

# Efecto *in vitro* de extractos naturales sobre aislamientos bacterianos del género *Xanthomonas*.

Stefanova, M., Rizo Peña, S. G., Coronado, M. F.

Instituto de Investigación de Sanidad Vegetal. Calle 110 # 514, entre 5ta B y 5ta F, Municipio Playa, Código Postal 11 300, Ciudad de La Habana, Cuba.

## RESUMEN

Diversos extractos de origen natural poseen efecto bactericida con posibilidades promisorias para el control de enfermedades en las plantas. Se estudió el efecto *in vitro* de extractos alcohólicos de hojas y tallos de: *Bixa orellana*, *Gliricidia sepium* y *Petiveria alliacea* frente a 14 cepas de: *Xanthomonas axonopodis* pv *vesicatoria* (4), *Xanthomonas campestris* pv *campestris* (1), *Xanthomonas axonopodis* pv *manihotis* (1), *Xanthomonas axonopodis* pv *malvacearum* (1) y *Xanthomonas* sp., (6). Se utilizó el método de doble capa agar y discos impregnados con los extractos al 12.5% colocados en la superficie de la capa superior del medio de cultivo, inoculada con la suspensión bacteriana. El extracto de *Bixa orellana* (bija) resultó efectivo para la mayoría de las especies, sólo la cepa de *X. axonopodis* pv *malvacearum* no mostró sensibilidad frente al mismo. Los halos de inhibición oscilaron entre 17 – 21 mm de diámetro. La mayor sensibilidad se observó en las cepas de *X. axonopodis* pv *manihotis* y de *Xanthomonas* sp., aisladas de cebolla y de ajo. Los extractos restantes no mostraron efecto sobre las bacterias estudiadas.

## INTRODUCCION

El manejo de las enfermedades bacterianas a nivel mundial se ha hecho 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 a reducir los daños foliares a nivel de plantas con los extractos promisorios.

Mora y col. (1996) informaron efectos inhibidores del crecimiento de *Xanthomonas campestris* pv *begoniae*, *Xanthomonas campestris* pv *campestris* y *Xanthomonas campestris* pv *phaseoli* de *Zingiber chrysanthemi*, *Ruta chalepensis*, *Jaracanda acutifolia* y *Aloe vera*. Con extractos de *Matricaria recutita* y *Chamaemelia nobile* fue posible inhibir el crecimiento de diferentes cepas de *Xanthomonas axonopodis* pv *citri* (Csizinszky y col., 1993).

En Cuba, Pino y col., (2002) encontraron actividad antibacteriana *in vitro* del 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 tres extractos vegetales frente a especies bacterianas del género *Xanthomonas*.

## MATERIALES Y METODOS

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 ) a partir de cultivos de 24 horas de crecimiento en el medio de cultivo Nutriente agar (AN). Se utilizó el método de doble capa siendo la superior de AN al 1% inoculada con las bacterias a razón de 0,5ml de suspensión por 5 ml del medio de cultivo. Con los extractos metanólicos al 12.5 % (12,5g de material vegetal en 100 ml de solvente), procedentes de las plantas de bija ( *Bixa orellana*), anamú (*Petiveria alliacea*) y piñón amoroso (*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 a los extractos.

## RESULTADOS Y DISCUSION

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 al mismo. Los halos de inhibición oscilaron entre 17 – 21 mm de diámetro y los valores máximos correspondieron a las cepas de *Xanthomonas* sp., aisladas de cebolla y ajo (Tabla ). No hubo diferencia entre los valores obtenidos a las 24 y 48 horas. Los extractos de anamú y piñón amoroso no tuvieron efecto sobre las cepas estudiadas.

La actividad antibacteriana de la bija ha sido reconocida por otros autores(<http://rain-tree.com/annato.htm>. 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 de *Xanthomonas* sp., agente causal de la bacteriosis de la cebolla fue inhibido entre un 90 - 100 por ciento.

En las condiciones de Cuba las bacterias *X. axonopodis* pv. *vesicatoria* ( *X. v* ), *X. campestris* pv. *campestris* y *Xanthomonas* sp afectan al tomate, el pimiento, diversas crucíferas, la cebolla y el ajo respectivamente, cultivos hortícolas de importancia, y pueden ocasionar cuantiosas pérdidas en el semillero y campo.

Los fungicidas a base de cobre, durante las fases fenológicas susceptibles, y también el sulfato de estreptomycin han sido utilizados para su control. Sin embargo en el año 1983 en

Cuba se encontró presencia de aislamientos de *X. v.* resistentes a estreptomina (García y Amat, 1983). En los últimos años, en varios países, han aparecido nuevos reportes sobre la resistencia bacteriana en cultivos hortícolas a productos basados al cobre ( Ritchie y Dittapongpith, 1991; Sahin y Miller, 1997; Carrillo- Fasio y col., 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* ) inhibió el crecimiento *in vitro* de cepas de *Xanthomonas axonopodis* pv *vesicatoria*, *Xanthomonas campestris* pv *campestris*, *Xanthomonas axonopodis* pv *manihotis* y *Xanthomonas* sp.
- Los extractos de Anamú (*Gliricidia sepium*) y Piñón (*Petiveria alliaceae* ) no mostraron efecto sobre las bacterias estudiadas.

Tabla: Sensibilidad de las cepas bacterianas frente al extracto de bija ( *Bixa orellana* )

Especie bacteriana / planta hospedante	Cepas	Halos de inhibición en mm.
<i>Xanthomonas axonopodis</i> pv <i>vesicatoria</i> Tomate ( <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill )	Xv-53	17.6
	Xv-7	21.3
	Xv-1	17
	Xv-20	14.3
<i>Xanthomonas campestris</i> pv <i>campestris</i> / Col (Brassica oleracea)	Xc-5	18.6
<i>Xanthomonas</i> sp. / Ajo ( <i>Allium sativum</i> )  Cebolla ( <i>Allium cepa</i> L.)	AH2	19
	X-32	21.0
	952	21.6
	Ceb-3	19.6
	C-1	17.3
	Ceb-2a	19.5
	Ceb-2p	20.3
<i>Xanthomonas axonopodis</i> pv <i>malvacearum</i> / Algodón ( <i>Gossypium</i> spp)	X -malv	0
<i>Xanthomonas axonopodis</i> pv <i>manihotis</i> / Yuca ( <i>Manihot esculenta</i> )	X m	21.6

## BIBLIOGRAFIA

- Carrillo - Fasio, J.A., García Estrada, R. S., Allende Molar, R., Márquez Zequeira, I., Millán Ocampo, S. , Gaxiola Espinoza G. 2001. Sensibilidad a cobre de cepas de *Xanthomonas campestris* pv *vesicatoria*( Doidge) Dye en Sinaloa, México. Revista Mexicana de Fitopatología. Vol.19, p. 72 – 77.
- Cszinszky, A. A., Jones, J. B., Civerolo, E. L. 1993. Inactivation of *Xanthomonas campestris* pvs. in vitro with plant extracts. ISHS Acta Horticulture 331. WOCMAP I – Medicinal and Aromatic Plants Conference: part 3 of 4. URL <http://www.actahort.org/>.
- García A., Amat Z. 1983. Resistencia a estreptomycin de cepas de *Xanthomonas vesicatoria* aisladas de pimiento y tomate. Cienc. Tec. Agric. Protección de plantas, vol. 6,# 2. p. 109-113.
- García B. N. O., Rodríguez, M. 1994. 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.
- Martínez de Carrillo, M., Colmenares, J. 1999. Efecto de extractos naturales sobre *Xanthomonas campestris* agente causal de la bacteriosis de la cebolla, en condiciones de laboratorio. En: Memorias XVII Congreso Venezolano de Fitopatología, Barquisimeto, Venezuela. Sociedad Venezolana de Fitopatología.
- Pino, O., Lazo, F., Núñez, O., Correa, T. 2001. Estudio químico y microbiológico del aceite esencial de una especie cubana perteneciente a la familia *Piperaceae*. Resúmenes IV Seminario Científico Internacional de Sanidad Vegetal, Cuba. p. 170.
- Ritchie, D.F y Dittapongpith V. 1991. Copper and streptomycin-resistant strains and host differentiated races of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* in North Carolina. Plant Disease 75: 733- 736.
- Sahin, A. y 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.
- <http://rain-tree.com/annato.htm>. 1996. Tropical Plant Database Annatto (*Bixa orellana*).

