

EFEECTO DE EXTRACTOS ETANÓLICOS DE AJONJOLÍ (*Sesamum indicum* L.) SOBRE *Macrophomina phaseolina**

Sesame (*Sesamum indicum* L.) ethanolic extracts effect on *Macrophomina phaseolina*

Yuraima Mendoza¹ y Hernán Laurentin¹

RESUMEN

Uno de los principales problemas bióticos que presenta la producción de ajonjolí en Venezuela es la pudrición carbonosa causada por el hongo *Macrophomina phaseolina*. Entre las estrategias más comunes para su control se encuentra el control químico, sin embargo, existen otras posibilidades ambientalmente más amigables como el uso de extractos vegetales que interfieren en el desarrollo del hongo. Con la finalidad de evaluar el efecto de extractos etanólicos de raíz y tallo de cuatro cultivares de ajonjolí sobre el crecimiento de tres aislamientos de *M. phaseolina*, se diseñó un experimento en el cual se determinó la dinámica del crecimiento micelial mediante el monitoreo de la densidad óptica cada 12 h en celdas de placas de ELISA (enzyme linked immunosorbent assay), en las cuales estuvieron creciendo los aislamientos en presencia de extractos de raíz y tallo de cada uno de los cuatro genotipos de ajonjolí. Cada tratamiento tuvo 24 repeticiones, distribuidas según un diseño experimental completamente al azar en arreglo factorial de tratamientos. Adicionalmente se identificaron grupos de metabolitos en raíces y tallos de los genotipos de ajonjolí evaluados. Los extractos de raíz inhibieron hasta en 82% el crecimiento micelial de dos aislamientos. Los extractos de tallo tendieron a estimular el crecimiento, esta respuesta fue variable entre genotipos y entre aislamientos del hongo. La caracterización metabólica de los extractos resultó en una mayor concentración de alcaloides en raíces (su contenido varió según el genotipo de ajonjolí), mientras que en tallo predominaron los flavonoides. No hubo una clara relación entre grupos de metabolitos secundarios y el crecimiento del hongo.

Palabras clave: pudrición carbonosa, alcaloides, flavonoides, crecimiento micelial, densidad óptica.

ABSTRACT

Charcoal root rot, caused by *Macrophomina phaseolina*, is one of the most important diseases affecting sesame in Venezuela. Among the most common strategies to control is the chemical control, however, other more environmentally friendly possibilities can be used, such as vegetable extracts which interfere with fungal growth. In order to evaluate the effect of ethanol extracts of root and stem of four sesame cultivars on the growth of three isolates of *M. phaseolina*, an experiment was designed in which the mycelial dynamics growth was determined by monitoring the optical density every 12 hours in ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) cell plates, in which were growing the isolates in the presence of extracts root and stem of each of the four genotypes of sesame. Each treatment had 24 replicates, distributed in a completely randomized design in factorial arrangement of treatments. Further groups of metabolites were identified in roots and stems of sesame genotypes evaluated. Root extracts inhibited up to 82% mycelial growth of two isolates. Stem extracts have a trend to promote fungus growth, but this response was variable for sesame genotype and also for fungi isolates. Metabolic characterization of extracts resulted in higher concentration of alkaloids in roots than in stems, but the contents were variable depending on sesame genotype. For stems, flavonoids were prevalent. No correlation was found for metabolic content of the extracts and effect of extracts on fungus growth.

Key words: charcoal rot, alkaloids, flavonoids, mycelial growth, optical density.

(*) Recibido: 23-05-2012

Aceptado: 26-07-2012

¹ Decanato de Agronomía. Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado (UCLA). Barquisimeto. Lara, Venezuela. email: hlautentin@ucla.edu.ve, yuraimamendozag85@hotmail.com

INTRODUCCIÓN

En Venezuela el cultivo del ajonjolí (*Sesamum indicum* L.), tiene especial importancia en la zona agrícola de Turén (estado Portuguesa), donde es utilizado como cultivo de rotación, proporciona trabajo a los habitantes de la zona durante los meses comprendidos entre noviembre y abril. El grano de ajonjolí es muy bien cotizado en el mercado externo, por lo cual la vigencia del cultivo se sustenta en la alta calidad de su producción para exportar (Montilla y Terán 1996).

Una importante limitante de producción en el cultivo está representada por el hongo del suelo *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid, causante de la enfermedad conocida como pudrición carbonosa. El hongo sobrevive en el suelo mediante los esclerocios presentes en los restos de plantas enfermas. Al presentarse condiciones de estrés para la planta como altas temperaturas y baja humedad en el suelo (condiciones típicas en la época de producción de ajonjolí), estos esclerocios germinan logrando que sus hifas penetren las células de la raíz (Edmunds 1964; Dhingra y Sinclair 1978; Odvody y Dunkle 1979). Las hifas crecen a través del sistema vascular, logran finalmente obstruirlo (Wyllie 1989) y produce el típico marchitamiento de la planta, con lesiones de color pardo de consistencia seca y dura. A medida que avanza el hongo por la planta produce esclerocios tanto en la superficie como en la región medular, la cual se torna seca y de color gris, por tal razón la enfermedad se conoce con el nombre de pudrición carbonosa.

En la búsqueda de alternativas de control de *M. phaseolina*, se han estudiado numerosos procedimientos para minimizar las pérdidas económicas causadas, se ha utilizado control químico con fungicidas, herbicidas (Pineda y Avila 1988), control biológico, especialmente con el hongo *Trichoderma harzianum* Rifaii (Cardona y Rodríguez 2002) y desarrollo de cultivares resistentes (Mazzani *et al.* 1973). Para la obtención de fungicidas naturales así como para el desarrollo eficiente de cultivares resistentes, es necesario identificar fuentes de compuestos biológicamente activos que afecten el desarrollo de hongos. Una de las formas de lograr esta

identificación es a través de la evaluación del efecto de extractos vegetales. Extractos con efectos fungicidas de algunas especies de plantas representan un potencial para disminuir el uso de agroquímicos, que no sólo atentan contra la ecología y la salud, sino que además, permanecen en el medio ambiente por años (Castillo 2004).

Los extractos vegetales se han empleado desde tiempos remotos, principalmente en el ámbito medicinal para el control de enfermedades, y recientemente en el entorno agrícola contra insectos e incluso en el control de algunos microorganismos fitopatógenos; sin embargo, no se ha definido en algunos casos cual es su principio activo (Lagunes 1994). El número de especies vegetales en el mundo es alrededor de 500.000, aunque en pocas se ha estudiado la actividad antimicrobiana que pudieran tener extractos de alguno de sus órganos (De Lucca *et al.* 2005), lo cual evidencia el potencial que pudiera tener esta estrategia en el marco de un manejo integrado de patógenos.

La evaluación de esta estrategia ha sido realizada con distintos tipos de extractos de diferentes órganos de plantas sobre hongos fitopatógenos tales como *Fusarium oxysporum* (Bautista-Baños y Hernández-López 2004), *Fusarium solanif. sp. Melongenae* (Muzafar y Kumar 2008), *Aspergillus niger* (Bobbarala *et al.* 2009), *Pythium aphanidermatum* (Suleiman y Emua 2009) y *Colletotrichum gloesporioides* (Johnny *et al.* 2010). En el caso de *Macrophomina phaseolina* se ha evaluado el efecto de extractos vegetales provenientes de diferentes especies de plantas silvestres o medicinales sobre su crecimiento (Dubey *et al.* 2009; Aslam *et al.* 2010; Tandel *et al.* 2010; Wadikar y Nimbalkar, 2010; Javaid y Rehman 2011) y cultivadas (Khan *et al.* 2007). La diversidad de efectos de los extractos vegetales sobre el crecimiento de los hongos está relacionada con la composición bioquímica de los extractos, principalmente contenido de metabolitos secundarios. Estos compuestos son definidos por Croteau *et al.* (2000) como compuestos orgánicos que no parecen tener participación directa en el crecimiento y desarrollo de las plantas. En varias investigaciones se ha intentado relacionar el efecto

inhibitorio que tuvieron algunos extractos vegetales sobre hongos, con la presencia de grupos de metabolitos secundarios (Rodríguez *et al.* 2000; Rodríguez y Sanabria 2005; Márquez *et al.* 2007).

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de extractos etanólicos de raíz y tallo de cuatro genotipos de ajonjolí (*Sesamum indicum* L.) sobre el crecimiento *in vitro* de tres aislamientos de *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid., y relacionarlo con la presencia o ausencia de grupos de metabolitos secundarios en los órganos citados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Aislamiento del hongo

Para la obtención de varios aislamientos del hongo se tomaron muestras vegetales de siembras comerciales en el estado Portuguesa, que presentaran sintomatología de pudrición carbonosa. Una vez obtenido el tejido enfermo, secciones pequeñas se colocaron en agar papa dextrosa (medio PDA) en cápsulas de Petri, se esperó el crecimiento micelial de *M. phaseolina* para transferir secciones de medio PDA con micelio a otra cápsula con PDA, operación que se repitió tantas veces como fue necesario para obtener aislamientos puros. De esta forma se obtuvieron tres aislamientos del hongo, provenientes de los sitios geográficos indicados en la Tabla 1.

Material vegetal

En base a estudios de diversidad genética de

ajonjolí (Laurentin y Karlovsky 2007), se utilizaron los cultivares indicados en la Tabla 2. La escogencia de estos cultivares abarca en gran medida la diversidad genética de una amplia colección de ajonjolí establecida principalmente en el Banco de Germoplasma del Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (CENIAP) en Maracay, estado Aragua, Venezuela.

Obtención de los extractos

Se colocaron, en vasos plásticos, a germinar 50 semillas de cada uno de los cultivares de ajonjolí (Maporal, UCLA 295, 43x32 e India 7), previamente desinfectadas superficialmente con fungicida de contacto, en una mezcla esterilizada de tierra negra – arena en proporción 1:1. Luego de tres semanas de la germinación, las plántulas se lavaron para remover la mezcla adherida, y se separaron las raíces de los tallos. La masa total de cada uno de los órganos por separado, fue macerada en un mortero en presencia de 5 ml de etanol 80% por cada gramo de tejido. La suspensión obtenida fue filtrada y almacenada en tubos de vidrio a una temperatura de -20°C.

Determinación de grupos de metabolitos secundarios

Se realizó un análisis fitoquímico para los extractos de raíz y tallo de cada uno de los cuatro genotipos. Se efectuó una determinación cualitativa y otra cuantitativa. En la primera, se determinó la presencia o ausencia de los grupos de

Tabla 1. Coordenadas geográficas, altitud y localidad de los puntos en que fue colectado el material enfermo que originó los aislamientos de *M. phaseolina* utilizados.

Aislamientos	Latitud	Longitud	Altitud msnm	Localidad
2-2010	9°12'41,01'' N	68°56'47,8'' O	100	A 2 kms de Acequioncito
C3	9°07'43,18'' N	69°01'44,54'' O	114	Entre Chorrerones y El Ají
41-2010	9°09'44,9'' N	68°54'06'' O	100	Camino 8

Tabla 2. Cultivares de ajonjolí de distintos programas de mejoramiento genético utilizados en el presente trabajo

Cultivares	Descripción
43 x 32	Línea seleccionada del segundo ciclo de selección recurrente hacia altos rendimientos. La población original fue obtenida por el cruzamiento entre 50 introducciones exóticas (Laurentin <i>et al.</i> 2000)
UCLA 295	Líneas élites del programa de mejoramiento genético de ajonjolí de la Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado. Origen desconocido
Maporal	Línea seleccionada del cultivar Etíope Arapatol (Mazzani <i>et al.</i> 1973).
India 7	Banco de germoplasma CENIAP, Maracay, estado Aragua, Venezuela (Laurentin y Karlovsky 2006)

metabolitos alcaloides, flavonoides y fenoles mediante cromatografía de capa fina. De cada uno de los extractos etanólicos, se colocaron 5 µL repetidos dos veces en un cromatofolio. Se utilizó un cromatofolio para cada grupo de metabolitos a determinar. Adicionalmente se utilizaron como testigos negativos cromatofolios sin la adición del extracto, sólo con etanol 80%. Los solventes utilizados para cada grupo de metabolitos y la determinación de su presencia se logró tal como lo propusieron Marcano y Hasegawa (2002).

La aproximación cuantitativa se obtuvo mediante la metodología reportada por Vásquez *et al.* (2008). Brevemente, se demarcó en el cromatofolio el área ocupada por el grupo de metabolitos y se extrajo del sílica gel un área de 0,19625 cm², la cual se pesó y se denominó peso de área conocida (ac). Del resto de la mancha ocupada por el grupo de metabolitos, también fue extraído el sílica gel y se pesó, esto fue el peso del área desconocida (ad). Del cromatofolio testigo se extrajo también 0,19625 cm² y se obtuvo su peso (denominado peso del área testigo, at). Mediante la siguiente fórmula, se obtuvo el peso de cada uno de los grupos de metabolitos para cada uno de los extractos evaluados:

$$Peso(mg) = \left[\frac{(ad) \times (ac - at)}{ac} + (ac - at) \right] \times 1000$$

Esta determinación se efectuó en cada una de las dos áreas ocupadas por los metabolitos en cada cromatofolio.

Bioensayos

El efecto de extractos etanólicos de raíz y tallo de ajonjolí sobre el crecimiento de tres aislamientos de *M. phaseolina* se evaluó en placas de ELISA de 96 celdas. Los microesclerocios fueron el propágulo inicial. Para su obtención se tomaron de cada aislamiento por separado, 2 g de medio PDA que contenía el micelio y los microesclerocios del hongo en crecimiento durante 7 días, los cuales se maceraron en 50 ml de agua destilada, se cuantificó posteriormente la cantidad de microesclerocios por unidad de volumen, al tomar alícuotas de 50 µL y observar su contenido

bajo una lupa estereoscópica. La concentración fue ajustada a 250 microesclerocios por mililitro mediante la adición de medio caldo papa dextrosa. Una vez obtenida la suspensión de microesclerocios, doscientos µL del extracto equivalentes a 40 mg de peso fresco de tejido se colocaron en celdas individuales de la placa de ELISA. Como testigo se colocaron 200 µL de etanol al 80%. Para los doce tratamientos (combinación de cuatro genotipos de ajonjolí y tres aislamientos del hongo) tanto en raíz como en tallo, se realizaron cuatro repeticiones. Después de la evaporación del etanol (aproximadamente 12 h), tanto en los extractos como en el testigo, se agregaron 0,2 mL de la suspensión de microesclerocios (aproximadamente 50 microesclerocios) en cada una de las celdas. Al momento del establecimiento, se tomó la lectura de densidad óptica a 550 nm con un lector µQuant Universal (BioTekInstrument, Inc. USA) en cada una de las celdas. Esta operación se repitió cada 12 h durante 120 h. Los cambios en la densidad óptica son debidos a cambios en la turbidez en las celdas, como consecuencia de la formación de micelio.

Análisis estadístico

La cantidad de mg mL⁻¹ de grupos de metabolitos secundarios fue sometida a un análisis de varianza en cada grupo y para cada órgano, para identificar la existencia de diferencias entre genotipos. En los grupos donde se detectaron diferencias estadísticas, se realizó una prueba de medias de Tukey.

Se aplicó un análisis de varianza para el crecimiento de cada uno de los aislamientos en presencia de extractos y genotipos de ajonjolí, previa comprobación de sus supuestos, dentro de cada uno de los tiempos de evaluación (10 mediciones cada 12 horas). El testigo fue incluido en todos los análisis. El arreglo de tratamiento fue factorial, los factores principales fueron Aislamientos del Hongo y Genotipos de Ajonjolí. En aquellas fuentes de variación donde hubo diferencias significativas, se compararon los promedios de cada tratamiento mediante la prueba de Tukey. Al resultar algún tratamiento con menor densidad óptica que el control (P<0,05) se

concluyó que existía un efecto de inhibición, caso contrario, se consideró un efecto de estímulo al crecimiento micelial. Los análisis se efectuaron con el programa estadístico Statistix for Windows versión 8.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El contenido de metabolitos secundarios presentó variabilidad entre los genotipos de ajonjolí evaluados, así como entre los órganos raíz y tallo dentro de cada genotipo (Tabla 3). En la raíz predominaron los alcaloides, se logró su cuantificación en los genotipos evaluados, excepto en Maporal. Los flavonoides fueron segundos en cantidad y los fenoles no estuvieron presentes. En el tallo, los flavonoides predominaron, se identificaron en tres de los cuatro genotipos evaluados. Los alcaloides sólo estuvieron presentes en los extractos provenientes de India 7; mientras que los fenoles, aun cuando en muy poca cantidad, fueron identificados en Maporal y UCLA 295. La variabilidad entre órganos es esperada, Azcon-Bieto y Talon (2000) señalaron que los metabolitos secundarios no están uniformemente distribuidos por toda la planta, y que por el contrario, se ubican diferencialmente en determinados órganos. La diversidad existente entre genotipos de ajonjolí, de acuerdo con la presencia o no de grupos de metabolitos secundarios, aunque con otro tipo de determinaciones, ha sido reportada (Laurentin *et al.* 2008).

Los análisis de varianza realizados con los valores de densidad óptica a 550 nm como indicadores de crecimiento micelial mostraron diferencias ($P < 0,05$ ó $P < 0,01$) para la interacción Aislamientos del Hongo x Genotipos de Ajonjolí a partir de 36 h para extractos de raíz, y a partir de

60 h para extractos de tallo (Tabla 4).

Tabla 4. Significación estadística para interacción aislamientos del hongo x genotipos de ajonjolí en cada tiempo de evaluación.

Medición (horas)	Significación estadística para interacción aislamiento del hongo x genotipo de ajonjolí	
	Raíz	Tallo
12	ns	ns
24	ns	ns
36	*	ns
48	**	ns
60	**	*
72	**	**
84	**	**
96	**	**
108	**	**
120	**	**

ns = no significativa ($P > 0,05$), * = ($P < 0,05$) ** = ($P < 0,01$)

En la Figura 1 se muestra el efecto que tuvieron los extractos etanólicos de raíz sobre el crecimiento de los tres aislamientos de *M. phaseolina*. Los aislamientos 2-2010 y 41-2010 presentaron inhibición en su crecimiento a partir de 60 horas como consecuencia de la presencia de extractos etanólicos en al menos dos de los genotipos de ajonjolí evaluados, mientras que el aislamiento C3 no fue inhibido por ninguno. Estos resultados indican la existencia en las raíces de India 7 y 43 x 32 de factores que impiden el libre desarrollo de algunos aislamientos de *M. phaseolina*, indican también la diversidad que a nivel metabólico puedan tener distintos genotipos de ajonjolí. El efecto no fue uniforme, así, la consecuencia que sobre el crecimiento de los tres aislamientos evaluados tuvo la presencia de los extractos de Maporal y UCLA 295 no fue consistente. Maporal presentó mayor inhibición sobre el aislamiento 41-2010, pero promovió el crecimiento de C3; mientras que UCLA 295 inhibió en distintos grados el crecimiento de 2-

Tabla 3. Cantidad de metabolitos secundarios presentes en los extractos etanólicos de raíz y tallo de cuatro genotipos de ajonjolí.

Genotipo de ajonjolí	Grupo de metabolitos en raíz			Grupo de metabolitos en tallo		
	Alcaloides	Flavonoides	Fenoles -mg mL ⁻¹ -	Alcaloides	Flavonoides	Fenoles
43 x 32	103,44 a	0,00 c	0,00	0,00 b	74,28 a	0,00
India 7	103,63 a	63,87 a	0,00	61,11 a	93,80 a	0,00
Maporal	0,00 c	25,71 b	0,00	0,00 b	32,25 b	<25
UCLA 295	62,85 b	52,50 a	0,00	0,00 b	0,00 c	<25

Nota: los promedios seguidos de una misma letra, dentro de una misma columna, no difieren estadísticamente ($P < 0,05$)

2010 y 41-2010, pero al igual que Maporal, estimuló el crecimiento de C3.

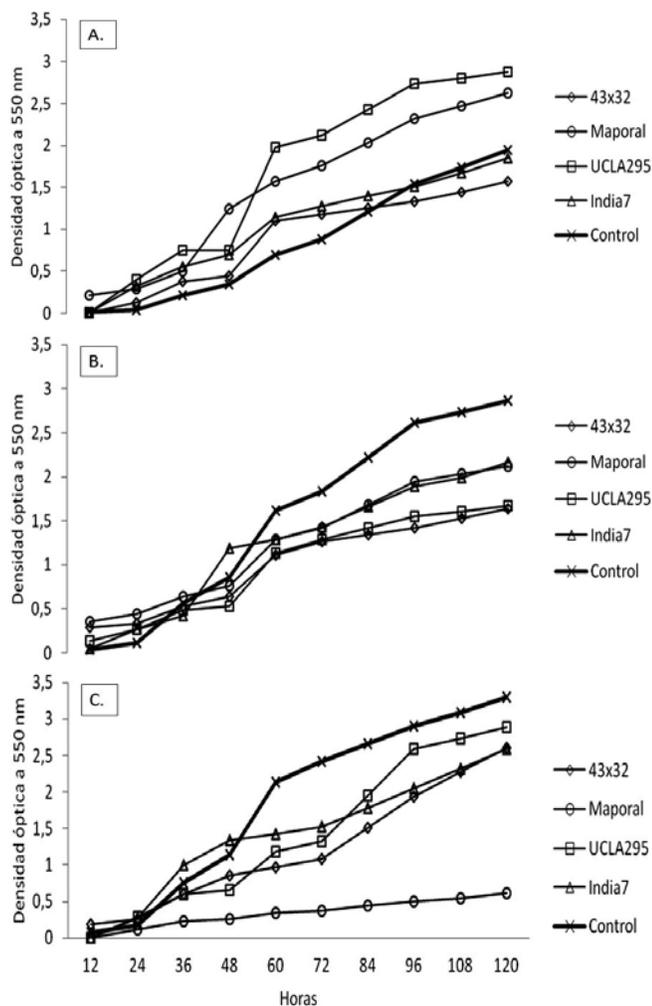


Figura 1. Efecto de los extractos etanólicos de raíz de cuatro genotipos de ajonjolí sobre el crecimiento micelial *in vitro* de *Macrophomina phaseolina*: A. Aislamiento C3. B. Aislamiento 2-2010. C. Aislamiento 41-2010.

Al comparar los aislamientos del hongo, se observa una amplia variabilidad en la respuesta que tuvieron. De manera general, C3 tuvo la capacidad de utilizar los elementos presentes en los extractos etanólicos para su nutrición y desarrollo, expresado en un crecimiento mayor que el control a partir de las 60 h, o al menos, estos no afectaron significativamente su crecimiento; mientras que en los otros dos aislamientos se observó un efecto detrimental en crecimiento como consecuencia de la presencia de extractos etanólicos de raíz.

Los extractos de tallo tendieron a promover el crecimiento de los aislamientos evaluados,

ninguno resultó en una inhibición representada por un crecimiento significativamente menor que el control, a excepción de 43 x 32 sobre el aislamiento 41-2010 a las 120 h (Figura 2). En general, se evidencia que el efecto de los extractos de raíz fue distinto al efecto de los extractos de tallo, puede observarse una tendencia de inhibición más frecuente con extractos de raíz; mientras que los casos de promoción del crecimiento ocurrieron con mayor frecuencia al utilizar los extractos de tallo.

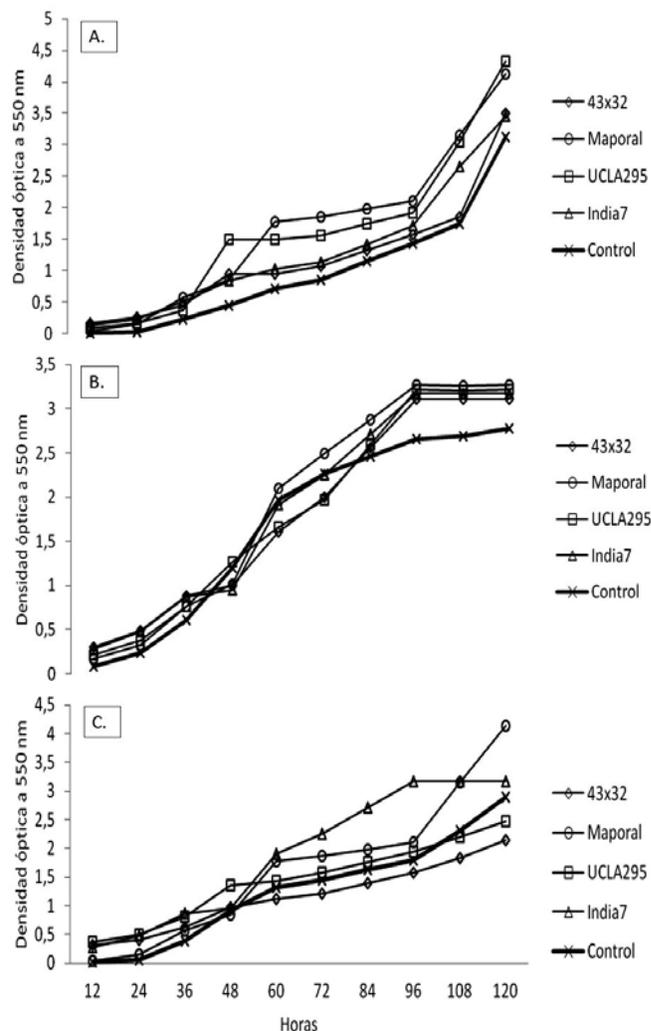


Figura 2. Efecto de los extractos etanólicos de tallo de cuatro genotipos de ajonjolí sobre el crecimiento micelial *in vitro* de *Macrophomina phaseolina*: A. Aislamiento C3. B. Aislamiento 2-2010. C. Aislamiento 41-2010.

Los metabolitos secundarios son responsables de la actividad antimicrobiana de extractos vegetales (Taiz y Zeiger 2010). En este trabajo es evidente que la actividad antimicrobiana

sucedió preferentemente en la raíz, lo cual puede explicarse por los mecanismos de coevolución ocurridos entre ajonjolí y *M. phaseolina*, ya que si el patógeno entra por la raíz (Wyllie 1989), la existencia de algún mecanismo de resistencia por parte de la planta debe ubicarse en este órgano. Oku (1994) establece que uno de los posibles mecanismos de resistencia a patógenos ocurre debido a la presencia de ciertos metabolitos que les resultan tóxicos. Esto pudiera explicar que la inhibición en el crecimiento micelial de *M. phaseolina* ocurrió frecuentemente al desarrollarse el hongo en presencia de extractos de raíz, y muy raramente al desarrollarse en presencia de extractos de tallo, puesto que sería en la raíz donde estarían presentes los metabolitos responsables de la eventual resistencia genética de la planta al hongo.

Efectos de inhibición y de promoción de crecimiento de *M. phaseolina* como consecuencia de la adición de extractos vegetales en medios de cultivo han sido previamente reportados, usando principalmente plantas silvestres. Efectos inhibitorios han sido identificados con extractos de hoja y corteza de nim (*Azadirachta indica* A. Juss) (Dubey *et al.* 2009), hojas de la planta medicinal *Dodonaea viscosa* (Aslam *et al.* 2010), bulbos de cebolla (*Allium cepa*) (Tandel *et al.* 2010); mientras que efectos de estimulación de crecimiento han sido reportados al usar extractos de hojas de nim previamente esterilizados en autoclave (Dubey *et al.* 2009). Ninguna de estas especies es hospedera de *M. phaseolina*, todos estos trabajos han usado sólo un aislamiento del hongo.

La presente investigación, al igual que la de Khan *et al.* (2007) son las únicas que enfocaron el problema hacia la identificación de efectos inhibitorios del hongo como consecuencia de la adición de extractos vegetales, bajo la premisa de que la coevolución definía algún tipo de resistencia genética en hospederos habituales de *M. phaseolina*, probablemente relacionada con la composición metabólica de algún órgano de la planta. En este sentido, Khan *et al.* (2007) evaluaron tres aislamientos del hongo en un sólo genotipo de girasol e informaron resultados parcialmente similares a los del presente trabajo, al

reportar que los extractos de raíz de girasol tuvieron un mayor efecto inhibitorio que los de tallo. La variabilidad que se visualiza en la presente investigación en cuanto a la cantidad de grupos de metabolitos secundarios presentes en los extractos entre genotipos de ajonjolí, y la variabilidad que tiene un mismo extracto sobre tres aislamientos del hongo, refuerzan la importancia de considerar y explorar la variabilidad intraespecífica (tanto del patógeno como del hospedero) en este tipo de trabajos.

La relación entre el efecto que tuvieron los extractos etanólicos sobre el hongo y su composición en lo referente a alcaloides, flavonoides y fenoles no resultó clara. Si bien es cierto que 43 x 32 e India 7 aportaron extractos etanólicos de raíz con mayor contenido de alcaloides, y que estos extractos tuvieron capacidad de inhibir el crecimiento de dos de los tres aislamientos del hongo, también es cierto que la máxima inhibición se logró en presencia de extractos etanólicos de raíz de Maporal, en el cual no se encontraron alcaloides. No existen en esta investigación elementos suficientes para señalar o descartar a los alcaloides como responsables de la inhibición del crecimiento del hongo. Debido a la amplia variabilidad genómica de los materiales de ajonjolí evaluados, pudiera existir distinta composición bioquímica en los extractos como consecuencia de distintos mecanismos de resistencia; para India 7 y 43 x 32 pudiera suceder que los alcaloides estén relacionados con algún mecanismo de resistencia, pero esto no ocurriría para Maporal. Esto pudiera ser soportado porque en el tallo, cuyos extractos prevalentemente tendieron a estimular el crecimiento, los alcaloides estuvieron ausentes, excepto en India7.

La identificación de genotipos de ajonjolí, de los cuales se obtienen extractos que inhiben el crecimiento de *M. phaseolina* puede ser utilizada como elemento a considerar en programas de mejoramiento genético tendentes a la obtención de cultivares resistentes; adicionalmente, esta información puede ser utilizada para el control de este hongo en otros cultivos. En este sentido, los genotipos 43 x 32 e India 7 pudieran ser considerados como padres de una población segregante a obtener con fines de selección. Sus

raíces pueden ser fuente de extractos para uso en el control de *M. phaseolina* en otros cultivos.

CONCLUSIONES

Hubo amplia variación en el efecto de extractos de ajonjolí sobre el crecimiento del hongo *M. phaseolina*, la cual fue causada tanto por los genotipos de ajonjolí como por los aislamientos del hongo, se evidenció variabilidad intraespecífica en ambos. Los extractos de raíz tendieron a mostrar inhibición en el crecimiento del hongo, mientras que los extractos de tallo presentaron tendencia a estimular el crecimiento.

No se obtuvo clara relación entre el contenido de alcaloides, fenoles y flavonoides con el efecto que hubo sobre el hongo.

AGRADECIMIENTO

Los autores desean expresar su agradecimiento a International Foundation for Sciences (IFS) por el financiamiento de la presente investigación, derivada del proyecto IFS C/4408-1.

REFERENCIAS

Aslam, A., Naz, F., Arshad, M., Qureshi, R. and Rauf, C. 2010. *In vitro* antifungal activity of selected medicinal plant diffusates against *Alternaria solani*, *Rhizoctonia solani* and *Macrophomina phaseolina*. Pak. J. Bot. 42:2911-2919.

Azcon-Bieto, J. y Talon, M. 2000. Fundamentos de Fisiología Vegetal. MacGraw-Hill. Madrid, España P. 169-171.

Baustista-Baños, S. and Hernández-López, M. 2004. Growth inhibition of selected fungi by chitosan and plant extracts. Revista Mexicana de Fitopatología 22:178-186.

Bobbarala, V., Kumar, P., Chandrasekhar, K. and Penumajji, S. 2009. Antifungal activity of selected plant extracts against phytopathogenic fungi *Aspergillus niger*. Indian Journal of Sciences and Technology 2:87-90.

Cardona, R. y Rodríguez, H. 2002. Evaluación de *Trichoderma harzianum* en el control biológico de *Macrophomina phaseolina* en ajonjolí. Fitopatología Venezolana 15:21-23.

Castillo, J. 2004. Determinación de metabolitos secundarios en plantas silvestres del Parque Nacional Terepaima, municipio Palavecino, estado Lara. Saber 17: 280-282.

Croteau, R., Kutchan, T. and Lewis, N. 2000. Natural products (secondary metabolites). In Biochemistry and Molecular Biology of Plants. Buchanan, B. Grissem, W. and Jones, R. (Editors). American Society of Plant Physiologists. Rockville, Estados Unidos. p. 1250-1318.

De Lucca, A., Cleveland, T. and Wedge, D. 2005. Plant-derived antifungal proteins and peptides. Canadian Journal of Microbiology 51:1001-1014.

Dhingra O. and Sinclair, J. 1978. Biology and Pathology of *Macrophomina phaseolina*. Universidad Federal de Vicosa, Vicosa, Brasil. 166 p.

Dubey, R., Kumar, H. and Pandey, R. 2009. Fungitoxic effect of neem extracts on growth and sclerotial survival of *Macrophomina phaseolina in vitro*. Journal of American Science 5:17-24.

Edmunds, L. 1964. Combined relation of plant maturity, temperature and soil moisture to charcoal stalk rot development in grain sorghum. Phytopathology 54:514-517.

Javaid, A. and Rehman, H. 2011. Antifungal activity of leaf extracts of some medicinal trees against *Macrophomina phaseolina*. Journal of Medicinal Plants Research 5:2868-2872.

Johnny, L., Yusuf, U. and Nulit, R. 2010. The effect of herbal plant extracts on the growth and sporulation of *Colletotrichum gloeosporioides*. Journal of Applied Biosciences 34:2218-2224.

- Khan, S., Ayub, N. and Ahmad, I. 2007. Inhibitory effect of extracts of plant parts of sunflower hybrids on sclerotia production of *Macrophomina phaseolina*. Pak. J. Phytopathol. 19:150-154.
- Lagunes, T. 1994. Extractos, polvos vegetales y polvos minerales para el combate de plagas del maíz y del frijol en la agricultura de subsistencia. Memorias del Colegio de Postgraduados USAIDCONACYT-BORUCONSA. Montecillo. Texcoco. México. 32 p.
- Laurentin, H. and Karlovsky, P. 2006. Genetic relationship and diversity in a sesame (*Sesamum indicum* L.) gemplasm collection using amplified fragment length polymorphism (AFLP). BMC Genetics 7:10.
- Laurentin, H. and Karlovsky, P. 2007. AFLP fingerprinting of sesame (*Sesamum indicum* L.) cultivars: identification, genetic relationship and comparison of AFLP informativeness parameters. Genetic Resources and Crop Evolution 54:1437-1446.
- Laurentin, H., A. Layrisse y Quijada, P. 2000. Evaluación de dos ciclos de selección recurrente para altos rendimientos de semilla en una población de ajonjolí. Agronomía Tropical 50:521-535.
- Laurentin, H., Ratzinger, A. and Karlovsky, P. 2008. Relationship between metabolic and genomic diversity in sesame (*Sesamum indicum* L.). BMC Genomics 9:250.
- Marcano, D. y Hasegawa, M. 2002. Fitoquímica Orgánica. Universidad Central de Venezuela. Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico. Caracas Venezuela. Editorial Torino. 588 p.
- Márquez, R., Torres, C. y Mercado, A. 2007. Actividad antifúngica del extracto total en etanol de las hojas frescas de *Pedilanthus tithymaloides* L. Poit (Ultimorrial). Scientia Et Technica 13:155-159.
- Mazzani, B., Nava, C., Martínez, A. y Layrisse, A. 1973. Maporal, una nueva variedad de ajonjolí para los Llanos Occidentales. Agronomía Tropical 23:501-508.
- Montilla, D. y Terán, H. 1996. UCLA-1, una nueva variedad de ajonjolí (*Sesamum indicum* L.) Bioagro 8(1):26-29.
- Muzafar, B. and Kumar, V. 2008. Bioefficacy of plant extracts to control *Fusarium solani* f.sp. *melongenae* incitant of brinjal wilt. Global Journal of Biotechnology and Biochemistry 3:56-59.
- Odvody, G. and Dunkle, L. 1979. Charcoal stalk rot of sorghum: effect of environment on host-parasite relations. Phytopathology 69:250-254.
- Oku, H. 1994. Plant pathogenesis and disease control. Lewis Publishers. Boca Raton, Florida, Estados Unidos. 193 p.
- Pineda, J. y Avila, J. 1988. Alternativas para el control de *Macrophomina phaseolina* y *Fusarium oxysporum* patógenos del ajonjolí (*Sesamum indicum* L.). Agronomía Tropical (Maracay) 38(4-6):79-84.
- Rodríguez, A., Morales, D. y Ramírez, M. 2000. Efecto de extractos vegetales sobre el crecimiento in vitro de hongos fitopatógenos. Cultivos Tropicales 21:79-82.
- Rodríguez, D. y Sanabria, M. 2005. Efecto del extracto de tres plantas silvestres sobre la rizoctonosis, la mancha sureña del maíz y los patógenos que la causan. Interciencia 30:739-744.
- Suleiman, M. and Emua, S. 2009. Efficacy of four plant extracts in the control of root rot disease of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp). African Journal of Biotechnology 8:3806-3808.
- Taiz, L. and Zeiger, E. 2010. Plant Physiology. Quinta edición. Asociación Sinauer. Sunderland, Massachusetts. pp. 782.

- Tandel, D., Sabalpara, A. and Pandya, J. 2010. Efficacy of phytoextracts on *Macrophomina phaseolina* (Tassi) goid. Causing leaf blight of green gram. International Journal of Pharma and BioSciences 1:1-5.
- Vásquez, C., Aponte, O., Morales, J., Sanabria, M. and García, G. 2008. Biological studies of *Oligonychus punicae* (Acari: Tetranychidae) on grapevine cultivars. Exp. Appl. Acarol. 45:59-69.
- Wadikar, M. and Nimbalkar, R. 2010. Efficacy of leaf extracts of *Taphrosia purpurea* and *Catharanthus roseus* against root rot diseases of chickpea (*Cicer arietium* L.). Recent Research in Science and Technology 2:12-13.
- Wyllie, T. 1989. Charcoal rot. En: Compendium of soybean diseases. 3era. edición. J.B. Sinclair y P.A. Backman eds. American Phytopathological Society, St. Paul, MN. pp 30-33.