

EFFECTO ALELOPÁTICO DE ESCOBA DE BRUJA (*Moniliophthora perniciosa* Stahel.) INOCULADAS EN SIETE ESPECIES DE MALEZAS

ALLELOPATHIC EFFECT OF WITCH'S BROOM (*Moniliophthora perniciosa* Stahel.) INOCULATED IN SEVEN SPECIES OF WEEDS

Jaime Fabián Vera Chang^{1, 3}, Jaime Set Vera Barahona², Fernando David Sánchez Mora¹, Gregorio Humberto Vásquez Montúfar¹, Felipe Rafael Garcés Fiallos^{1, 3}, Rommel Ramos², Germán Jácome López², Christian Vallejo Torres²

¹Dirección de Investigación Científica y Tecnológica, Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Campus Finca Experimental "La María", km 7 vía Quevedo-El Empalme. C. P. 73. Mocache, Los Ríos, Ecuador.

²Facultad de Ciencias Pecuarias, Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Campus Finca Experimental "La María", km 7 vía Quevedo-El Empalme. C. P. 73. Mocache, Los Ríos, Ecuador.

³Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Campus Ing. Manuel Haz Álvarez, km 1.5 vía a Santo Domingo de los Tsáchilas. C. P. 73. Quevedo, Los Ríos, Ecuador.

Emails: jaimefabianverachang@hotmail.com; jaimevera09@hotmail.com; fernandosanchezm23@hotmail.com; goyitouteq@hotmail.com; felipegarces23@yahoo.com; rramos@uteq.edu.ec; gercurry@hotmail.com; cvallejo@uteq.edu.ec

RESUMEN

El estudio consistió en evaluar el efecto del extracto acuoso obtenido de ramas de cacao sanas y extracto etanólico de ramas infectadas por el hongo *Moniliophthora perniciosa* Stahel, sobre el follaje de siete malezas (cinco de hoja ancha y dos de hoja angosta). El porcentaje de necrosis en hojas se determinó en base a una escala nominal (0-7). Para las malezas de hoja angosta el mejor tratamiento T6 al día 15 presentó una severidad de 4.38%, al día 30 este valor desciende 4.29% para finalmente al día 45 dar un valor de 3.44%, pese a que la planta en los primeros días tiene una severidad alta, esta obtiene resistencia a medida que pasan los días de evaluación, así mismo el T2 al día 15 tiene una severidad 4.24% aumentando este valor a los 30 días a 4.31%, pero a los 45 días este valor disminuye a 4.16%. Para las malezas de hoja ancha el mejor tratamiento los primeros 15 días fue el T1 4.05% este valor descendiendo a los 30 días 4.01% y se mantiene hasta el día 45, así mismo la severidad en los 15 días para los T3 (3.90%) y T5 (4.01), después a los 30 días aumentó ligeramente T3 (3.93%) y T5 (4.06), pero a los 45 días decrece T3 (3.88%) y T5 (3.25), en ambas malezas de hoja ancha y angosta se asume que la planta los primeros días no tiene la capacidad de resistir el ataque causado por los extractos, pero a partir de los días 30 y 45, este obtiene resistencia y se recupera posiblemente mediante mecanismos quimiotaxonómicos o fisiológicos.

Palabras clave: Cacao, malezas, escoba de bruja, extracto

ABSTRACT

The study was to evaluate the effect of aqueous extract of cocoa branches ethanolic extract healthy and infected branches *Moniliophthora perniciosa* Stahel fungus on the foliage of seven weed (five-leaved and two narrow leaf). The percentage of necrosis on leaves was determined based on a nominal scale (0-7). To narrow leaf weeds the best treatment T6 at day 15 showed a severity of 4.38% at day 30 this value drops to 4.27% at day 45 finally give a value of 3.44%, although the plant in the early days has high severity, this resistance gets each passing day trial, also the day 15 T2 has a 4.24% severity increasing to 30 days 4.31%, but at 45 days this value decreases to 4.16%. For broadleaves the best treatment for the first 15 days was 4.05% Q1 this value down to 4.01% 30 days and maintained until day 45, and the severity thereof within 15 days for T3 (3.90%) and T5 (4.01), then at 30 days increased slightly T3 (3.93%) and T5 (4.06), but at 45 days decreased T3 (3.88%) and T5 (3.25), in both broadleaf and narrow is assumes the first day plant is not able to resist the attack caused by the extracts, but from day 30 and 45, and this resistance obtained is possible recovered by chemotaxonomic and physiological mechanisms.

Key words: Cocoa, weeds, witch's broom, extract.

Recibido: 23-Agosto-2012. Recibido en forma corregida: 13-Septiembre-2012.
Aceptado: 08-Enero-2013.

Publicado como ARTÍCULO CIENTÍFICO en Ciencia y Tecnología 6(1): 11-15.

Enero - Junio de 2013

ISSN 1390-4051 impreso; ISSN 1390-4043 electrónico

INTRODUCCIÓN

El cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.) es atacado por un sinnúmero de agentes bióticos, entre ellos las malezas o también denominadas plantas dañinas (Canals y Paredes, 2004), acarreado un serio problema para el desarrollo normal de las plantas.

Como control alternativo, se ha estudiado el efecto alelopático con ciertas especies vegetales y de algunos microorganismos contra estas malezas que perjudican al cacao, pudiendo ser una alternativa viable para su manejo, sin embargo esto aún no ha sido fuente de estudio en el Ecuador. La alelopatía está íntimamente relacionada con la competencia (nutrientes y espacio), y producto de este comportamiento es el efecto de sustancias secretadas por una especie de planta afectando la germinación y el desarrollo de otra por la presencia de moléculas con propiedades herbicidas. Estas sustancias son menos perjudiciales para el medio ambiente y los seres humanos, al contrario de los agroquímicos empleados en la agricultura actual (Asomanig y Lockard, 1963; Ordeñana, 1992; Ferreira y Aquila, 2000). Según Inoue *et al.* (2007) la alelopatía es el proceso que involucra metabolitos secundarios producidos por plantas, algas, bacterias y hongos, cuyos efectos potenciales sobre malezas podrían utilizarse en los cultivos de gran importancia como el cacao.

Por otra parte, la enfermedad del cacao conocida como escoba de bruja, causada por el hongo endémico *M. perniciosa*, afecta los tejidos meristemáticos en desarrollo (Evans, 1980; Brownlee y Hedger, 1990; Griffith, 2004; Lyndel *et al.*, 2006), ocasiona hipertrofia en ramas y cojinetes florales y alteraciones en flores, mazorcas y brotes terminales. Lo anterior como resultado de una posible acumulación de fitohormonas inducidas por el patógeno en las partes afectadas (Urquhart, 1963; Braudeau, 1970; Ordeñana, 1992; Souza-Filho, 2002). Estas fitohormonas pudieran también jugar un papel en alterar el crecimiento y desarrollo de las malezas, mediante la alteración (modificación) de las concentraciones propias de ellas.

Por el desconocimiento de esta temática, se planificó el presente estudio con el objetivo de evaluar extractos alcohólicos y acuosos de ramas sanas de cacao y ramas infectadas con el hongo *M. perniciosa*, los cuales fueron rociados al follaje de siete malezas en desarrollo, cinco de hoja ancha y dos de hoja angosta. Estas especies de malezas fueron escogidas, por presentarse con mayor frecuencia en plantaciones cacaoteras de la región estudiada.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se llevó a cabo durante los meses de marzo a junio del 2008, en Quevedo, Los Ríos, Ecuador, cuyas coordenadas geográficas son: longitud oeste 79° 28" y 01° 06" de latitud sur, con una temperatura promedio de 24.5° C, a una altura de 120 msnm. Esta localidad se encuentra ecológicamente circunscrita dentro del Bosque tropical húmedo, con una precipitación promedio anual de 1,858 mm, humedad relativa del 86% y 62.9 horas luz de brillo solar en periodo seco.

Para el establecimiento del experimento se realizó una limpieza mecánica del suelo, limitando cada parcela con medidas de 2x1 m. Luego de la germinación de semillas de plantas establecidas en el suelo se procedió a seleccionar las malezas que correspondían a cada tratamiento y/o especie según Canals y Paredes (2004). Las malezas (Cuadro 1) fueron seleccionadas por previa observación, y se les dejó crecer libremente como un evento independiente (Bensh *et al.*, 2007; Inoue *et al.*, 2007).

Cuadro 1. Malezas de hoja ancha y angosta utilizadas en el experimento

Nombre común	Nombre científico
Malezas de hoja ancha	
Lechosa	<i>Euphorbia hirta</i> L.
Bledo hembra	<i>Amaranthus dubius</i> Mart
Escoba dura	<i>Sida rhombifolia</i> L.
Ortiga	<i>Laportea aestuans</i> L.
Verdolaga	<i>Portulaca oleracea</i> L.
Malezas de hoja angosta	
Caminadora	<i>Rottboellia exaltata</i> L.
Rodilla de pollo	<i>Boerhavia decumbens</i> V.

Proceso extracto alcohólico

Se usó material vegetativo de ramas infectadas porque es posible que durante la asociación entre el microorganismo y las ramas de cacao éstas se estimulan a producir compuestos alelopáticos que intenten reducir el ataque del hongo causante de la escoba de bruja. La maleza al aparentemente ser menos tolerante a estos compuestos podría inhibir su desarrollo, para esto se seleccionó el solvente etanol, ya que en el momento

de maceración de la materia fresca el etanol inhibe el proceso enzimático que producen los microorganismos causantes de la alteración quimio-taxonomica de sus propiedades; además el periodo de preservación del extracto es mucho más largo en comparación a una extracción acuosa. Se recolectaron en una huerta cacaofera ramas vegetativas verdes hipertrofiadas o infectadas por *M. perniciosa*, como también ramas sanas, las cuales fueron descortezadas manualmente. Estas fueron cortadas con la ayuda de una tijera de podar (Felco 3) en pedazos (0.5 cm) y posteriormente licuadas en agua destilada estéril (1,000 cc) con la ayuda de una licuadora marca OSTER (modelo Profesional Series) por un lapso de 18 minutos. Durante la licuación se colocó paulatinamente etanol al 95% en una proporción de 2 mL g⁻¹ de peso fresco. Los extractos fueron filtrados a través de un lienzo y luego lavados con etanol al 80%. La solución resultante fue colocada en baño maría a 70° C por 20 minutos, para obtener una solución libre de etanol. Esta solución fue aplicada en el follaje de malezas correspondiente a los T3, T4, T5 y T6 (Cuadro 2).

Proceso extracto acuoso (testigos)

Se usó material vegetativo de ramas sanas para extraer la mayor cantidad de polifenoles presentes en los tejidos meristemáticos, y para la extracción se procedió de igual manera que el anterior con la diferencia de que no se utilizó ningún tipo de solvente alcohólico, sino agua destilada estéril y tejido sano para evitar la contaminación y multiplicación de microorganismos en el extracto, por esta razón se dejó macerando solo 24 horas (T1 y T2, Cuadro 2).

Para los extractos acuosos (testigos) se preparó concentraciones de 100 g L⁻¹, mientras para los extractos alcohólicos se preparó de 100 y 200 g L⁻¹, aplicadas a los 20 días después de la emergencia de las malezas agrupadas por su tipo de hoja (ancha y angosta), y posteriormente cada quince días durante dos meses. Los extractos acuosos fueron preparados un día antes de cada aplicación y los extractos alcohólicos 7 días antes de su aplicación, ambos fueron conservados a temperatura ambiente en recipientes de vidrio color ámbar. Los tratamientos se describen en el cuadro 2 y fueron establecidos en un diseño boques al azar con cuatro repeticiones, cada parcela consistió de 2 m².

Los valores de escala arbitraria fueron usados en el análisis de varianza, pero no fueron transformados por ningún método estadístico, estas evaluaciones fueron realizadas cinco días después de cada aplicación. La variable evaluada fue la severidad, la misma que fue cuantificada mediante una escala que representa rangos de porcentaje de necrosis en las hojas de las malezas (Cuadro 3), evaluadas cada una individualmente. El

número de malezas cuantificadas por parcela fueron 25 de manera aleatoria de cada especie correspondiente a cada tratamiento, utilizando para el efecto la escala arbitraria mencionada anteriormente.

Cuadro 2. Tratamientos evaluados para analizar el efecto alelopático de extractos de tejido de cacao sano y enfermo por *Moniliophthora perniciosa*, sobre malezas en desarrollo

Tratamientos	Extractos	Concentración g L ⁻¹
T1 _(t)	Extracto acuoso de ramas sanas aplicados en malezas de hoja ancha	100
T2 _(t)	Extracto acuoso de ramas sanas aplicados en malezas de hoja angosta	100
T3	Extracto alcohólico de ramas infectadas aplicados en malezas de hoja ancha	100
T4	Extracto alcohólico de ramas infectadas aplicados en malezas de hoja angosta	100
T5	Extracto alcohólico de ramas infectadas aplicados en malezas de hoja ancha	200
T6	Extracto alcohólico de ramas infectadas aplicados en malezas de hoja angosta	200

Cuadro 3. Escala arbitraria utilizada para el análisis de severidad contabilizada como porcentaje de necrosis en las hojas

Escala	Necrosis foliar (%)
0	0-14
1	15-29
2	30-44
3	45-59
4	60-74
5	75-89
6	90-99
7	100

Análisis estadístico

El estudio se planificó bajo un diseño de bloques completos al azar con cuatro repeticiones, y para la comparación de medias se utilizó la prueba de rangos múltiples de Tukey ($p \leq 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Cuadro 4, se presenta el resultado durante los primeros 15 días después de la primera aplicación. La severidad en malezas de hoja angosta fue mayor en T6 (4.38) después a los 30 días la severidad decrece (4.27) y finalmente a los 45 días se reduce (3.44) dando un promedio de 4.03, infiere que la planta obtiene resistencia a los compuestos presentes en el extracto desde los primeros 15 días, por otra parte para el tratamiento 2 en los primeros 15 días (4.24) mantiene un aumento a los 30 días (4.31) pero a los 45 días decrece a (4.16), el efecto del extracto se manifestó a partir de los 30 días posterior a esto la planta se defiende fisiológicamente y la severidad decrece. Estudios similares realizados por Souza-Filho *et al.* (2010) en dos especies de *Copaifera* fueron similares en las hojas de las dos especies (60.0 y 52.8%) al utilizar extractos de hexano y etanol al 1%; los efectos más importantes reflejaron el alto potencial alelopático inhibitorio de las especies *C. martii* y *C. reticulata* en la germinación de la planta receptora malicia.

En malezas de hoja ancha en los primeros 15 días la severidad en T1 (4.05) se hace evidente, pero a los 30 días esta decrece a (4.01) y finalmente a los 45 días este valor se mantiene, posiblemente se deba a que el extracto no ejerce efecto alelopático a partir de los 30 días de iniciado el experimento; mientras tanto en los primeros 15 días para maleza de hoja ancha en los tratamientos T3 (3.90) y T5 (4.01) presentan una severidad considerable, luego a partir de los 30 días esta sufre un ligero aumento T3(3.93) y T5 (4.06), pero a partir de los 45 este efecto se pierde y los valores de severidad decrecen en ambos tratamientos T3 (3.88) y T5 (3.25) cuyos valores demuestran que el efecto alelopático se pierde a partir de los 45 días, estos tratamientos no poseen diferencias estadísticas tanto a los 15, 30 y 45 días.

El promedio de las tres fechas de evaluación, los testigos T1 (4.02) y T2 (4.24) presentaron resultados cercanos a los demás datos obtenidos, esta respuesta probablemente se debe a que en los tratamientos (T3, T4 y T5) se utilizó etanol al 80%, posiblemente la extracción alcohólica presenta una ventaja expresiva en la inhibición de la severidad, germinación de ramas y raíces en plantas, podía deberse a que el etanol

químicamente en los organismos suele cumplir una función de deshidratación, al contacto de los tejidos aéreos de las malezas, este estimula una respuesta de defensa cerrando sus estomas y disminuyendo su actividad metabólica para no perder líquidos, lo cual provocaría una disminución del crecimiento como lo sostienen con otras especies (Evans, 1980; Piña-Rodríguez y López, 2001; Rodrigues, 2002; Souza-Filho, 2002; Nürnberger *et al.*, 2004; García, 2005; Aguiar-Capobiango *et al.*, 2009; Santos *et al.*, 2010).

Cuadro 4. Severidad de tejido infectado con *M. pernicioso* y no infectado, en malezas de hoja ancha y angosta

Tratamientos	Severidad (0-7)			Promedio
	15 días	30 días	45 días	
T1	4.05 abc*	4.01 ab	4.01 a	4.02
T2	4.24 abc	4.31 c	4.16 a	4.24
T3	3.90 a	3.93 a	3.88 a	3.90
T4	4.32 bc	4.29 bc	4.17 a	4.26
T5	4.01 ab	4.06 abc	3.25 a	3.77
T6	4.38 c	4.27 bc	3.44 a	4.03
Media	4.15	4.14	3.82	
CV (%)	3.67	2.99	20.9	
Error Estándar	0.023	0.015	0.01	

T1 Extracto acuoso de ramas sanas aplicadas en malezas de hoja ancha. T2 Extracto acuoso de ramas sanas aplicadas en malezas de hoja angosta. T3 Extracto alcohólico de ramas infectadas aplicadas en malezas de hoja ancha. T4 Extracto alcohólico de ramas infectadas aplicadas en malezas de hoja angosta. T5 Extracto alcohólico de ramas infectadas aplicadas en malezas de hoja ancha. T6 Extracto alcohólico de ramas infectadas aplicadas en malezas de hoja angosta.

*Medias seguidas por la misma letra no presentan diferencias estadísticas (Tukey, $p > 0.05$).

CONCLUSIONES

Los extractos acuosos y alcohólicos de ramas sanas e infectadas con *M. pernicioso* en estado vegetativo verde, no tuvieron un comportamiento alelopático diferenciado entre cada una de las malezas evaluadas, los tratamientos evaluados dieron un promedio entre 60 y 70% de necrosis en hojas, este valor basado en escala arbitraria de 0-100% para el análisis de severidad.

LITERATURA CITADA

- Aguiar-Capobianco, R., S. Vestena y A. H. Couto-Bittencourt. 2009. Alelopatía de *Joanes iaprinceps* Vell. e *Casearia sylvestris* Sw. sobre especies cultivadas. Revista Brasileira de Farmacognosia 19(4):924-930.
- Asomanig, E. J. A. y R. G. Lockard. 1963. Note on estimation of leaf areas of cacao from leaf length data. Canadian Journal Plant Science 43(2):243-45.
- Bensh, E. T., H. S. Schalchil, R. P. Fuentes, P. F. Seemann y C. F. Joven. 2007. Potencial alelopático diferencial de cultivares de trigo (*Triticum aestivum* L.) chileno sobre ballica anual (*Lolium rigidum*) var. Wimmera. Revista IDESIA. Chile. 28(2):81-89.
- Braudeau, J. 1970. El cacao las enfermedades de la escoba de bruja debida *Marasmius pernicius*. Primera edición. Blume, Barcelona. 283-390 pp.
- Brownlee, H. E. y J. Hedger. 1990. Host extract cause morphological variations in germ tubes of the cocoa pathogen *Crinipellis perniciosa*. Mycol 94:543-547.
- Canals, M. y J. Paredes. 2004. Alternativas de manejo de la maleza mano poderosa (*Symgonium podophyllum*) en el cultivo de cacao. IDIAF-editores. 43 p.
- Evans, H. C. 1980. Pleomorfism in *Crinipellis perniciosa* causal agent of Witches brooms diseases of cocoa. TransBrMycolSoc 74 (3):515-523.
- Ferreira, A. G. y M. E. Aquila. 2000. Alelopatía. Una área emergente da eco- fisiología vegetal. Revista Brasileira. Fisiología Vegetal 12(1):175-204.
- García, R. 2005. Potencialidades de maíz, millo y girasol como cultivos alelopáticos para el control de malezas. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal 9(3):23-26.
- Griffith, G. W. 2004. Witches' brooms and frosty pods: threast to world cacao production. Biologist 51(2):71-75
- Inoue, M. H., D. C. Santana, A. P. S. Sousa-Filho, A. C. S. Possamai, L. E. Silva, M. J. E. Pereira y K. M. Pereira. 2007. Potencial alelopático de *Annona crassiflora*: efeitos sobre plantas daninhas. Revista Brasileira de Agroecologia 2(2):876-879.
- Lyndel, W., C. J. de M. Rincones Bellato, R. A. Azevedo, J. C. M. Cascardo y G. A. Pereira. 2006. *In vitro* production of Biotrophic- like cultures of *Crinipellis perniciosa*, the causal agent of witches broom disease of *Theobroma cacao*. Current Microbiology 52(3):191-196.
- Nürnbergger, T., F. Brunner, B. Kemmerling and L. Piater. 2004. Innate immunity in plants and animals: striking similarities and obvious differences. Immunological Reviews 198:249-266.
- Ordeñana, O. 1992. Malezas Rol-Ecología-Fisiología-Morfología: Taxonomía de especies importantes en Ecuador. Alelopatía. Primera edición. Editorial Grafimpac S.A. Guayaquil-Ecuador. 47p.
- Piña-Rodríguez, F. C. M. y B. M. López. 2001. Potencial alelopático de *Mimosa caesalpiniae folia* Benth sobre sementes de *Tabebuia alba* (Cham.) Sandw. Floresta e Ambiente 8(1):130-136.
- Rodrigues, K. C. 2002. Verificação da atividade alelopática de *Myrciaria cuspidata* Berg. (Camboim). Dissertação de Mestrado, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 78 p.
- Santos, C. C., L. G. Silva, G. C. Silva, A. S. de L. Ferraz. 2010. Alelopatia entre leguminosas arbóreas e feijão-caupi. Revista Scientia Agraria. Universidade Federal do Paraná. Brasil. 11(3):187-192.
- Souza-Filho, A., P. Gurgel, M. Queiroz, J. Santos. 2010. Atividade alelopática de extratos brutos de três espécies de Copaifera (*Leguminosae-caesalpinioideae*). Planta Daninha 28(4):743-751.
- Souza-Filho, A. P. 2002. Actividade potencialmente alelopática de extractos brutos e hidroalcoolicos de feijao de poco (*Canavalia ensiformis*). Planta Daninha 18(3):357-364.
- Urquhart, D. H. 1963. CACAO. Instituto Interamericano de la OEA, primera edición. SIC, Turrialba, Costa Rica 33 p.