

## **Efecto de extractos vegetales sobre la incidencia de hongos y germinación de semillas de soya (*Glycine max*)**

**Effect of plant extracts on the incidence of fungi and germination of soybeans (*Glycine max*)**

**Efeito de extratos vegetais na incidência de fungos e germinação de soja (*Glycine max*)**

Fonseca Rozo Ruth Viviana<sup>1</sup> y Bastidas López Harold<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ingeniera Agrónoma, Universidad de los Llanos y

<sup>2</sup>Ingeniero Agrónomo, MSc., Docente Universidad de los Llanos

[hbastidas@unillanos.edu.co](mailto:hbastidas@unillanos.edu.co)

Recibido 27 de Octubre de 2017, Aceptado 30 de Abril 2018

### **RESUMEN**

El tratamiento de semillas de soya (*Glycine max*) está orientado a controlar los agentes que ocasionan las enfermedades que interfieren en la productividad de las plantas cultivadas, puesto que se disminuye notablemente el porcentaje de daños causados por plagas que pueden impedir el buen desarrollo inicial de las plantas, actualmente el control se realiza con productos químicos, pero estos componentes afectan la salud, por lo tanto se están planteando alternativas menos nocivas para el efecto. Por lo anterior, el objetivo principal fue determinar si los extractos vegetales (EV) que contienen metabolitos secundarios, se podrían convertir en sustancias para el control de los hongos de las semillas de soya en almacenamiento, para lo cual se identificaron microorganismos presentes durante la aplicación de los tratamientos. Los extractos de plantas evaluados fueron: T1: verbena (*Verbena officinalis*), T2: yopo (*Anadenanthera peregrina*), T3: cámara (*Lantana camara*) y T4: caléndula (*Calendula officinalis*), comparadas con un testigo sin tratamiento T5. En el laboratorio se realizó la obtención de los extractos, se licuó el material sólido fresco de la planta y al 30% de su peso se le adiciono agua, haciendo un ajuste al 100%, los extractos se filtraron y se conservaron en un frasco oscuro almacenados en una nevera convencional. Por

observaciones anteriores, se determinó que la dilución a usar para este tipo de ensayos fue 4 ml de extracto vegetal con 10 ml de agua por cada kilo de semilla. Para el diagnóstico de patógenos, a los ocho días post-aplicación, se realizaron observaciones por triplicado sobre la semilla tratada; para las pruebas de germinación se utilizaron servilletas con cinco repeticiones, las observaciones del comportamiento de las semillas se realizaron a los cinco y ocho días después de ser sembradas. Se utilizó un diseño de bloques completamente al azar: cinco tratamientos, dos bloques: semillas tratadas únicamente con extracto vegetal (EV) y semillas tratadas con fungicidas químicos (FQ) más EV, se aplicó ANOVA y pruebas de comparación múltiple de Duncan. El diagnóstico que se realizó determinando los hongos de almacenamiento presentes durante la germinación fueron: *Aspergillus spp.*, *Geotrichum spp.*, *Mucor spp.*, *Penicillium spp.*, y *Rizophus spp.* El extracto de *Verbena officinalis* presentó 94.33% de control sobre los hongos y el tratamiento con *Anadenanthera peregrina* presento un 91%, con estos dos extractos también se observó el mayor porcentaje de germinación a los cinco y ocho días.

**Palabras clave:** Semillas, hongos, metabolitos vegetales, soya.

### ABSTRACT

The treatment of soybean seeds (*Glycine max*) is aimed at controlling the agents that cause diseases that interfere in the productivity of the cultivated plants, since the percentage of damage caused by pests that can impede the initial good development of plants is significantly reduced, currently the control is carried out with chemical products, but these components affect the health, therefore less harmful alternatives for the effect are being considered. Therefore, the main objective was to determine whether plant extracts (PE) that contain secondary metabolites, could be converted into substances for the control of the fungi of the soybeans in storage, for which microorganisms were identified during the application of the treatments. The evaluated plant extracts were: T1: verbena (*Verbena officinalis*), T2: yopo (*Anadenanthera peregrina*), T3: chamber (*Lantana camara*) and T4: calendula (*Calendula officinalis*), compared with a control without

treatment T5. The extracts were obtained in the laboratory, the fresh solid material of the plant was liquefied and 30% of its weight was added to water, making a 100% adjustment, the extracts were filtered and stored in a dark bottle stored in a conventional refrigerator. From previous observations, it was determined that the dilution to be used for this type of tests was 4 ml of plant extract with 10 ml of water per kilo of seed. For the diagnosis of pathogens, at eight days post-application, observations were made in triplicate on the treated seed; for germination tests napkins with five repetitions were used, the observations of the behavior of the seeds were made five and eight days after being sown. A completely randomized block design was used: five treatments, two blocks: seeds treated only with plant extract (PE) and seeds treated with chemical fungicides (CF) more PE, ANOVA and Duncan's multiple comparison tests were applied. The diagnosis that was made determining the storage fungi present during germination were: *Aspergillus spp.*, *Geotrichum spp.*, *Mucor spp.*, *Penicillium spp.*, and *Rizophus spp.* The extract of *Verbena officinalis* presented 94.33% of control over the fungi and the treatment with *Anadenanthera peregrina* presented 91%, with these two extracts the highest germination percentage was also observed at five and eight days.

**Keywords:** Seeds, fungi, vegetable metabolites, soybeans.

## RESUMO

O tratamento das sementes de soja (*Glycine max*) visa controlar os agentes causadores de doenças que interferem na produtividade das plantas cultivadas, sendo que a porcentagem de danos causados por pragas que podem impedir o bom desenvolvimento inicial das plantas é significativamente reduzida, atualmente o controle é realizado com produtos químicos, mas esses componentes afetam a saúde, portanto alternativas menos nocivas para o efeito estão sendo consideradas. Portanto, o principal objetivo foi determinar se os extratos vegetais (EV) que contêm metabólitos secundários, poderiam ser convertidos em substâncias para o controle dos fungos da soja em armazenamento, para isso, foram identificados microrganismos presentes durante a aplicação dos tratamentos. Os extratos vegetais avaliados foram: T1: verbena (*Verbena*

*officinalis*), T2: yopo (*Anadenanthera peregrina*), T3: câmara (*Lantana camara*) e T4: calêndula (*Calendula officinalis*), comparados com um controle sem tratamento T5. Os extratos foram obtidos em laboratório, o material sólido fresco da planta foi liquefeito e 30% de seu peso foi adicionado à água, fazendo um ajuste de 100%, os extratos foram filtrados e armazenados em um frasco escuro preservados em um refrigerador convencional. A partir de observações anteriores, determinou-se que a diluição a ser utilizada para este tipo de testes foi de 4 ml de extrato vegetal com 10 ml de água por quilo de semente. Para o diagnóstico de patógenos, aos oito dias pós-aplicação, foram realizadas observações em triplicado sobre a semente tratada; para testes de germinação utilizaram-se guardanapos com cinco repetições, as observações do comportamento das sementes foram feitas cinco e oito dias após serem semeadas. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso, com cinco tratamentos, dois blocos: sementes tratadas somente com extrato vegetal (EV) e sementes tratadas com fungicidas químicos (FQ) mais EV, ANOVA e testes de comparação múltipla de Duncan foram aplicados. O diagnóstico que foi feito determinando os fungos de armazenamento presentes durante a germinação foram: *Aspergillus spp.*, *Geotrichum spp.*, *Mucor spp.*, *Penicillium spp.* e *Rizophus spp.* O extrato de *Verbena officinalis* apresentou 94.33% de controle sobre os fungos e o tratamento com *Anadenanthera peregrina* apresentou 91%, com esses dois extratos, a maior porcentagem de germinação também foi observada em cinco e oito dias.

**Palavras-chave:** Sementes, fungos, metabolitos vegetais, soja.

## INTRODUCCIÓN

La soya (*Glycine max*) es una planta anual que se cultiva durante la estación cálida, su semilla se recolecta cuando la vaina esta amarilla, cada una puede contener cuatro habas de pequeño tamaño y diferentes colores según la variedad: amarillas, siendo las más frecuentes la amarilla y también la más apreciada, ya que es la que normalmente se utiliza para obtener de ella el aceite (Maldonado *et al.*, 2007). La semilla de soya es como la mayoría de las leguminosas, no posee

endospermas, lo cual consiste en una cubierta seminal con un embrión muy grande; su peso oscila entre 10 a 20 gramos (Toledo y Moya, 2008).

Se considera que la germinación inicia cuando el embrión comienza a crecer hasta que se ha formado una pequeña planta que puede vivir por sí misma, pero durante el almacenamiento de las semillas de soya, se pueden contaminar con hongos como *Aspergillus* y *Penicillium* causantes de pérdidas económicas debido a que reducen el porcentaje de germinación. Se han utilizado fungicidas que se mezclan con otros productos químicos como los insecticidas para el tratamiento de semillas, lo que ha permitido reducir la proliferación de los hongos y a la vez controlar el ataque de insectos; estos tratamientos favorecen el desarrollo de la semilla, sin embargo, en el marco de las buenas prácticas agrícolas, y en la producción de alimentos inocuos, se debe garantizar la no existencia de estas sustancias que afectan la salud humana (Formento *et al.*, 2005).

El tratamiento de las semillas está orientado, de manera casi exclusiva, a controlar a los agentes que ocasionan las enfermedades que interfieren en la productividad de las plantas cultivadas, además de disminuir notablemente el porcentaje de daños causados por plagas que puedan impedir el buen desarrollo inicial de las plantas, lo que a su vez afectaría directamente al estado de la densidad de plantas ideal en el cultivo (Bays *et al.*, 2007; Gonçalves *et al.*, 2011). La actividad cumple varias funciones: erradicación de diferentes patógenos, protección en la siembra contra hongos en pre y post emergencia, porque cuando la plántula emerge, controla por tiempo limitado hongos que causan enfermedades foliares; además, el tratamiento garantiza un buen establecimiento del cultivo y disminución de las pérdidas, puesto que se evita la diseminación de plagas y enfermedades. La calidad "integral" de la semilla de soya, está determinada por los índices que expresan a la misma como: poder germinativo, peso de 1000 semillas, vigor, sanidad y pureza genética. Por otra parte la principal causa del deterioro durante su desarrollo o formación son daños físicos ambientales por chinches y mal almacenamiento (Stewart y Rodríguez, 2013).

Por los motivos anteriormente descritos se buscan alternativas para el tratamiento de la semilla de soya, como los extractos vegetales, que son sustancias obtenidas a partir de hojas, tallos, flores o semillas, según sea la parte que contiene el ingrediente activo que actúa contra las plagas. Para obtenerla, en algunos casos se macera (muele o machaca) la parte seleccionada, pero lo más común es la cocción o la infusión, al que se le agrega generalmente alcohol como agente extractor y perseverante (IPES y FAO, 2010; Hammami *et al.*, 2011).

Los extractos vegetales han sido usados para investigaciones de control de hongos en banano (*Musa paradisiaca*) y fresa (*Fragaria spp*) almacenados, y en la germinación de semillas de chile (*Capsicum annuum L.*) bajo condiciones salinas, donde los mejores resultados se observaron en los ensayos con extractos vegetales de *Verbena officinalis*, *Anadenanthera peregrina*, *Lantana cámara* y *Calendula officinalis* (Fang *et al.*, 2011).

La verbena (*Verbena officinalis*) es una planta herbácea perenne, crece hasta los 100 cm o más de altura, su tallo es erecto, obtuso, cuadrangular y muy ramificado, y está marcado por dos surcos longitudinales; las hojas son opuestas, pecioladas, rudas, pinnadas, lanceoladas y con lóbulos profundos de color azul púrpura, sésiles, y se agrupan en espigas paniculosas axilares y terminales, la corola tiene forma de embudo y el fruto es una cápsula con cuatro semillas (Giraldo *et al.*, 2009).

Como hierba medicinal se utiliza su flor, siendo el principio activo de la verbena un heterósido que estimula el sistema nervioso parasimpático, además contiene mucílagos, glucósidos, aceites esenciales (terpenos), saponina, ácido silícico, taninos entre otros compuestos. Por su actividad sedante se utiliza para combatir el insomnio provocado por estados de nerviosismo que no permiten conciliar el sueño y su extracto acuoso ha mostrado efectos neuroprotectores frente a la enfermedad de Alzheimer; los taninos controlan diarreas y actúan como hemostáticos locales favoreciendo la coagulación de las heridas, y los mucílagos disminuyen las inflamaciones además de unir una capacidad demulcente que relaja, suaviza y protege la piel y las mucosas (Guzmán *et al.*, 2004).

Se ha demostrado que los metabolitos secundarios de la *Verbena officinalis* poseen actividad tóxica contra los insectos, interfiriendo en el desarrollo o en el comportamiento de los mismos, y contribuyen a la regulación de poblaciones de plagas, puesto que se ha comprobado que puede controlar hasta un 50% el *Sitophilus granarius* en maíz almacenado (Arango y Vásquez, 2008).

El yopo (*Anadenanthera peregrina*) tiene la corteza delgada, corchosa, rugosa y de color café o gris, sus hojas miden de 12 a 30 cm de largo, son bipinnadas y tienen 10 a 40 folíolos; el fruto es una vaina con forma de cinta de 1 a 5 cm de largo, las semillas son aplanadas de color café amarillento y tienen un diámetro de 1 a 3 mm. Las semillas de esta especie contienen alcaloides y otros principios narcóticos que son la base de un polvo inhalable N,N-dimetiltriptamina (Calle *et al.*, 2010). Además de ser muy apreciado por su leña y carbón vegetal, el yopo es útil en cercas vivas, barreras rompevientos, como árbol disperso en potreros, árbol cultivado en líneas en sistemas silvopastoriles y agroforestales, y algunos indígenas elaboraban rapé con las semillas del yopo (Acero, 2007).

*Lantana cámara* es un arbusto perennifolio de 2-3 m de altura, con tallos largos, espinosos, hirsutos, hojas opuestas, pubescentes, ovadas. En las islas de Cabo Verde se produce muy fácilmente (Duarte *et al.*, 2007). La familia *verbenaceae*, a cual pertenece este arbusto, tiene propiedades antimaláricas, y los extractos de sus raíces y flores se ha utilizado como repelentes e insecticidas en contra mosquitos del género *Aedes* (*Diptera: Culicidae*); los metabolitos secundarios tienen interacciones ecológicas por lo que se determinó que dichos componentes cumplen funciones de defensa contra predadores y patógenos, y además actúan como agentes alelopáticos o atrayentes de polinizadores y dispersores de semillas (Dua *et al.*, 1996; Ghisalberti, 2000).

La caléndula (*Calendula officinalis*) es una planta herbácea de unos 30 a 50 cm de altura originaria del sur de Europa y de Oriente próximo (Zitterl *et al.*, 1997). La parte utilizada son los capítulos florales, y en menor medida, las hojas. La planta contiene calendulina, sustancia insípida de color amarillento y consistencia mucilaginoso, y también se han encontrado otros metabolitos como: flavonoides,

carotenoides, terpénos, colessterínicos, minerales, azúcares, vitaminas, ácido salicílico y taninos (Yoshikawa *et al.*, 2001). También se destaca en las flores de calendula un aceite esencial, del cual se plantea un rendimiento de 0.2%. En relación con su composición se determinó la presencia de pedunculatina, oxido-transcariofileno, carvona, cariofileno, 2 cardinoles, geranil acetona,  $\beta$ -ionona-5,6-epóxido, dihidroactinidiolido, oplopanona,  $\gamma$ -mouroleno,  $\alpha$ -cardineno, guaiol y torryol (Hamburger *et al.*, 2003).

## METODOLOGÍA

La investigación se llevó a cabo en el laboratorio de microbiología vegetal en la Universidad de los Llanos, la zona presenta las siguientes características: humedad relativa 75%, precipitación anual 3250 mm, 465 msnm y temperatura promedio de 27 °C (IDEAM, 2016).

Los extractos de plantas evaluados fueron: T1: verbena (*Verbena officinalis*), T2: yopo (*Anadenanthera peregrina*), T3: cámara (*Lantana cámara*) y T4: caléndula (*Calendula officinalis*), comparados con un testigo sin tratamiento T5. Para la elaboración de los extractos vegetales, en todos los tratamientos se utilizó material sólido fresco de la planta (70%) con agua (30%), y para el tratamiento de un kg de semilla (con peso promedio de 47 g), se utilizaron 10 ml de agua mezclados con 4 ml de extracto vegetal (Tabla 1). El procedimiento de extracción vegetal se realizó en el laboratorio, para lo cual se licuó el material sólido fresco de la planta en una solución acuosa al 30% en la relación peso-volumen (Tabla 1); posteriormente los extractos se filtraron y se almacenaron en frascos ámbar conservados en una nevera convencional. En cada tratamiento se usaron de 100 semillas, con un peso promedio de 47 g; por observaciones anteriores a este experimento, se determinó que la dilución a usar para este tipo de ensayos es 4 ml de extracto vegetal con 10 ml de agua por cada kg de semilla. Posteriormente se realizó la identificación de los patógenos presentes en las semillas de soya.

**Tabla 1.** Extractos de plantas utilizadas y dosis de los tratamientos

Tratamiento	Elaboración extracto		Dilución extracto por Kg de semilla	
	Material Fresco (%)	Agua (%)	Extracto (ml)	Agua (ml)
T1: <i>Verbena officinalis</i>	70	30	4	10
T2: <i>Anadenanthera peregrina</i>	70	30	4	10
T3: <i>Lantana cámara</i>	70	30	4	10
T4: <i>Calendula officinalis</i>	70	30	4	10
T5: Testigo	0	100	0	0

Se hicieron comparaciones de las semillas tratadas únicamente con extracto vegetal (EV) con semillas tratadas con fungicidas químicos (FQ) más EV

La evaluación de los tratamientos se realizó mediante cultivo por triplicado del material tratado en cajas de Petri para posterior diagnóstico de patógenos, los cultivos para las observaciones se hicieron a los ocho días de aplicados los tratamientos; para las pruebas de germinación se utilizaron servilletas con cinco repeticiones, las observaciones del comportamiento de las semillas se realizaron a los cinco y ocho días después de ser sembradas (Figura 1). Para la identificación de patógenos con las incubaciones en cajas de Petri por triplicado, se utilizaron 20 semillas por repetición.



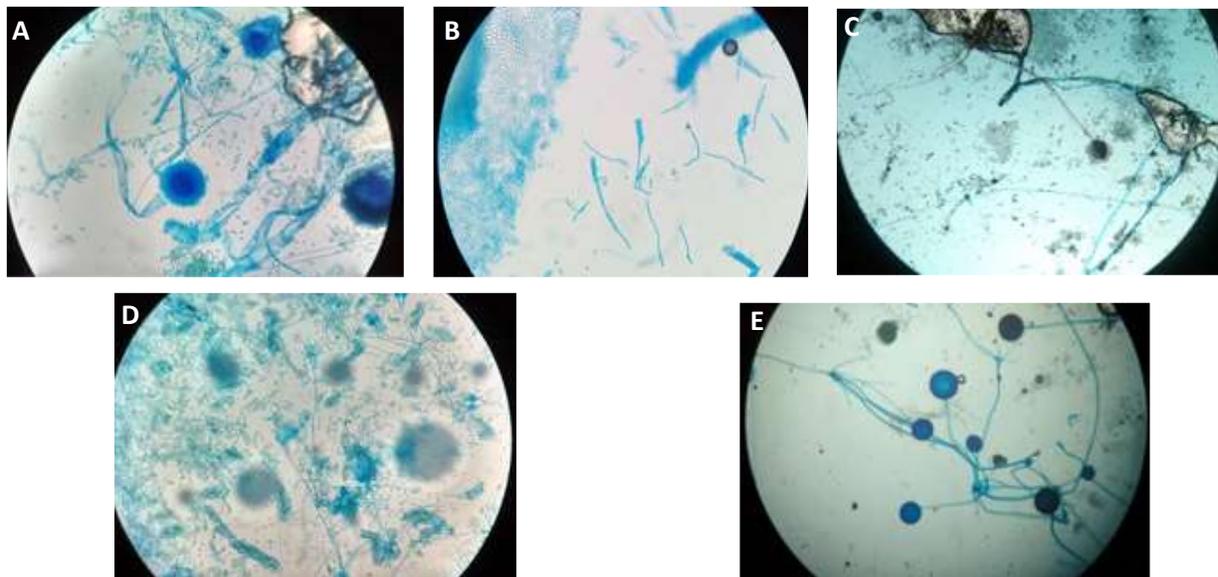
**Figura 1.** Evaluación de la germinación en servilletas: cinco días (izquierda) y ocho días (derecha)

Las variables medidas fueron: incidencia de patógenos y germinación de la semilla de soja, para lo cual se utilizó un diseño de bloques completamente al azar: cinco

tratamientos, dos bloques: semillas tratadas únicamente con extracto vegetal (EV) y semillas tratadas con fungicidas químicos (FQ) más EV, cinco repeticiones, se colocaron 100 semillas por repetición. Se aplicó análisis de varianza y prueba de comparación múltiple de Duncan con un nivel de significancia del 5%.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los hongos encontrados en la germinación de las semillas fueron *Aspergillus spp*, *Geotrichum spp*, *Mucor spp*, *Penicillium spp* y *Rhizopus spp*; la identificación se realizó utilizando un microscopio de luz, con un aumento de 40X (Figura 2).



**Figura 2.** Hongos identificados en las semillas de soja: *Aspergillus spp* (A), *Geotrichum spp* (B), *Mucor spp* (C), *Penicillium spp* (D) y *Rhizopus spp* (E).

*Aspergillus* tiene diferentes especies dentro del género: *A. niger*, *A. flavus*, *A. ochraceus*, *A. clavatus*, *A. terreus*, *A. parasiticus*, *A. versicolor*, *A. oryzae*, *A. nidulans*, *A. niveus*. Es un hongo filamentosos hialino, saprofito, se encuentra formado por hifas hialinas septadas y puede tener reproducción sexual con formación de ascosporas en el interior de ascas, y asexual con formación de conidios (Pontón *et al.*, 2002).

Las aflatoxinas producidas por *Aspergillus* son inmunosupresores, carcinogénicos, teratogénicos y en ocasiones producen desórdenes hormonales, lo cual depende de la dosis y tiempo de exposición, entre otros factores (Carvajal, 2013). Las aflatoxinas son acumulativas, una vez contaminan el grano o el producto agrícola en campo persisten hasta el consumidor porque resisten a la cocción y/o congelamiento; son ingeridas por los seres humanos no sólo a través de granos, semillas o frutos, sino que también se presentan en la leche o la carne de animales criados con alimentos contaminados (Requena *et al.*, 2005).

*Geotrichum spp* es un microorganismo oportunista que puede causar infecciones en condiciones climáticas tropicales, es decir temperatura de 30°C y 90% de humedad relativa, se reproduce sobre las semillas destruyéndolas y esto ocurre porque el hongo se alimenta del carbono y el nitrógeno lo cual le permite reproducirse fácilmente. El tratamiento tradicional de control es a base de fungicidas sintéticos, sin embargo, se ha documentado ampliamente sobre la aparición de cepas resistentes a varios ingredientes activos (Liu *et al.*, 2009) por lo que la búsqueda de alternativas ha llevado a experimentar con el uso de otros agentes de control biológico como los aceites orgánicos (Cerioni *et al.*, 2009; Abraham *et al.*, 2010). Por otra parte, la demanda del consumidor por adquirir alimentos libres de residuos tóxicos ha llevado a la restricción en el uso de una gran diversidad de agroquímicos. Además, en materia de fitosanidad e inocuidad alimentaria se han establecido lineamientos generales para la búsqueda de alternativas de control que incluyan ser inocuas y ecológicamente sustentables.

*Mucor spp* es un género de hongos de la familia *Mucoraceae*, que forman delicados filamentos tubulares blancos y esporangios negros esféricos, su crecimiento es rápido, y se encuentra ubicuo en la naturaleza, por lo que es muy común que contamine las semillas o cualquier otro medio de cultivo, y puede llegar a producir infecciones en seres humanos inmunocomprometidos o inmunosuprimidos (Rojas y Hormaza, 2014). Las cepas de *Mucor spp* son termotolerantes, ocasionan decoloraciones a las semillas y las que están infectadas pueden actuar como medio de supervivencia, como fuente de inóculo

capaz de infectar al nuevo cultivo cuando es sembrado e incluso, introducir patógenos en áreas donde no existían. La falta de síntomas no significa que se encuentren libres de patógenos y más de uno puede infectar la misma semilla mostrando variedad de ellos (Ulacio *et al.*, 2002).

*Penicillium spp* pertenece a la familia *Trichomaceae*, los miembros del género son hongos filamentosos y están ampliamente distribuidos en la naturaleza y se hallan en suelo, vegetación, aire y suelo. Son considerados contaminantes habituales en el laboratorio, pero pueden causar infecciones, en hospederos inmunocomprometidos como pacientes con VIH, y su aislamiento de la sangre es considerado como un marcador de SIDA en las áreas endémicas. Además de su potencial patogenicidad, esta especie produce micotoxinas en alimentos y granos almacenados (Brochard y Le Bacle, 2009).

*Penicillium spp*, son hongos cosmopolita asociados a materia orgánica en contacto con el suelo, se han encontrado en manzanas, peras y uvas almacenadas a 0°C (Barkai, 2001), dificultando la conservación y comercialización en los mercados de exportación de estas frutas (Latorre *et al.*, 2002; Franck *et al.*, 2005). En los últimos años este hongo años ha causado importantes pérdidas fundamentalmente de la uva de mesa “Red Globe” conservada por largo tiempo en frío, este patógeno invade internamente la pulpa, desintegrando los tejidos, en forma muy similar al síndrome descrito como maceración interna (internal breakdown), lo cual fue observado en Sudáfrica (Witbooi y Fourie, 2002).

*Rhizopus spp.* es un hongo filamentosos cosmopolita de suelo, frutas y verduras en descomposición, excrementos de animales, por lo cual son especies contaminantes comunes y causales de infecciones oportunistas en los humanos y plantas. Las especies más frecuentes son *Rhizopus oryzae*, *R. rizopodimorfis*, *R. stolonifer*, *R. microsporas* y *R. nigricans*. Establecen colonias de rápido crecimiento, las especies patógenas tienden a crecer mejor a 37°C (Larone, 2011). Son de tamaño ilimitado de color blanco, alcanzan la madurez al cuarto día de cultivo y comienzan a adquirir una tonalidad gris oscura, la cual es debida al

desarrollo de las estructuras de reproducción asexual, las endosporas (Bonifaz, 2012).

Para el control de este hongo se ha utilizado un polímero derivado de la quitina, que tiene sustancias que inmovilizan enzimas y efectos floculantes, siendo empleado como modificador de suelos, fungicida, inductor de resistencia y en el recubrimiento de frutos para prevenirlos de enfermedades postcosecha (Bautista *et al.*, 2006). Estas enfermedades han sido controladas durante muchos años mediante el uso de fungicidas químicos, los cuales debido a su intensa utilización han generado problemas de contaminación en el medio ambiente, complicaciones en la salud de los seres humanos y resistencia en los microorganismos patógenos (Tripathi y Dubey, 2004).

La incidencia de hongos fue menor ( $P < 0.05$ ) cuando las semillas de soya fueron tratadas con verbena y yopo, siendo la más alta la del testigo, con lo cual se deduce que las semillas requieren tratamiento para evitar el ataque de estos hongos; en los últimos años, el control biológico de estas enfermedades ha contemplado el uso de microorganismos antagónicos, destacando diversos tipos de levaduras, las cuales tienen la capacidad de colonizar y sobrevivir en la superficie de las semillas por largos periodos de tiempo (Lahlali *et al.*, 2011), al comparar los resultados de este trabajo se observa que los extractos vegetales son una posibilidad, principalmente los de verbena y yopo, con sus principios activos como los heterósidos que tienen efecto deletéreo sobre los hongos y por tanto son una opción natural para el control de estas enfermedades, puesto que su comportamiento en incidencia fue similar a los fungicidas químicos comerciales utilizados (Tabla 2).

En la evaluación del porcentaje de germinación de las semillas tratadas con los extractos de verbena y yopo, se observó que fueron superiores ( $P < 0.05$ ) a 52% y 58% a los cinco y ocho días respectivamente, inclusive en este caso las semillas que recibieron FQ solamente alcanzaron hasta el 42% de germinación (Tabla 3); se puede intuir que los EV, no solamente sirven para el control de hongos, sino que también actúan como promotores de germinación, debido su contenido de

metabolitos secundarios, lo cual sería una temática interesante para futuras investigaciones. Es de anotar que los hongos ocasionan pudriciones en las semillas y dejan heridas en las cuales otros agentes patógenos pueden actuar generando enfermedades en el futuro cultivo o para el consumo humano, es de anotar que las aflatoxinas son ingeridas por los seres humanos a través de granos, semillas o frutos (Requena *et al.*, 2005).

**Tabla 2.** Efecto de la aplicación de extractos vegetales sobre incidencia de hongos (%) en semilla de Soya

Tratamiento	Extracto	Incidencia tratamiento EV*	Incidencia tratamiento EV y FQ**
1	<i>Verbena officinalis</i>	5.67 <sup>aA</sup>	1.67 <sup>aB</sup>
2	<i>Anadenanthera peregrina</i>	9.00 <sup>aA</sup>	6.00 <sup>aA</sup>
3	<i>Lantana cámara</i>	21.33 <sup>bA</sup>	23.03 <sup>bA</sup>
4	<i>Calendula officinalis</i>	31.33 <sup>cA</sup>	31.67 <sup>cA</sup>
5	Testigo	100.00 <sup>dA</sup>	99.67 <sup>dA</sup>

\*Semillas tratadas únicamente con extracto vegetal (EV).

\*\*Semillas tratadas con fungicidas químicos (FQ) más EV.

Letras minúsculas diferentes en la misma columna indican una diferencia significativa ( $P < 0.05$ ).

Letras mayúsculas diferentes en la misma fila indican una diferencia significativa ( $P < 0.05$ ).

En las plantas algunos de estos hongos producen pudriciones de raíces, incluso otros cultivos se pueden contaminar, pero poco se conoce acerca de estas interrelaciones. Otros factores que se asocian al aumento de patógenos son las cosechas tardías, además los daños por insectos como chinches, incrementan las posibilidades de ataque por hongos aumentado también el número de especies dañinas, como las encontradas en este experimento.

**Tabla 3.** Efecto de la aplicación de extractos vegetales sobre la germinación de la semilla de Soya (%)

Tratamiento	Semillas tratadas EV*		Semilla tratado con EV y PQ**	
	Germinación a los 5 días	Germinación a los 8 días	Germinación a los 5 días	Germinación los 8 días
<i>Verbena officinalis</i>	54.00 <sup>cB</sup>	60.20 <sup>dC</sup>	36.00 <sup>bcA</sup>	42.00 <sup>cA</sup>
<i>Anadenanthera peregrina</i>	52.80 <sup>cB</sup>	58.40 <sup>cB</sup>	35.00 <sup>bcA</sup>	38.00 <sup>bcA</sup>
<i>Lantana cámara</i>	14.80 <sup>aA</sup>	16.80 <sup>aAB</sup>	16.00 <sup>aAB</sup>	19.00 <sup>aB</sup>
<i>Calendula officinalis</i>	44.40 <sup>bB</sup>	46.20 <sup>bB</sup>	31.00 <sup>bA</sup>	35.00 <sup>bA</sup>
Testigo	50.00 <sup>cB</sup>	53.20 <sup>cB</sup>	38.00 <sup>cA</sup>	42.00 <sup>cA</sup>

\*Semillas tratadas únicamente con extracto vegetal (EV).

\*\* Semillas tratadas con fungicidas químicos (FQ) más EV

Letras minúsculas diferentes en la misma columna indican una significancia (P<0.05).

Letras mayúsculas diferentes en la misma fila indican una significancia (P<0.05).

## CONCLUSIONES

El diagnóstico que se realizó para determinar los hongos contaminantes en el almacenamiento presentes durante la germinación de semillas de soya en todos los tratamientos fueron: *Aspergillus spp.*, *Geotrichum spp.*, *Mucor spp.*, *Penicillium spp.*, y *Rizophus spp.*

El experimento demostró que los extractos de plantas pueden ser usados como sustancias de uso alternativo en tratamiento de semillas de soya (*Glycine max*), para controlar hongos de almacenamiento que pueden afectar la futura germinación.

El extracto de *Verbena officinalis* presentó un 94.33% de control sobre los hongos y el tratamiento con *Anadenanthera peregrina* presentó un 91%. Con estos dos extractos también se observó el mayor porcentaje de germinación a los cinco y ocho días.

## RECOMENDACIONES

Se recomienda profundizar en el estudio de los extractos vegetales en lo relacionado a sus metabolitos secundarios, que pueden ser utilizados para controlar plagas y enfermedades, puesto que conociendo la estabilidad y concentración de los principios activos de cada una de las especies, se puede llegar a sustituir o remplazar el método de control químico que presenta efectos nocivos sobre la salud pública, como por ejemplo la generación de resistencia de las especies fitófagas; adicionalmente los agroquímicos se vuelven ineficientes, causando daños a la salud de las personas que los manipulan y presentando efectos irreversibles al ecosistema.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abraham A.O., Laing M.D., Bower J.P. Isolation and in vivo screening of yeast and *Bacillus* antagonists for the control of *Penicillium digitatum* of citrus fruit. *Biological control*. 53 (1): 32-38. 2010.
2. Acero L. Plantas útiles de la cuenca del Orinoco. BP Exploration Company, Bogotá, Colombia. 605 p. 2007.
3. Barkai R. Postharvest diseases of fruits and vegetables: development and control. Elsevier Science BV, Amsterdam, Holanda. 418 p. 2001.
4. Bautista S., Hernández A.N., Velázquez M.G., Hernández M., Barka E.A., Bosquez E., Wilson C. Chitosan as a potential natural compound to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities. *Crop protection*. 25 (2): 108-118. 2006.
5. Bays R., Baudet L., Henning A.A., Lucca O. Recobrimento de sementes de soja com micronutrientes, fungicida e polímero. *Revista Brasileira de Sementes*, 29 (2): 60-67. 2007.
6. Bonifaz J.A. *Micología Médica Básica*. Cap 5: Hongos Contaminantes. McGraw-Hill, México. 63 p. 2012.
7. Brochard G., Le Bacle C. Mycotoxines en milieu de travail. I. Origine et Propriétés Toxiques des Principales Mycotoxines. INRS, Documents pour le *Medicin Du Travail*. N. 119, p 299-302. 2009.
8. Calle Z., Galindo A., Murgueitio E. El yopo: Árbol llanero vital para los sistemas silvopastoriles de la cuenca del Orinoco. *Carta FEDEGAN* N. 19, p 80-87. 2010.
9. Carvajal M. Transformación de la aflatoxina B1 de alimentos, en el cancerígeno humano, aducto AFB1-ADN. *Tip Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*. 16 (2): 109-120. 2013.
10. Cerioni L., Rapisarda V.A., Hilal M., Prado F.E., Rodríguez L. Synergistic antifungal activity of sodium hypochlorite, hydrogen peroxide, and cupric

- sulfate against *Penicillium digitatum*. Journal of food protection. 72 (8): 1660-1665. 2009.
11. Dua V., Gupta N., Pandey A., Sharma V. Repellency of *Lantana camara* (Verbenaceae) flowers against *Aedes* mosquitoes. Journal of the American Mosquito Control Association. 12 (3 Pt 1): 406-408. 1996.
  12. Duarte C., Fernandes C., Romeiras M. Alien flora of Cape Verde Islands: taxonomical, biological and biogeographic traits. En: Abstracts of the Botany & Plant Biology 2007 joint Congress. 7-11 Jul, 2007. Chicago, Illinois. 2007.
  13. Fang X., Li Z., Wang Y., Zhang X. In vitro and in vivo antimicrobial activity of *Xenorhabdus bovienii* YL002 against *Phytophthora capsici* and *Botrytis cinerea*. Journal of applied microbiology. 111 (1): 145-154. 2011.
  14. Formento N., De Sousa J., Velázquez J.C., Vicentin I., Gieco I. Guía práctica de identificación Roya Asiática (*Phakopsora pachyrhizi*= *Malupa sojae*) enfermedades foliares de la soja. EEA INTA, Paraná, Argentina. 39 p. 2005.
  15. Franck J., Latorre B., Torres R., Zoffoli J. The effect of preharvest fungicide and postharvest sulfur dioxide use on postharvest decay of table grapes caused by *Penicillium expansum*. Postharvest biology and Technology. 37 (1): 20-30. 2005.
  16. Ghisalberti E. *Lantana camara* L.(verbenaceae). Fitoterapia. 71 (5): 467-486. 2000.
  17. Giraldo D., Baquero E., Bermúdez A., Oliveira-Miranda M.A. Caracterización del comercio de plantas medicinales en los mercados populares de Caracas, Venezuela. Acta Botánica Venezuelica. 32 (2): 267-301. 2009.
  18. Gonçalves S.A., Baudet L., Teichert S., Ludwig M.P., Anhaia G., Lopes R., de Oliveira S. Armazenamento de sementes de soja tratadas com fungicida, inseticida e micronutriente e recobertas com polímeros líquido e em pó. Ciência Rural. 41 (10): 1719-1725. 2011.
  19. Guzmán S.P., Tróchez A., Correa L., Zúñiga M. Efecto insecticida y residual de tres extractos de *Limpia alba* para el control de *Acanthoscelides obtectus* en frijol Diacol Calima. Revista Científica Guillermo de Ockam. 7 (1): 187-199. 2004.
  20. Hamburger M., Adler S., Baumann D., Förg A., Weinreich B. Preparative purification of the major anti-inflammatory triterpenoid esters from Marigold (*Calendula officinalis*). Fitoterapia. 74 (4): 328-338. 2003.
  21. Hammami I., Kamoun N., Rebai A. Biocontrol of *Botrytis cinerea* with essential oil and methanol extract of *Viola odorata* L. flowers. Archives of Applied Science Research. 3 (5): 44-51. 2011.
  22. IDEAM, Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales. Tiempo y clima. 2016. Recuperado 16 de Diciembre 2016. Disponible En: <http://www.ideam.gov.co/>
  23. IPES, FAO, Promoción del Desarrollo Sostenible y Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Biopreparados para el manejo sostenible de plagas y enfermedades en la agricultura urbana y periurbana. 93 p. 2010.
  24. Lahlali R., Hamadi Y., El guilli M., Jijakli M.H. Efficacy assessment of *Pichia guilliermondii* strain Z1, a new biocontrol agent, against citrus blue mould in

- Morocco under the influence of temperature and relative humidity. *Biological control*. 56 (3): 217-224. 2011.
25. Larone D.H. *Medically important fungi: A guide to identification*. ASM Press, Washington, DC, USA. 2011.
  26. Latorre B., Franck J., Zoffoli J., Viertel S. Pudrición ácida de la vid. *Revista Frutícola (Chile)*. 23 (2): 53-58. 2002.
  27. Liu X., Wang L., Li Y., Li H., Yu T., Zheng X. Antifungal activity of thyme oil against *Geotrichum citri-aurantii* in vitro and in vivo. *Journal of applied microbiology*. 107 (5): 1450-1456. 2009.
  28. Maldonado N., Ascencio G.L., Ávila J., Guía para cultivar soja en el sur de Tamaulipas. Folleto para Productores N. 2. CIRNE-INIFAP Altamira, México. 83 p. 2007.
  29. Pontón J., Moragues M.D., Gené J., Guarro J., Quindós G. Hongos y actinomicetos alergénicos. *Revista Iberoamericana de Micología*, Bilbao, España. 46 p. 2002.
  30. Requena F., Saume E., León A. Micotoxinas: Riesgos y prevención. *Zootecnia tropical*. 23 (4): 393-410. 2005.
  31. Rojas J., Hormaza A. Evaluación del crecimiento y compatibilidad de hongos de la podredumbre blanca. *Revista Ciencia en Desarrollo*. 5 (2): 197-205. 2014.
  32. Stewart S., Rodríguez M. Manual de identificación de enfermedades de la soja. INIA, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, Salto, Uruguay. 69 p. 2013.
  33. Toledo R., Moya G. Respuesta diferenciada de grupos de madurez de soja según fecha de siembra. *Información de actualización técnica*. N. 10. EEA Marcos Juárez, p 32-34. 2008.
  34. Tripathi P., Dubey N. Exploitation of natural products as an alternative strategy to control postharvest fungal rotting of fruit and vegetables. *Postharvest biology and Technology*. 32 (3): 235-245. 2004.
  35. Ulacio D., Salas J., Querales P., Sanabria M.E. Microbiota del suelo de zonas productoras de papa del estado Mérida y su relación con *Rhizoctonia solani*. *Bioagro*. 14 (1): 11-16. 2002.
  36. Witbooi W., Fourie J. Soft tissue breakdown in cold stored Red Globe table grapes. *SA Fruit Journal (South Africa)*. 2002.
  37. Yoshikawa M., Murakami T., Kishi A., Kageura T., Matsuda H. Medicinal flowers. III. Marigold (1): hypoglycemic, gastric emptying inhibitory, and gastroprotective principles and new oleanane-type triterpene oligoglycosides, calendasaponins A, B, C, and D, from Egyptian *Calendula officinalis*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 49 (7): 863-870. 2001.
  38. Zitterl K., Sosa S., Jurenitsch J., Schubert M., Della R., Tubaro A., Bertoldi M., Franz C. Anti-oedematous activities of the main triterpendiol esters of marigold (*Calendula officinalis* L.). *Journal of ethnopharmacology*. 57 (2): 139-144. 1997.