber chrysanthemi*, *Ruta chalepensis*, *Jaracanda acutifolia* y *Aloe vera* mostraron efecto bactericida frente a *Xanthomonas campestris* pv. *begoniae, Xanthomonas campestris* pv. *campestris* y *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* [Mora *et al*., 1996]. Con extractos de *Matricaria recutita* y *Chamaemelia nobile* fue posible inhibir el crecimiento de diferentes cepas de *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* [Csizinszky *et al*., 1993].

En nuestro país, Pino *et al*. (2002) encontraron actividad antibacteriana *in vitro* en el aceite esencial de una especie silvestre de la familia *Piperaceae* sobre tres bacterias patógenas al cultivo de la caña de azúcar.

El presente trabajo tuvo como objetivo el estudio *in vitro* de cuatro extractos vegetales frente a especies bacterianas del género *Xanthomonas*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se prepararon suspensiones acuosas de 14 cepas bacterianas de 10^7 ufc/mL de *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*, *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum* y *Xanthomonas* sp. (*Tabla 1*) a partir de cultivos de 24 h de crecimiento en el medio de cultivo nutriente agar (AN). Se utilizó el método de doble capa donde la superior fue de AN a 1%, inoculada con las bacterias a razón de 0,5 mL de suspensión por 5 mL del medio de cultivo.

Con los extractos metanólicos al 12,5% p/v (12,5 g de material vegetal en 100 mL de solvente) procedentes de las plantas de bija (*Bixa orellana)*, anamú *(Petiveria alliacea)*, albahaca *(Ocimun basilicum*) y piñón florido (*Gliricidia sepium)* se impregnaron discos de papel de filtro de 12 mm de diámetro que fueron colocados en la superficie del medio. Para cada aislamiento bacteriano se emplearon tres discos con tres réplicas.

El efecto bactericida se determinó por la zona de inhibición alrededor de los discos a las 24 y 48 horas del ensayo. De igual forma se incluyeron controles con el solvente utilizado para obtener los extractos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El extracto a partir de la bija inhibió el crecimiento de trece de las cepas bacterianas estudiadas. Solamente el aislamiento de *X. axonopodis* pv. *malvacearum* no mostró sensibilidad frente a él. Las zonas en torno a los discos impregnados sin crecimiento bacteriano oscilaron entre 17 y 21 mm de diámetro (*Tabla 1*). Todas las cepas de *Xanthomonas* sp., aisladas de cebolla y ajo, mostraron valores altos de inhibición. No hubo diferencia entre los valores obtenidos a las 24 y 48 h. Los extractos de anamú, albahaca y piñón florido no tuvieron efecto sobre las cepas estudiadas.

Tabla 1. Comportamiento de las cepas bacterianas frente al extracto de bija a las 24 h del ensayo

Especies bacterianas	Cultivo hospedante	Cepas	Halos de inhibición (mm)
Xanthomonas axonopodis pv. *vesicatoria*	Tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill.)	Xv-53	17,6
		Xv-7	21,3
		Xv-1	17,0
		Xv-20	14,3
Xanthomonas campestris pv. *campestris*	Col (*Brassica oleracea* L.)	Xc-5	18,6
Xanthomonas sp.	Ajo (*Alium sativum* L.)	AH2	19,0
		X-32	21,0
	Cebolla (*Allium cepa* L.)	952	21,6
		Ceb-3	19,6
		C-1	17,3
		Ceb-2a	19,0
		Ceb-2p	20,3
Xanthomonas axonopodis pv. *malvacearum*	Algodón (*Gossipium* sp.)	X-malv	0
Xanthomonas axonopodis pv. *manihotis*	Yuca (*Manihot esculenta* Crantz)	Xm	21,6

La actividad antibacteriana de la bija ha sido reconocida por otros autores [Tropical Plant Database, 1996]. Martínez de Carrillo y Colmenarez (1999) probaron el efecto de varios extractos, entre ellos de la bija, y comprobaron que el desarrollo de las colonias del agente causal de la bacteriosis de la cebolla (*Xanthomonas* sp.) fue inhibido entre 90 y 100%.

En las condiciones de Cuba las bacterias *X. axonopodis* pv. *vesicatoria, X. campestris* pv. *campestris* y *Xan-*

thomonas sp. afectan diversas especies hortícolas de importancia, y pueden ocasionar cuantiosas pérdidas en el semillero y campo.

Los fungicidas a base de cobre, durante las fases fenológicas susceptibles, así como el sulfato de estreptomicina han sido los productos más utilizados para su control; sin embargo, en 1983 se encontró presencia de aislamientos en Cuba de *X. axonopodis* pv. *vesicatoria* resistentes a estreptomicina [García y Amat, 1983]. En los últimos años han aparecido nuevos reportes sobre la resistencia bacteriana a productos basados al cobre [Ritchie y Dittapongpith, 1991; Sahin y Miller, 1997; Carrillo-Fasio *et al*., 2001].

Las opciones limitadas de drogas para el control de las enfermedades de origen bacteriano, el surgimiento de la resistencia y la necesidad de preservar el ambiente y la salud humana demandan otras alternativas no dañinas. La posibilidad de detectar sustancias naturales con efecto bactericida puede ampliar la oferta de productos contra las bacterias fitopatógenas para la protección de los cultivos.

CONCLUSIONES

- El extracto de bija (*Bixa orellana*) mostró marcado efecto inhibitorio *in vitro* sobre cuatro especies bacterianas, lo que permite continuar las pruebas para determinar su efecto sobre las enfermedades que causan en las plantas hospedantes.

REFERENCIAS

Carrillo-Fasio, J. A.; R. S. García-Estrada; R. Allende-Molar; I. Márquez-Zequeira; S. Millán-Ocampo; G. Gaxiola-Espinoza: «Sensibilidad a cobre de cepas de *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (Doidge) Dye en Sinaloa, México», *Revista Mexicana de Fitopatología*, 19:72-77, 2001.

Cszinszky, A. A.; J. B. Jones; E. L. Civerolo: «Inactivation of *Xanthomonas campestris* pv.s. *in vitro* with Plant Extracts», ISHS, Acta Horticulture 331, http://www.actahort.org/books/331/331_40.htm, 1993.

García A.; Z. Amat: «Resistencia a estreptomicina de cepas de *Xanthomonas vesicatoria* aisladas de pimiento y tomate», *Cienc. Tec. Agric. Protección de Plantas*, vol. 6, no. 2, 1983.

García, B. N. O.; M. Rodríguez: «Control de la vena negra de las crucíferas (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*) en col (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.*)* con extractos vegetales e incorporación de tejido foliar al suelo en Chapingo, Estado de México, México», revista *Chapingo*, Serie Protección Vegetal, 1:35-38, 1994.

Martínez de Carrillo, M.; J. Colmenares: «Efecto de extractos naturales sobre *Xanthomonas campestris* agente causal de la bacteriosis de la cebolla, en condiciones de laboratorio». Memorias XVII Congreso Venezolano de Fitopatología, 14-16 de noviembre, Maracay, Venezuela, 1999.

Pino, O.; F. Lazo; O. Núñez; T. Correa: «Estudio químico y microbiológico del aceite esencial de una especie cubana perteneciente a la familia *Piperaceae*». Resúmenes IV Seminario Científico Internacional de Sanidad Vegetal, 11-15 de junio, Varadero, Cuba, 2001.

Ritchie, D. F.; V. Dittapongpith: «Copper and Streptomycin-Resistant Strains and Host Differentiated Races of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* in North Carolina», *Plant Disease,* 75(7):733-736, 1991.

Sahin, A.; S. A. Miller: 1997. «Identification of the Bacterial Leaf Spot Pathogen of Lettuce, *Xanthomonas campestris* pv. *vitians* in Ohio, and Assessment of Cultivar Resistance and Seed Treatment», *Plant Disease,* 81:1443-1446.

Tropical Plant Database: «Annatto (*Bixa orellana*)», http://rain-tree.com/annato.htm. 1996.