



**Centro de Estudios para la Transformación Agraria Sostenible
Universidad Carlos Rafael Rodríguez de Cienfuegos**

Titulo: Efectividad biológica " in vitro" de extractos naturales de fitoplaguicidas en el control del hongo *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid.

Autor: Raúl Aguila Abreu

Tutor: MSc. Marisela Almarales Antón

Cotutor: MSc. María Elena Lorenzo Nicao

Cienfuegos, 2012

RESUMEN

En la actualidad el uso de plaguicidas de origen natural ha adquirido gran importancia para el control biológico en la agricultura como una alternativa para reducir el consumo de productos químicos y por tanto, disminuir la contaminación del medio ambiente y el desequilibrio en los ecosistemas, por lo que el presente trabajo se realizó en el Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal de Cienfuegos en el periodo comprendido desde el 2010 al 2011, con el objetivo de evaluar en condiciones *in vitro* el efecto de diferentes extractos de hojas con las especies de Moringa (*Moringa oleífera* Lam), Noni (*Morinda citrifolia* L), Eucalipto (*Eucalyptus* sp), Higuera (*Ricinus communis* L), Paraíso (*Melia azedarach* L) y el Nim (*Azadirachta indica* A. Juss) sobre la inhibición del crecimiento del hongo *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid causante de la pudrición carbonosa de la raíz. Se realizaron pruebas con medio de cultivo agar-dextrosa-sabouraud, evaluándose el crecimiento radial de las colonias a los tres, siete y diez días. Se utilizaron las diluciones del 80, 50 y 25 % . Estos extractos presentaron una actividad inhibitoria del crecimiento del hongo, donde la concentración del 80% resultó la de mejor comportamiento en cada uno de los momentos evaluados, destacándose la especie Paraíso (*Melia azedarach* L) como la de mejor efectividad.

Palabras claves: Extractos de hojas, *Macrophomina phaseolina*, *in vitro*, fungicidas naturales

INDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVO GENERAL:	4
OBJETIVO ESPECÍFICO.....	4
2. REVISION BIBLIOGRAFICA	5
2.1. Situación actual de los pesticidas en el mundo.	6
2.2. Control de plagas y enfermedades.....	7
2.3 Manejo integrado de plagas.....	9
2.3.1. Plantas repelentes y/o fitoplaguicidas en la Agricultura	10
2.3.2. Control de organismos nocivos a los cultivos con biopreparados a partir de extractos vegetales.....	11
2.3.3. Plantas repelentes y/o fitoplaguicidas con principios insecticidas.	12
2.3.4. Plantas repelentes y/o fitoplaguicidas con principios fungicidas.	13
2.3.5. Plaguicidas naturales a partir del Nim (<i>Azadirachta indica</i> A. Juss) y Paraíso (<i>Melia azedarach</i> , L.).....	14
2.3.6. Métodos de preparación de los extractos naturales.	16
2.4. Generalidades de <i>Macrophomina phaseolina</i> (Tassi) Goid.....	16
2.4.1 Clasificación taxonómica	166
2.4.2 Características Biológicas:	17
2.4.3. Síntomas y signos:	17
2.4.4. Daños específicos según cultivo.....	17
2.4.5. Condiciones predisponentes	18
2.4.6. Distribución de la enfermedad.....	19
2.4.7. Control de <i>Macrophomina phaseolina</i> (Tassi) Goid.....	20
3. MATERIALES Y METODOS	23
3.1. Preparación de las soluciones de los fitoplaguicidas.....	23
3.2. Preparación de los medios de cultivo	24
3.3. Inhibición del crecimiento de la colonia	24
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	25
5. CONCLUSIONES	322
6. RECOMENDACIONES	333
7. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	345

1. INTRODUCCIÓN

Desde tiempos remotos, los seres humanos se han beneficiado de las propiedades medicinales de algunas especies de plantas; pero ciertas representantes del reino vegetal no sólo tienen un resultado positivo sobre la salud de las personas, sino que también pueden “curar” otras plantas que padecen enfermedades provocadas por hongos, virus y bacterias (Pradas, 2006).

A principios del pasado siglo, los plaguicidas estaban constituidos fundamentalmente por sales metálicas y productos naturales extraídos de plantas como la quasia, la nicotina, la rotenona y las peritricinas; pero con el desarrollo industrial y la necesidad de un mercado agrícola competitivo después de la Segunda Guerra Mundial, se desarrollaron los compuestos orgánicos sintéticos, que si bien eran mucho más efectivos, de amplio espectro y fácil manejo, incrementaron los daños al medio ambiente y la salud del hombre (Alfonso et al., 2002).

En la actualidad, el uso de extractos vegetales cobra gran importancia para el control de plagas. En el mundo se reportan varios cientos de plantas con acción biocida, los productos a base de plantas con estas propiedades aplicados tanto preventivamente como para afrontar un ataque significativo de las plagas, respetan el principio de la no perturbación de los agroecosistemas mediante la aplicación de tecnologías convencionales de alto costo energético, además las sustancias activas de las plantas silvestres permiten una protección natural y son rentables si se utilizan de forma aceptada y lógica. (Puentes et al., 2004)

El uso de los extractos vegetales es una de las técnicas que pueden romper el círculo vicioso de los agroquímicos y de esa manera ayudar a recuperar la estabilidad de los agroecosistemas, quebrando la dependencia respecto a los insumos importados. (Yang y Chang, 1988)

Estos autores refieren que la lucha del agricultor contra las plagas insectiles y las enfermedades que destruyen sus cultivos, es antigua y quizá se continúe por mucho tiempo. Se estima que las pérdidas están alrededor de un tercio de los productos potencialmente cosechables a nivel mundial, a pesar de la tecnología disponible y de todos los esfuerzos hechos para combatir los problemas fitosanitarios.

Las sustancias naturales según Vázquez, (2006) son aquellas que se obtienen a partir de plantas con propiedades plaguicidas las cuales el agricultor puede mantenerlas en las cercas vivas de los huertos intensivos o las fincas agroecológicas con el fin de emplearlas en la preparación del fitoplaguicida de forma artesanal

Los productos naturales tienen múltiples efectos que van desde la inhibición o estimulación de los procesos de crecimiento de las plantas vecinas, hasta la inhibición de la germinación de las semillas, o evitan la acción de insectos masticadores, así como los efectos dañinos de bacterias, hongos y virus. Los productos naturales conforman una parte muy importante de los sistemas de defensa de las plantas con la ventaja de ser biodegradables. (Wikipedia, 2007)

Múltiples son los organismos nocivos que resultan de interés en este marco agrícola y entre ellos se encuentran las enfermedades asociadas a hongos que viven en el suelo entre ellas, se encuentra la pudrición carbonosa de la raíz producida por *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. la cual posee como hospedantes alrededor de 300 plantas en todo el mundo agrupadas en 75 familias. (Hernández, 2006)

Algunos autores como Pineda et al., (1985) plantean que dicha enfermedad producida por este patógeno posee diversos hospederos y forma esclerocios, cuyas características permiten que el hongo se mantenga largo tiempo en el suelo y dificulte la implementación de medidas eficaces de control, plantean además que actualmente se efectúan pruebas con algunos herbicidas y fungicidas que pueden tener efecto en la reducción del inóculo en el suelo.

González et al., (2011) refieren que la podredumbre seca del tallo, ocasionada por el hongo *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid, es una enfermedad de gran importancia, especialmente cuando se realizan siembra tardías, o sea es muy común cuando las mismas son realizadas fuera de las épocas recomendadas, y se presenta cuando existen altas temperaturas y baja humedad del suelo (Pineda, 2001). Produce el acame de las plantas, lo cual se traduce en pérdidas, ya que ataca los cultivos durante la floración y maduración del grano (Lodha et al, 1996, Ovody y Dunkle 1979).

En Cuba según lo referido por MINAGRI, (2007), se está llevando a cabo un trabajo profundo para realizar una agricultura sostenible mejorando el entorno y cuidando el medio ambiente, para lo cual se han utilizado tecnologías y prácticas que además de

mantener los rendimientos resultan inocuas al ambiente y le deja a las generaciones futuras la posibilidad de resolver su problema alimentario en un ambiente sano y productivo.

Entre las medidas del Ministerio de la Agricultura está el empleo del Nim y la Tabaquina para el control de plagas (MINAGRI, 2000) sobre todo en la Agricultura Urbana. Del Nim se formulan cuatro preparados con efectividad para diferentes plagas de 14 cultivos que se siembran o plantan en estas unidades CubaNim-SM, OleoNim 50 CE, OleoNim 80 CE y Cuba Nim -T (Estrada y López, 1998). La Tabaquina es un preparado acuoso obtenido localmente a partir de residuos de la elaboración de cigarros y tabaco (palo, vena y polvo) que se aplica para el control de ácaros y algunos insectos como las moscas blancas y los áfidos (Alfonso et al., 2001).

Es importante destacar que en la provincia de Cienfuegos se han realizado estudios “in vitro” sobre el efecto fungicida de algunos extractos naturales de fitoplaguicidas para el control de hongos como *Sclerotium rolfsii* Sacc. con las especies de *Azadirachta indica* A. Juss. (Nim), *Melia azedarach* L (paraíso) y *Eucalyptus* sp (eucalipto). Ortega et al., (2007)

Por las razones anteriormente señaladas, la búsqueda de alternativas viables y seguras respecto a los plaguicidas convencionales, ha contribuido a que se incremente el interés por la producción y empleo de los medios biológicos, obtenidos a partir de hongos entomopatógenos y antagonistas, bacterias, nemátodos entomopatógenos, entomófagos y extractos naturales de plantas presentes en la flora nacional (Estrada y López, 1996).

Para dar respuesta a lo planteado anteriormente se enunció el siguiente problema científico:

¿Cuál será la efectividad biológica de diferentes extractos naturales de fitoplaguicidas en el control del hongo patógeno *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid?

Teniendo en cuenta este cuestionamiento se estableció la siguiente hipótesis.

La utilización de extractos naturales de fitoplaguicidas para el control del hongo patógeno *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. permitirá lograr una mayor protección a los cultivos hospedantes de este organismo y sus semillas.

Para confirmar esta hipótesis se trazaron los siguientes objetivos:

OBJETIVO GENERAL:

Evaluar la efectividad de extractos naturales de fitoplaguicidas en el control del hongo *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid.

OBJETIVO ESPECÍFICO

Determinar el efecto "in vitro" de extractos naturales de fitoplaguicidas sobre la inhibición del hongo *M. phaseolina* a diferentes dosis de cada extracto a evaluar.

2. REVISION BIBLIOGRAFICA

Las posibilidades que brinda el sistema de lucha biológica, enmarcado dentro del manejo integrado de plagas, son cada día mayores, máxime en la agricultura contemporánea donde la conversión de un agricultura convencional de altos insumos en una agricultura sostenible de bajos insumos, se establece progresivamente en un número cada vez mayor de países (Estrada y López,1996a)

Estos mismos autores señalan que son variados los recursos fitogenéticos de los organismos biorreguladores, que constituyen controladores biológicos naturales de plagas y enfermedades de las plantas cultivadas, así como la flora nativa y exótica generadora de sustancias activas, son los aspectos que mayor atención han recibido en el contexto de la lucha biológica.

Durante el proceso de transformación de la agricultura convencional hacia sistemas de producción orgánicos sostenible se precisa pasar por una etapa de tránsito que se caracteriza por la sustitución de insumos, dentro de los cuales se puede hacer mención a los plaguicidas sintéticos cuyo proceso se produce en Cuba como base conceptual del manejo de plagas a mediados de la década de los 80 como resultado de los avances del control biológico (Altieri, 1996).

Algunos autores como Cremllyn, (1989), Altieri, (1996) y Pérez, (1996) refieren que no solo con los medios biológicos se puede lograr esta sustitución, únicamente con programas de manejo que incluyan una amplia gama de prácticas ecológicas será posible alcanzar la regulación de plagas y el balance entre estas, sus enemigos naturales y las plantas. Por eso, en los primeros años de la actual década, comienzan a desarrollarse otras alternativas para sustituir los plaguicidas sintéticos y en 1991 se inicia un programa nacional de investigaciones sobre plaguicidas de origen botánico.

Además plantean que muchas especies diferentes de plantas contienen materiales plaguicidas naturales, alguno de los cuales han sido utilizados por el hombre como plaguicidas desde tiempos muy remotos, aunque muchos de ellos no pueden ser extraídos provechosamente y por otra parte los plaguicidas botánicos se prefieren a

los productos químicos sintéticos porque son menos tóxicos y pierden su efecto relativamente rápido.

En la flora cubana están representadas numerosas especies endémicas y exóticas que producen sustancias que tienen efecto regulador sobre las poblaciones de diferentes organismos nocivos. Se ha observado que diferentes extracto de alrededor de 40 especies pertenecientes a más de 25 familias poseen actividad biológica sobre hongos, insectos, moluscos y roedores (Pérez, 1996).

2.1. Situación actual de los pesticidas en el mundo.

La degradación o destrucción de los recursos naturales se han convertido en uno de los fenómenos de nuestra civilización. Es necesario un gran esfuerzo, medir la gravedad de la contaminación, ver las consecuencias y provocar los cambios necesarios para no seguir alterando nuestra esfera de vida. La contaminación es un proceso de cambio indeseable que puede producirse tanto en el aire, en el suelo como en el agua. Afecta la vida del hombre y del resto de los seres vivos, poniendo en peligro el delicado equilibrio biológico. Entre los contaminantes ambientales se encuentran los pesticidas que son sustancias químicas que se usan para prevenir y destruir plagas agrícolas, principalmente. Aunque su uso brinde beneficios como el control de la infestación de insectos y el incremento de la producción agrícola, al ser diseñados para afectar organismos vivos, Estos pueden persistir en el ambiente mucho tiempo después de su aplicación y puede llegar a incrementarse su concentración (Papale, 2003).

En la actualidad se calcula que el 80% de las ventas globales de estos productos se consume en los países desarrollados; estudios presentados por las Naciones Unidas, revela que unos cinco millones de personas se envenenan al año por pesticidas en los países desarrollados (López, 2005), mientras que en los países subdesarrollados se consume el 20% restante. Lo curioso es que dentro de estos últimos se registra el 75% de muertes por contaminación de agroquímicos (Papale, 2003).

Los plaguicidas también pueden desarrollar resistencia en insectos, bacterias, malezas y hongos, lo que conlleva a la aplicación de dosis cada vez más altas, con un mayor riesgo de intoxicación y contaminación, por esto, es necesario experimentar una transformación de una agricultura convencional con altos insumos

a una de bajos insumos y menos contaminantes, donde los bioplaguicidas contribuyan a ese fin (Estrada y López, 1996b).

Por las razones anteriormente señaladas, la búsqueda de alternativas viables y seguras respecto a los plaguicidas convencionales, ha contribuido a que se incremente el interés por la producción y empleo de los medios biológicos, obtenidos a partir de hongos entomopatógenos y antagonistas, bacterias, nemátodos entomógenos, entomófagos y extractos naturales de plantas presentes en la flora nacional (Estrada y López, 1996b) .

Como parte de esta tradición en Cuba y, teniendo en cuenta el nivel de desarrollo alcanzado a nivel mundial durante los últimos treinta años en la producción y uso de bioinsecticidas de origen botánico, se intensifican en nuestro país para la obtención, validación y aplicación de este nuevo tipo de plaguicidas. Con estos fines, muchas son las especies de la flora nativa y exótica que genera sustancias activas, con las cuales se pueden elaborar diferentes bioinsecticidas, tales son los casos de Nim (*Azadirachta indica* A. Juss), Paraíso (*Melia azedarach* L.), Tabaco (*Nicotiana tabacum* L.), Crisantemo (*Chrysanthemum cinense* Sabine), Flor de muerto (*Tagetes erecta* L.), Guirito espinoso (*Solanum globiferum* L.), Piñón florido (*Gliricidia sepium* Jack), Barbescos (*Thephrosia cinerea* L. Pers), Añil cimarrón (*Indigofera suffruticosa* Mill) y el Anón (*Annona squamosa* L.) entre otras (Hernández y Estrada, 1994 citado por Estrada y López, 1996b).

Ejemplo de los plaguicidas de origen botánico tenemos el Biolap, primer herbicida exitoso creado por modelo de síntesis de productos naturales (Reinhardt et al. 1999).

2.2. Control de plagas y enfermedades

Para enfrentar la catástrofe ecológica que provocan los plaguicidas químicos con el control de plagas y enfermedades, cada vez un mayor número de países va hacia la conversión de la agricultura convencional de altos insumos a la agricultura sostenible, como un sistema de producción ambientalmente viable, económico con la utilización óptima de los recursos naturales (García, 2002).

Entre las estrategias de la agricultura sostenible está el enfrentamiento a las plagas y enfermedades, mediante técnicas y métodos apropiados al cultivo que no alteren al medio ambiente en el que se desarrollan. En tal sentido, con una aplicación correcta

del conjunto de principios de la agricultura ecológica, se logra una situación de equilibrio de las plagas con sus controladores, principio que sustenta las estrategias para el manejo integrado de plagas (MIP) (Cuellar et al., 2003).

Vázquez, (2003) destaca que en las producciones orgánicas no está permitido el uso de agrotóxicos mientras que en la producción sostenible estos se utilizan de forma racional, ya que se le da prioridad a los insumos que se generan en el sistema y se minimizan los externos, a pesar de que últimamente se observa cierta tendencia a considerar a la agricultura sostenible como aquella que no emplea insumos externos y por tanto el manejo que se realiza es agroecológico.

Los productos naturales también son la base para la síntesis de nuevos tipos de estructuras de insecticidas relativamente seguros para el hombre y su entorno. Además estos provienen de fuentes renovables (Torqui, 2007).

La lucha natural contra las plagas y enfermedades y la creciente necesidad de aumentar los cultivos y su calidad está adquiriendo cada vez más protagonismo en el campo de la investigación; por lo que se potencia la búsqueda de sustancias de origen natural que puedan llegar a sustituir ó disminuir a los pesticidas sintéticos, sin riesgos para la salud del hombre y el medio ambiente, enmarcado claramente dentro de los criterios de la sostenibilidad agraria. Con relación a los insectos se plantea por Yang y Chang (1988) que la interacción de estos con las plantas ha dado lugar a una enorme variedad de metabolitos secundarios con actividad insecticida y estas propiedades han sido utilizadas por el hombre desde tiempos remotos para el control de plagas.

En los últimos años, las empresas de productos para el control de plagas están prestando atención a productos de origen natural como fuente para el desarrollo de nuevos insecticidas (Addor, 1995), si bien la diversidad de estructuras químicas así como el modo de acción hacen este campo muy complejo.

Según Jermy, (1990) unas 2000 especies vegetales poseen propiedades insecticidas, habría que añadir otras muchas que aún no se han estudiado.

En cuanto al efecto fungicida se cuentan con resultados como los obtenidos por Puente et al.. (2003) con los hongos *Fusarium* spp y *Rhizoctonia* spp utilizando los extractos vegetales de *Polyscia guilfoyley* Bailey (aralia), *Parthenium hysterophorus*, L. (escoba amarga), *Helianthus annuus*, L., *Bursera graveolens* Triana & Planch

(sasafrás), *Muralla paniculata*, L. (muralla), *Trichila glabia*, L. (ciguaralla), *Crecentia cujete*, L.(güira) y *Melia azedarach*, L. (paraíso), entre otras, donde se determina la actividad antifungica de estas especies de plantas.

Ramírez (2004), menciona varias plantas tropicales que tienen propiedades pesticidas en el control de una gama variada de plagas como son *Melia azedarach* L. (paraíso) y *Azadirachta índica* A. Juss. (nim) entre otros.

2.3 Manejo integrado de plagas.

El Manejo Integrado de Plagas (MIP) constituye una etapa superior en la protección de plantas, donde se establece una estrategia para el manejo de plagas en el contexto socio económico de los sistemas agrícolas, el medio ambiente asociado y la dinámica de la población de las diversas especies, utiliza todos los métodos técnicos apropiados y compatibles para mantener la población de la plaga por debajo del nivel de daño económico (Altieri, 1997).

Castellanos et al., (1998) lo definen como un sistema en el que todos los procedimientos factibles económicos, tóxicos y ecológicos son usados con el máximo de armonía, para mantener los organismos nocivos por debajo del umbral económico de daños, donde la explotación consciente de los factores de regulación natural resulta de una importancia capital.

Una manera de expresar el concepto de Manejo de Plagas se basa en la estrategia que se traza dentro de un agroecosistema determinado en el que se tienen en cuenta factores ecológicos, características del cultivo, agentes nocivos que lo afectan, su dinámica de población y la de sus enemigos naturales; empleando todas las medidas de control de forma armónica que mantenga las poblaciones de la plaga en niveles por debajo del umbral de daño (González y Rivas, 2000).

El Manejo Integrado de Plagas debe incorporar diferentes tácticas para el control, sustentadas fundamentalmente en la utilización y manejo de los factores de control natural, y en última instancia la utilización de plaguicidas químicos, por lo que cada vez mas el MIP, en el marco de una agricultura sostenible, tiende hacia el desarrollo de un manejo ecológico de plagas (MEP) (Piñón, 2002).

Una de las definiciones más recientes sobre MIP, es “ Un sistema de manejo de plagas en el contexto del agroecosistema y la dinámica de población de las

especies, utiliza todas las técnicas y métodos apropiados de manera armónica para mantener las poblaciones de plagas a niveles bajos, causando daños o pérdidas económicamente aceptables. Debe ser un sistema que tenga aceptación social, que garantice estabilidad ecológica, seguridad ambiental y no afecte el desarrollo de los recursos humanos” (CETAS, 2005).

Vázquez (2007) plantea que para lograr éxitos en la actividad fitosanitaria hay que dejar atrás el viejo enfoque de controlar la plaga y proteger el cultivo; para finalmente lograr el manejo del sistema de producción o de la finca, que es lo más acertado desde el punto de vista económico, ecológico, social y tecnológico, lo cual se facilita bajo el modelo agroecológico.

Según Altieri (1997) la teoría del manejo debiera incorporar diversas y variadas tácticas para el control, apoyándose primero en los factores de control natural. De esta forma plantas con potencial biocida constituyen un componente importante de control, dentro del contexto de manejo integrado de plagas (Iannacone y Lamas, 2003).

Los productos naturales tienen múltiples efectos que van desde la inhibición o estimulación de los procesos de crecimiento de las plantas vecinas, hasta la inhibición de la germinación de las semillas, o evitan la acción de insectos masticadores, así como los efectos dañinos de bacterias, hongos y virus. Los productos naturales conforman una parte muy importante de los sistemas de defensa de las plantas con la ventaja de ser biodegradables (Wikipedia, 2007).

2.3.1. Plantas repelentes y/o fitoplaguicidas en la Agricultura

Los organopónicos y huertos intensivos son las modalidades más destacadas en todo el país, contribuyendo de manera sobresaliente al rescate de el acerbo hortícola (MINAGRI, 2000), aunque pueden concentrarse otras formas productivas como parcelas y patios.

La producción de alimentos en las ciudades se caracteriza por una baja incidencia de plagas y enfermedades, estando basada principalmente en el manejo fitosanitario con la selección del área, época de siembra, variedades resistentes a ataques de plagas y enfermedades, rotación de cultivos, el uso de bioplaguicidas, controles biológicos y el empleo de las plantas en el control de plagas, constituyendo una alternativa más para pasar la etapa de tránsito de agricultura convencional a sistemas de producción orgánico sostenibles, que se caracteriza por la sustitución de insumos (MINAGRI, 2007).

Se señala por Vázquez et al. , (2007) que en los últimos años se ha incrementado la percepción sobre el valor de la experimentación realizada por los agricultores, pues como señalaran estos son poseedores de conocimiento y habilidades que se derivan de años de experiencia y frecuentemente se transmiten de generación a generación, integrados a normas socio-culturales y, a menudo, relacionados con fenómenos físicos como el clima, entre otros, que constituyen importantes fuentes de innovaciones útiles en el desarrollo e incremento de la producción agrícola sustentable y deben aprovecharse como sustituto valioso y complemento del conocimiento científico y de las tecnologías formales.

Rodríguez y Companioni, (2006) consideran que el Programa Nacional de Agricultura Urbana de Cuba se basa en un enfoque agroecológico, sustituyendo los fertilizantes y plaguicidas por abonos orgánicos y el empleo de controles biológicos y otras herramientas agroecológicas para el control de las plagas.

2.3.2. Control de organismos nocivos a los cultivos con biopreparados a partir de extractos vegetales.

La utilización masiva de insecticidas convencionales, y especialmente plaguicidas de amplio espectro, es costosa y trae consecuencias colaterales secundarias, como desarrollo de resistencia en las plagas, contaminación ambiental, residuos tóxicos en el producto cosechado, aparición de nuevas plagas y eliminación de la entomofauna benéfica (Simmonds et al., 2002).

Según Girón et al., (2000) las plantas plaguicidas han despertado interés por el hecho de ser un método natural y de menor costo para el control de plagas en cultivos de hortalizas, granos, frutas y otros, además de contribuir al equilibrio ecológico sin afectar drásticamente el desarrollo, cambio y evolución de la naturaleza. Estas plantas poseen sustancias tóxicas contra bacterias, hongos e insectos, conteniendo principios activos como benzoatos, cianamatos, cumarinas, quinonas y flavoides. Iannacone y Lamas, (2002) consideran que la utilización de extractos vegetales para el control de plagas tiene la ventaja de no provocar contaminación, debido a que estas sustancias son degradadas rápidamente en el medio

El control orgánico de organismos nocivos a los cultivos con plantas se ha utilizado desde hace mucho tiempo, las que se emplean para estos fines son especies

forestales y plantas medicinales. El agroecosistema permite encontrar una gran variedad de plantas, que por los metabolitos secundarios que poseen, presentan características que permiten atraer o rechazar insectos, favorecer o desfavorecer condiciones de desarrollo de otras plantas o cultivos, prevenir plagas y enfermedades, entre otras. Estas interacciones permiten seleccionar las plantas adecuadas a un propósito específico de control. Es importante referenciar que generalmente estos preparados líquidos se dejan reposar de un día a otro, suelen dejarse al sereno y ser revueltos en sentido de las manecillas del reloj, para dinamizar y potenciar el líquido. Algunos de los procedimientos para obtener las sustancias esenciales son el baño de semillas, infusión, té, hidrolato, purín, decocción, macerado y extracto de flores (Wikipedia, 2007).

2.3.3. Plantas repelentes y/o fitoplaguicidas con principios insecticidas.

El empleo de los extractos y polvos vegetales, elaborados a partir de diferentes partes de las plantas, como insecticidas botánicos en el control de plagas que afectan a las plantas cultivadas y granos almacenados ha sido una práctica frecuente del campesinado cubano (Estrada y López, 2000). Estos autores señalan que muchas son las especies de la flora nativa y exótica que generan sustancias activas con las cuales se pueden elaborar diferentes bioinsecticidas, tales como *Azadirachta indica* A. Juss, (árbol del Nim), *Melia azedarach* (L) (paraíso), *Nicotiana tabacum* (L.) (tabaco) entre otros.

Varios son los efectos que pueden producir ciertas plantas sobre el desarrollo de algunas especies de insectos, de los cuales Girón et al., (2000) destacan su efecto como esterilizante, interferencia con la ovoposición, inhibición del desarrollo larval y otras como atrayentes, también su efecto plaguicida actuando como veneno de contacto, veneno estomacal o como repelente.

Bioensayos realizados en España por López et al., (1998) para conocer el efecto inhibidor de extractos botánicos procedentes de varias especies de plantas entre ellos *Daphne gnidium* L. (Thymelaeaceae). *Anagyris foetida* L. (Papilionáceas), *Chrysanthemum coronarium* L. (Asteraceae), *Ajuga multiflora* Bunge (Labiatae) Y *Azadirachta indica* Juss. (Meliáceas) sobre *Kaloterms flavicollis* (fabr.) lograron resultados satisfactorios con el extracto comercial de Nim (hasta 28 u/ cm²) así como con el extracto etanólico de *Daphne gnidium* L y *Anagyris foetida* L. a

concentración de 20 u/ cm² y 40 u/ cm² respectivamente con valores de inhibiciones de la alimentación de la termita, estadísticamente significativos.

Pascual (1998) en estudios sobre repelencia, inhibición del crecimiento y toxicidad de extractos vegetales obtenidos a partir de especies de la familia Solanácea y Compositae utilizando la plaga *Tribolium castaneum* Herbst. (Coleóptera Tenebrionidae) comprobó repelencia de las larvas a *C. officinalis* L., mortalidad de hasta un 50 % cuando se incorporaba a la dieta el extracto de *Whitania somnifera* L., *Solanum dulcamara* L. y *Nicotiana tabacum* L. y toxicidad por contacto con las especies *Nicotiana rustica* L., *Solanum nigrum* L. y *Whitania somnifera* L.

En Bolivia se demostró los efectos insecticidas de varias plantas, entre ellas las especies *Melia azedarach* L. (paraíso), *Azadirachta indica* A. Juss. (nim) y *Eucalyptus* sp. (eucalipto) (Roog, 2000).

Alfonso et al., (2002) citan varias plantas forestales con efecto insecticida entre ellas *Annona squamosa* (L.) (Anón) empleada en el control de *Aphis* spp, *Callobruchus chinensis* (Linnaeus), *Callobruchus maculatus* (Fabricius), *Coccus viridis* (Green), *Oryzaephilus surinensis* (L.), *Tribolium castaneum* (Herbst) y *Brevicoryne brassicae* (L.). Por su parte las hojas pulverizadas de *Eucalyptus* sp (eucalipto) son utilizadas para el control de *Sitophilus oryzae* (L.), *Aphis* spp y *Manduca sexta* (Johanssen) y *Jatropha curcas*, (L.) (piñón botija) contra *Praticolella griseola*, *Mocis latipes* (Guén) y *Musca domestica* (L.).

2.3.4. Plantas repelentes y/o fitoplaguicidas con principios fungicidas.

Estudios realizados por Puente et al., (2003) informan sobre la potencialidad de los extractos de las especies siguientes: *Polyscia guilfoyley* Bailey (aralia), *Muralla paniculata* L (muralla), *Crescentia cujete* L.(güira), *Helianthus annuus* L. (girasol), *Mormodica charantia* L. (cundeamor), *Curcuma longa* L. (curcuma), *Nicotiana tabacum* L. (tabaco) y *Trichila glabra* L.(ciguaraya); como fungitóxico contra los hongos patógenos de plantas *Fusarium oxysporum* Slecht y *Rhizoctonia solani* Kühn que producen pudriciones secas, “*damping off*” y úlceras en tallos y raíces, causantes de elevadas pérdidas en semilleros y plantaciones, Rivera et al., (2003) realizaron estudios sobre el efecto fungicida de *Melia azedarach* L., *Nicotiana tabacum* L. y *Lantana camara* L. contra enfermedades causadas por *Alternaria* sp. y *Fusarium* sp

en plantas de la familia Asteraceae como *Calendula officinalis* L. y *Matricaria recutita* L..

Hernández et al., (2001) informan a *Eucalyptus* spp (eucalipto) controlando *Phomopsis* sp. , a *Vallesia antillana* Woodson (palo boniato) controlando a *Rhizoctonia solani* y *Fusarium solani*, *Melia azedarach*, L (paraíso) empleada contra la mancha concéntrica producida por *Alternaria tenuis* y *Pinus caribaea* Morelet (pino macho) contra *Phytophthora* sp, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium solani*, *Botritis allii* y *Thielaviopsis basicola*.

Con el objetivo de disminuir la pudrición de la vaina de arroz ocasionada por *Sarocladium oryzae* (Sawada) Gams & Hawks se aplicaron extractos de las especies *Ipomea cornea* L. y *Azadirachta indica* A. Juss, las que resultaron efectivas contra este hongo, al provocar disminución de los niveles de la enfermedad en pruebas "in Vitro " y en condiciones de campo (Eswaramurthy, 1996).

2.3.5. Plaguicidas naturales a partir del Nim (*Azadirachta indica* A. Juss) y Paraíso (*Melia azedarach*, L.).

Los insecticidas naturales del nim y paraíso son de fácil biodegradación por lo que no dejan residuos tóxicos contaminantes (Estrada y López, 1996) teniendo en cuenta estas características su uso se ajusta en el Manejo de Plagas dirigido a controlar un número considerable de insectos, ácaros y nemátodos que constituyen plagas en los cultivos agrícolas.

Dentro de los compuestos terpenoides de éstas meliáceas, el limonoide conocido por azadiractina ha sido el más estudiado en el ámbito de la Entomología Aplicada dicha sustancia posee carácter inhibitor de la alimentación frente a un gran número de insectos (Ocete y Del Tío, 1998). Otros autores señalan que producen en los insectos dos tipos de efectos: altera su comportamiento causando repelencia y antiapetitividad y altera su desarrollo al interferir con la producción tanto de la hormona juvenil como de los ecdisteroides al bloquear la liberación de péptidos morfogenéticos (Van Der Nat et al., 1991).

Según Ramírez (2004) la azadiractina se encuentra en casi todas las partes de la planta de *Melia azedarach* L. (paraíso), aunque en las semillas las concentraciones son más altas. Roog (2000) plantea que esta planta posee un efecto insecticida por su toxina de contacto y de ingestión.

Se recomienda al paraíso para el control de *Spodoptera frugiperda* A y S, (palomilla del maíz), *Plutella xylostella* (L)(polilla de la col), *Bemisia tabaci* Genn, (mosca blanca), *Keiferia lycopersicella* (Busck), (minador de la hoja del tomate), *Nezara viridula* (L), (chinche del arroz), *Heliothis virescens* (F), (cogollero del tabaco) *Diaphania hyalinata* L. (gusano de los melones) *Callosobruchus maculatus* (F) (gorgojo el caupi), *Cylas formicarius* var *elegantulus* (F) (tetuán del boniato), *Acanthoscelides obtectus* (Say), (gorgojo del arroz) y ácaros como *Tetranychus urticae* Koch, *Panonychus citri* Mcgregor entre otros y nematodos como es el caso de *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitwood, (Estrada 1994 y 1995; Estrada y López, 1996; Avilés et al., 1995; Brechelt, 1995; Crespo et al. , 1995; Schmutterer, 1989 y 1994; Gruber, 1992).

Dorn (1995) en cuanto al árbol del nim (*A. indica* A. Juss) plantea que la azadiractina es el compuesto más activo desde el punto de vista insecticida que se puede obtener de él.

No obstante se realizan estudios para conocer el efecto de la azadiractina sobre especies de insectos benéficos, por ejemplo Viñuela et al., (1998) en condiciones controladas con la especie depredadora *Podisus maculiventris* (Say) (Hemiptera, Pentatomidae) obtuvieron con una dosis de 25 mg/l por vía oral una mortalidad ninfal significativa, pero tópicamente este insecticida no redujo la supervivencia de las ninfas, aunque si se apreciaron malformaciones significativas en los adultos.

Pérez, (2002) informa que el nim no afecta las arañas, las mariposas y los insectos tales como las abejas, las mariquitas y las avispas. Ello se debe principalmente a que los productos del nim deben ser digeridos para ser efectivos.

Vogt et al., (1998) en condiciones de laboratorio con aplicaciones vía contacto residual a la dosis de 0.3 % recomendada para campo en España observaron diversos efectos negativos en larvas del depredador *Chrysoperla carnea* (Stephens) Neuropter Chrysopidae que en dependencia del tipo de formulación podían o no provocar la muerte, retraso en el desarrollo larvario, disminución del peso de la larva, descoordinación de los movimientos y menor movilidad así como diversas malformaciones al mudar.

2.3.6. Métodos de preparación de los extractos naturales.

Según Hernández et al., (1998) los métodos de preparación de las plantas o partes de las mismas son pulverización, decocción, maceración, fermentación y extracción del jugo.

Roog, (2000) profundiza en la preparación de los extractos naturales destacando que pueden ser de dos formas: a base de solventes orgánicos ó utilizando agua y señala que la extracción a nivel de laboratorio puede ser reflujo, soxhlet, percolado, arrastre de vapor, maceración, infusión y decocción.

Dicho autor plantea que en estudios realizados para valorar el conocimiento de los campesinos sobre el empleo de las plantas para el control de plagas, la forma de preparación casera más usada fue mediante té, caldo, infusión, remojo y macerado.

Girón et al., (2000) señala a la decocción como método más utilizado para lograr las sustancias naturales en *Cassia alata* L. (guacamaya francesa), *Mammea americana*, L. (mamey de santo domingo), *Gliricida sepium* (Jacq) Steud y *Psidium guajaba* L. (guayaba); Por extracción en los casos de *Cinnamomum camphora* T. Nees I Eber y el genero *Citrus* spp y para *Bixa orellana* L. (bija) por pulverización.

Alfonso et al., (2001) recomienda para obtener el preparado natural en *Annona cherimolia* Mill (chirimoya), *Annona muricata* L (guanábana), *Eucalyptus* sp. (eucalipto), *Ricinus communis* L. (higuereta), *Vallesia antillana* Woodson (palo boniato) y *Melia azedarach* L. (paraíso) el método de pulverización; aunque con esas mismas plantas puede utilizarse en la maceración al igual que con *Jatropha curcas* L. (piñón botija), *Pinus caribaea* Morelet (pino macho) y *Azadirachta indica* A. Juss (nim) con los que se hace la extracción del aceite. Solamente en decocción se emplean **Ricinus communis** L. (higuereta) y *Eucalyptus* sp. (eucalipto), a pesar de que este último es utilizado en fermentación.

2.4. Generalidades de *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid.

2.4.1 Clasificación taxonómica

Dominio: Eukaryota, Reino: Fungi, Phylum: División: Ascomycota :Anamorphic fungi:

Clase: Ascomycetes : Familia=Sphaeroidaceae :Género=Macrophomina

Nombre Científico: *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid.

Nombre vulgar): Podredumbre carbonosa del tallo

Tipo de plaga: Hongo

Hospederos: Girasol, Maíz, Soja, Sorgo entre otros cultivos.

2.4.2 Características Biológicas:

Descripción: Este hongo forma microesclerocios pequeños, globosos, de color negro. Estos cuerpos son muy numerosos, otorgándole a los tejidos un color negro-grisáceo. Los esclerocios constituyen el principal medio de supervivencia del hongo.

2.4.3. Síntomas y signos:

Según Windauer et., al, (2006) se pueden observar síntomas de la enfermedad en todas las etapas del cultivo.

La semilla infectada puede mostrar manchas negras de tamaño diverso en las rajaduras o sobre el tegumento. Las semillas infectadas usualmente originan plántulas débiles que mueren a los pocos días.

Las plántulas infectadas suelen mostrar una decoloración marrón rojiza en la porción emergente del hipocótilo. El área decolorada se torna marrón oscura o negra y las plántulas afectadas pueden morir bajo condiciones ambientales cálidas y secas.

Infecciones posteriores al estado de plántula suelen provocar síntomas no visibles hasta mediados del ciclo del cultivo. Las plantas inicialmente muestran síntomas no específicos, tales como menor tamaño de hojas, menor altura y otros relacionados a pérdida de vigor.

Estos mismos autores señalan que a partir de floración aparecen los síntomas más característicos de la enfermedad. En los tejidos epidérmicos y subepidérmicos de las raíces y parte inferior del tallo se aprecia una coloración grisácea, provocada por la presencia de numerosos microesclerocios oscuros.

Estos pequeños esclerocios no aparecen en cantidad hasta que las plantas comienzan a morir, sugiriendo que su presencia implica la muerte de las células de los tejidos invadidos.

2.4.4. Daños específicos según cultivo

En el cultivo de Girasol se manifiesta una madurez prematura, decoloración y desecamiento brusco de los tallos con capítulos pequeños y pobres, y en algunos casos, vuelco de las plantas. Afecta el tercio inferior del tallo con destrucción de la

médula y formación de "enriado" característico de los haces vasculares; sobre éstos se destacan puntos negros brillantes, correspondientes a los esclerocios o cuerpos de sobrevivencia del hongo. El signo característico es la presencia de microesclerocios de color oscuro en los tejidos subepidérmicos de la raíz. Su presencia abarca toda la zona girasolera, lo que permite que dentro del lote, aparecen manchones de plantas que se secaron en forma anticipada, provocando una disminución del peso de los aquenios y una reducción del porcentaje de aceite. La fuente primaria de inóculo se encuentra en el suelo, como esclerocios, que germinan al ser estimulados por los exudados de las raíces (Anónimo, 2008).

En cambio en cultivo de Maíz, la forma asexual de este agente etiológico manifiesta síntomas que se visualizan en raíces e internodios inferiores. En las raíces se observan lesiones marrones húmedas que luego se tornan a negras. A medida que la planta madura, el hongo se introduce en los internodios inferiores provocando la maduración prematura, la fragmentación y quemadura a nivel de la corona. (Anónimo, 2008).

En las plántulas del cultivo del Frijol se manifiesta en forma de lesiones (chancros) que forman depresiones negras debajo del nudo de los cotiledones. Sucesivamente, éstas pueden extenderse al [tallo](#) hasta alcanzar los peciolo de las hojas, pudiendo destruir el vértice vegetativo. Las lesiones tienen margen definido y presentan normalmente anillos concéntricos que debilitan el tallo y la planta se quiebra por ese punto. Si la enfermedad avanza lentamente, las hojas se tornan amarillas y las plantas se achaparran fundamentalmente por el lado de la lesión. Con el desarrollo de la enfermedad, en los chancros aparecen esclerocios y picnidios. Lesiones similares también pueden aparecer en los frutos (Martínez et., al, 2006)

2.4.5. Condiciones predisponentes

En las plántulas del cultivo del frijol la gravedad de la enfermedad depende de las condiciones climáticas, resultando favorecida por temperaturas elevadas (30-35 °C) y estrés hídrico de las plantas. Este patógeno tiene una relación sinérgica con varias especies de nematodos fitopatógenos, aparentemente capaces de propagarlo, así como con algunos insectos. (Martínez et., al, 2006)

En el cultivo de girasol, la muerte prematura, se ve favorecida por condiciones de estrés lumínico por acumulación de días nublados en el período que va desde

floración a madurez, siembras tardías, altas densidades de siembra, estrés por exceso o déficit hídrico (lotes con "piso de arado" o presencia de tosca), heridas, daño de insectos, deficiencia de boro, etc. Cultivares de ciclo corto sembrados tardíamente son más susceptibles a muerte. (Anónimo, 2008).

En el cultivo de maíz las temperaturas del suelo cercanas a 37°C son favorables al desarrollo de la enfermedad. Las bajas temperaturas del suelo, así como la elevada humedad del mismo, disminuyen la gravedad. (Anónimo, 2008).

En estudios realizados por González et., al, (1997) destacan que la pudrición carbonosa del tallo ocasiona en el sorgo mayores pérdidas que todas las demás enfermedades juntas, en especial cuando existen condiciones ambientales favorables durante la floración y maduración fisiológica. El daño económico ocasionado por este hongo en el sorgo en los Estados Unidos ha llegado a representar hasta un 50 % del total de los daños de otras enfermedades. Refieren además que varios autores han determinado que *M. phaseolina* (Tassi) Goid es uno de los patógenos que prevalece mayor tiempo en el suelo y además, posee una amplia distribución, principalmente en USA. y la India sobreviviendo principalmente en forma de esclerocios, la cual constituye la principal fuente de inóculo

En general según Martínez et., al, (2006) el desarrollo de la enfermedad se ve favorecido por temperaturas altas (28 a 35 °C) y baja humedad edáfica.

2.4.6. Distribución de la enfermedad

Macrophomina phaseolina, Tassi) Goid. es un hongo patógeno con un amplio rango de hospedante, incluyendo cultivos de importancia como: soya (*Glycine max* L), maní (*Arachis hypogaea* L), sorgo (*Sorghum bicolor* L) Moench, maíz (*Zea mays* L), algodón (*Gossypium hirsutum* L), caraota (*Phaseolus vulgaris* L), entre otros (Sasovsky, 2001).

Autores como McIntosh, (1983); Mihail et.,al,(1988) y Pineda, (2001) plantean que este fitopatógeno posee una amplia distribución geográfica, capaz de atacar fácilmente a un gran número de especies vegetales, por lo que se le considera un patógeno polífago.

Según Hernández, (2006) la pudrición carbonosa de la raíz producida por *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid se encuentra dentro de las enfermedades asociadas a hongos patógenos que viven en el suelo, la cual posee como

hospederos alrededor de 300 plantas en todo el mundo agrupadas en 75 familias. Este mismo autor refiere que este patógeno es un importante problema de vivero en Chile, sin embargo, en nuestro país el problema en plantaciones forestales es poco conocido, y no existen estudios que establezcan el comportamiento espacial de la enfermedad.

El hongo *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid causa la pudrición carbonosa en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) y otros cultivos de importancia económica en México y el mundo tales como soya [*Glycine max* (L.) Merr], sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench], maíz (*Zea mays* L.), ajonjolí (*Sesamum indicum* L.) y girasol (*Helianthus annuus* L.) (Dhingra y Sinclair, 1978). Los daños que se reportan por pudrición carbonosa son variables y generalmente fluctúan entre el 10 y 60% en pérdidas del rendimiento de grano, así como incidencias de hasta del 100% en países como Estados Unidos de América, México, Venezuela y Brasil (Abawi y Pastor-Corrales, 1990; Montes-García, 2006).

Según Cloud et.,al, (1994); Russin et.,al, (1995) y Singh et.,al, (1990) la incidencia de la enfermedad anteriormente descrita en los cultivos varía de un año a otro y de región a región, dependiendo del manejo agronómico y de las condiciones climáticas sin embargo, la susceptibilidad de los cultivares puede ser un factor preponderante en la elección del material de siembra más apropiado (Bramel et.,al, 1988; Russin et.,al, 1995) Se ha comprobado que la combinación de altas temperaturas, baja humedad del suelo y siembras tardías son los factores más importantes para que se manifieste la enfermedad (Hillocks et.,al,1997;Lodha et.,al,1995, Russin et.,al, 1995). De acuerdo con Paliwal et.,al, (2001), la enfermedad se desarrolla en ambientes secos y cálidos, especialmente cuando hay estrés por humedad y temperaturas altas en el suelo. También favorece el desarrollo de la enfermedad los inapropiados métodos de labranza y la baja fertilidad de los suelos (Duncan et.,al,1984; Lodha et.,al,1996; Pande et.,al,1990; Pineda et.,al,1988 ; Fernández y Alfonso. 2007).

2.4.7. Control de *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid

Pineda et., al, (1985) refieren que *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid se presenta comúnmente en Portuguesa causando muerte de plantas en ajonjolí, maíz, caraota y sorgo. Como posee diversos hospederos y forma esclerocios, el hongo se

mantiene largo tiempo en el suelo y dificulta la implementación de medidas eficaces de control.

Estos mismos autores obtuvieron resultados positivos en pruebas in vitro con los herbicidas Atrazina (Gesaprin) y Alachlor (Lazo), los cuales ejercieron un mayor efecto inhibitorio sobre el crecimiento del hongo en agar para dextrosa; los fungicidas más eficiente fueron Benomyl (Benlate) y Thiofanato-metil (Topsin).

Referido a lo anteriormente expuesto se han ejecutado pruebas de invernadero donde se realizaron en suelo inoculado con el patógeno y utilizando caraota como cultivo hospedero. En este caso, el fungicida de mayor efecto en el control de la enfermedad fue Captan (Captan 50 o/o) y entre los herbicidas, Lazo resultó más efectivo. Ambos productos mantuvieron su acción hasta los 30 días de edad del cultivo (Pineda et., at, 1985)

El desarrollo de germoplasma de frijol común con resistencia estable y durable a enfermedades, tales como la pudrición carbonosa es una alternativa eficaz para la obtención de nuevas variedades comerciales para áreas de secano o temporal en México y otras regiones del mundo (Mayek-Pérez et al., 2001).

La mejor forma de controlar a este patógeno consiste en evitar las siembras tardías, aplicar una fertilización alta en potasio y sembrar los cultivares menos susceptibles. También se recomienda iniciar aplicaciones de [fungicida](#) en forma preventiva, desde los 40 días después de la siembra (González et., al, 2011).

Debido a la necesidad de disminuir el efecto de este patógeno, surge la posibilidad del uso de los biocontroladores como es el caso de *Trichoderma* sp. Las especies de este género son los antagonistas más utilizados para el control de enfermedades de plantas producidas por hongos del suelo, debido a su difusión, su facilidad para ser aisladas y cultivadas, a su crecimiento rápido en un gran número de sustratos y que no atacan a plantas superiores. (Martínez, et., al, 2006). Referido a esto autores como Carrillo, (2006) obtuvo resultados satisfactorios en el uso de nueve aislamiento de *Trichoderma harzianum* en la reducción del porcentaje de inhibición del crecimiento de *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid)

Estos mismos autores hacen referencias a otras medidas de control las cuales se describen a continuación:

Agrotécnicas

- Evitar las siembras continuas en áreas que han sido afectadas anteriormente.
- Adecuado laboreo o preparación del suelo.
- Evitar las siembras tempranas en suelos que hayan presentado incidencia del patógeno.
- Rotación de cultivos con especies no hospedantes del patógeno.
- Realizar el secado del frijol, concluida la cosecha, sobre sacos o mantas y no sobre el suelo.

Biológicas

Tratamiento a las semillas con el antagonista *Trichoderma harzianum* (cepa A-34 y 53).

Químicas

Aplicaciones con los siguientes productos: Maneb, mancozeb, propineb y zineb.

3. MATERIALES Y METODOS

La presente investigación se realizó en el Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal de Cienfuegos, en el periodo comprendido desde el año 2010 - 2011.

En la realización de los ensayos “in vitro” se empleó un diseño experimental de bloques al azar, donde se probaron las dosis del 80, 50 y 25% de cada extracto a evaluar.

El material vegetal utilizado de las diferentes especies de plantas fue colectado en áreas urbanas y suburbanas del municipio Cienfuegos, las cuales fueron:

Nombre Común	Nombre Científico
Moringa	Moringa oleífera Lam
Noni	Morinda citrifolia L.
Eucalipto	Eucalyptus sp
Higuereta	Ricinus communis L.
Paraíso	Melia azedarach L
Nim	Azadirachta indica A. Juss

3.1. Preparación de las soluciones de los fitoplaguicidas

Para la obtención de los extractos de cada planta se tomaron hojas verdes, las cuales se secaron al sol por un periodo de 7 días, una vez secas se trituraron por el método de maceración para la obtención del producto en polvo, utilizando una malla fina de 0.5 mm.

Del producto obtenido de cada fitoplaguicida se tomó la cantidad de 80, 50 y 25 g respectivamente para obtener las diferentes concentraciones de la solución madre, para lo cual se utilizaron erlermeyers de 100 ml y se completó con agua destilada estéril con las cantidades de 20,50 y 75 ml respectivamente, el mismo se dejó reposar por 24 horas a temperatura ambiente posteriormente se realizó el filtrado a través de una gasa estéril para obtener el extracto puro de cada especie de planta a evaluar. A partir de la solución madre concentrada se realizaron diluciones para luego adicionar al medio de cultivo.

3.2. Preparación de los medios de cultivo

El medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA) una vez preparado se midió y envasó en erlenmeyers de 100 mL de capacidad de acuerdo a las proporciones previamente calculadas para obtener el rango de concentraciones deseadas.

Los medios agarizados envasados en los erlenmeyers se esterilizaron en autoclave por 15 mín a 121 °C luego se dejaron enfriar hasta 45 °C y se añadieron las cantidades definidas de las soluciones madres de los fitoplaguicidas (8, 5, 2.5 ml) posteriormente se extendieron en las placas de Petri de 9 cm de diámetro.

3.3. Inhibición del crecimiento de la colonia

Para la evaluación del efecto de los extractos de fitoplaguicidas (moringa, noni, eucalipto, paraíso, higuereta y nim) sobre el hongo *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid obtenido del cepario del Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal se montaron cuatro placas o réplicas por concentración con el medio envenenado a las diferentes dosis y un testigo sin tratamiento, posteriormente se realizaron transferencias de cultivo de 5 días de edad, tomando un círculo del inóculo de 0.5 cm con un perforador (orador) situando cada uno con una aguja previamente esterilizada en cada placa con el tratamiento en cuestión. Las placas se incubaron a 25 °C ±2 en incubadora refrigerada. Las evaluaciones se realizaron a los tres, siete y diez días. El diámetro de las colonias en mm se midió por el método de crecimiento radial, con los datos obtenidos se calculó el porcentaje de inhibición mediante la fórmula de Abbot (CIBA – GEYGY, 1981).

$$\% \text{ inhibición} = \frac{A - B}{A} \times 100$$

Donde:

A: crecimiento colonia testigo

B: crecimiento colonia concentración

Los datos en porcentajes fueron transformados en $2 \arcsen \sqrt{x+1}$ para su análisis, para el procesamiento estadístico se utilizó un análisis multivariado. Las medias se compararon por Test de Duncan, previo análisis de homogeneidad de varianzas, se realizó la prueba no paramétrica de Komodorov Esmirnosv (coeficientes menores a 0.05) para determinar la normalidad de los datos. Se utilizó el paquete estadístico SPSS V 15 español (Windows)

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis realizado con el objetivo de determinar la dosis más apropiada para el empleo de los extractos de fitoplaguicidas en estudio manifestó a los tres días de realizado los tratamientos que la concentración al 80% fue la mejor presentando diferencia estadística con la dos restantes y el testigo (Tabla 1).

Tabla 1. Efectividad biológica en la inhibición de *M. phaseolina* a diferentes concentraciones de extractos naturales a los tres días

Concentraciones (%)	X transf.2arc sen \sqrt{p}	X retransf.
Testigo (0)	0.49 c	6
25	1.9 b	67
50	1.9 b	67
80	2.05 a	73
E.T.	0.17	
C.V. %	10.8	

* Letras desiguales difieren para $p < 0.05$ (Lerch, 1977)

En la tabla 2 se muestra a los siete días de realizado el tratamiento que con la concentración al 80% se obtuvo el 76% de inhibición del hongo mostrando diferencia estadística con respecto al 25 y 50% y estas a su vez con el testigo.

Tabla 2. Efectividad biológica en la inhibición de *M. phaseolina* a diferentes concentraciones de extractos naturales a los siete días.

Concentraciones (%)	X transf.2arc sen \sqrt{p}	X retransf.
Testigo (0)	0,60 c	9
25	1,88b	67
50	1,92b	68
80	2.1 a	76
E.T	0.17	
C.V %	10.3	

*Letras desiguales difieren para $p < 0.05$ (Lerch, 1977)

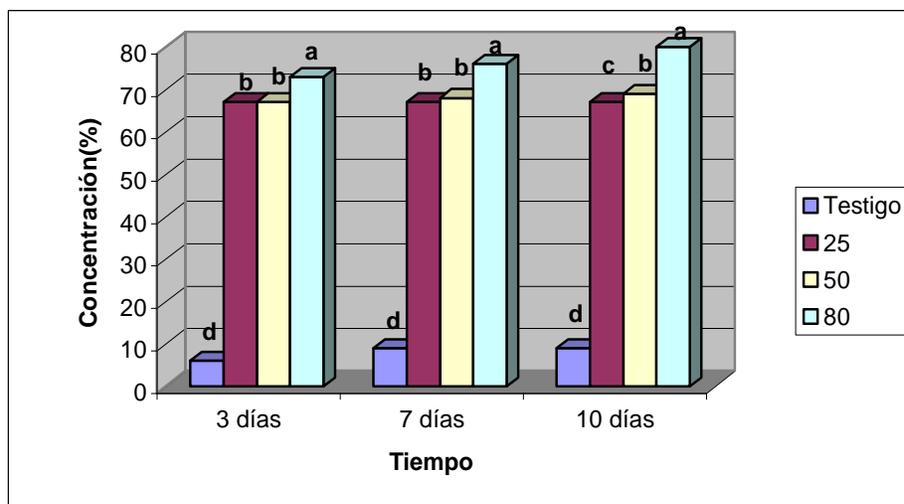
La dosis con la concentración al 80% de los extractos naturales a los 10 días de realizado el tratamiento manifestó igual comportamiento que en los dos momentos anteriormente analizados con un 80% de de efectividad en la inhibición del crecimiento del hongo, mostrando diferencia estadística con el resto de las concentraciones incluyendo al testigo (Tabla3).

Por lo que se demuestra (figura 1) que dicha concentración es la más adecuada y además se apreció que con ella se logró que la inhibición del patógeno se incrementó con el tiempo de forma considerable

Tabla 3. Efectividad biológica en la inhibición de *M. phaseolina* a diferentes concentraciones de extractos naturales a los diez días

Concentraciones (%)	X transf. $\bar{2} \text{arc sen } \sqrt{p}$	X retransf.
Testigo (0)	0,60 d	9
25	1,90 c	67
50	1,96 b	69
80	2.16 a	80
E.T	0.17	
C.V %	10.3	

* Letras desiguales difieren para $p < 0.05$ (Lerch, 1977)



*Letras desiguales difieren para $p < 0,05$ (Lerch, 1977)

Figura 1. Efectividad biológica en la inhibición del crecimiento de *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid a diferentes concentraciones de extractos naturales

En la evaluación realizada a los tres días se logra los mejores resultados en la inhibición del crecimiento de *M. phaseolina* con Moringa y Paraíso que no presentaron diferencias estadísticas entre sí y alcanzando una efectividad del 63 y 64 % respectivamente (Tabla 4).

Tabla 4. Efectividad biológica de diferentes extractos en la inhibición del crecimiento del hongo *M. phaseolina* a los tres días

Extractos	X transf. $\bar{2} \text{arc sen } \sqrt{p}$	X retransf.
Eucalipto	1,113e	28
Higuereta	1,50d	47
Noni	1,52d	47
Nim	1,78c	60
Moringa	1,82ab	63
Paraíso	1,85a	64
E.T	0.21	
C.V %	13.2	

* Letras desiguales difieren para $p < 0.05$ (Lerch, 1977)

La inhibición del hongo a los siete días con los extractos en estudio (Tabla 5) superó el 60 % de efectividad en los casos de Moringa, Nim y Paraíso, destacando este último con un 65% y no presentando diferencia estadística significativa con el Nim pero si con los demás extractos de fitoplaguicidas.

Tabla 5. Efectividad biológica de diferentes extractos en la inhibición del crecimiento del hongo *M. phaseolina* a los siete días.

Extractos	X transf. $\bar{2} \text{arc sen } \sqrt{p}$	X retransf.
Eucalipto	1,20 f	32
Higuereta	1,51 de	47
Noni	1,53d	48
Moringa	1,80c	61
Nim	1,86ab	64
Paraíso	1,87 a	65
E.T	0.21	
C.V %	12.7	

* Letras desiguales difieren para $p < 0.05$ (Lerch, 1977)

A los 10 días se aprecia que la efectividad del Paraíso superó a los restantes extractos ensayados alcanzándose un 69 % de efectividad, difiriendo estadísticamente del resto incluyendo el testigo. Le siguen el árbol del Nim y la Moringa (Tabla 6)

Estudios realizados en condiciones “in vitro” por Ortega et.,al, (2007) para determinar los niveles de inhibición sobre el hongo *Sclerotium rolfsii* Sacc. con los extractos de *Eucalyptus* sp.(eucalipto), *Azadirachta indica* A. Juss. (nim) y *Melia azedaracht* L.

(paraíso) evidenciaron resultados no satisfactorios ya que se obtuvo baja acción de los extractos ensayados sobre el patógeno, lo que unido a la característica de este hongo de provocar enfermedades en las raíces y ser un habitante del suelo, dificulta aún más el efecto del producto.

Sin embargo en Colombia en investigaciones realizadas por Pérez .et., al, (2011) “in vitro” con hojas de *Melia azedarach* L (paraíso) y *Eucalyptus* sp (eucalipto) arrojaron resultados satisfactorios sobre la inhibición del crecimiento de diferentes aislados del género *Collectotrichum* sp causante de la enfermedad antracnosis. Por lo que se considera necesario realizar estudios para cada especie de hongo.

En España se ha recomendado el empleo de varios productos comerciales derivados del Nim como Pronim, Urtifer, Oleatbioto con buenos resultados contra enfermedades fungosas (www. trabe.Net).

Rivera et al., (2003) realizaron estudios sobre el efecto fungicida de *Melia azedarach* L., *Nicotiana tabacum* L. y *Lantana camara* L. controlando enfermedades causadas por *Alternaria* sp. y *Fusarium* sp en plantas de la familia Asterascea como *Calendula officinalis* L. y *Matricaria recutita* L..

Algunos autores como Hernández et al., (2001) informan a *Eucalyptus* spp (eucalipto) controlando *Phomopsis* sp. , a *Vallesia antillana* Woodson (palo boniato) controlando a *Rhizoctonia solani* y *Fusarium solani*, *Melia azedarach*, L (paraíso) empleada contra la mancha concéntrica producida por *Alternaria tenuis* y *Pinus caribaea* Morelet (pino macho) contra *Phytophthora* sp, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium solani*, *Botritis allii* y *Thielaviopsis basicola*.

Estudios realizados por Eswaramurthy, (1996) con el objetivo de disminuir la pudrición de la vaina de arroz ocasionada por *Sarocladium oryzae* (Sawada) Gams &Hawks se aplicó extractos de las especies *Ipomea cornea* L. y *Azadirachta indica* A. Juss, las que resultaron efectivas contra este hongo, al provocar disminución de los niveles de la enfermedad en pruebas “ in vitro ” y en condiciones de campo.

Es importante destacar que según Javaid y Saddique, (2011) se han realizado investigaciones donde se ha estudiado la actividad antifúngica de las hojas de *Datura metel* para el control in vitro e in vivo de *Macrophomina phaseolina* (Tassai) Goid. el agente causal de la pudrición carbonosa de la raíz en judía mungo (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek), obteniéndose como resultado que dicha enfermedad puede

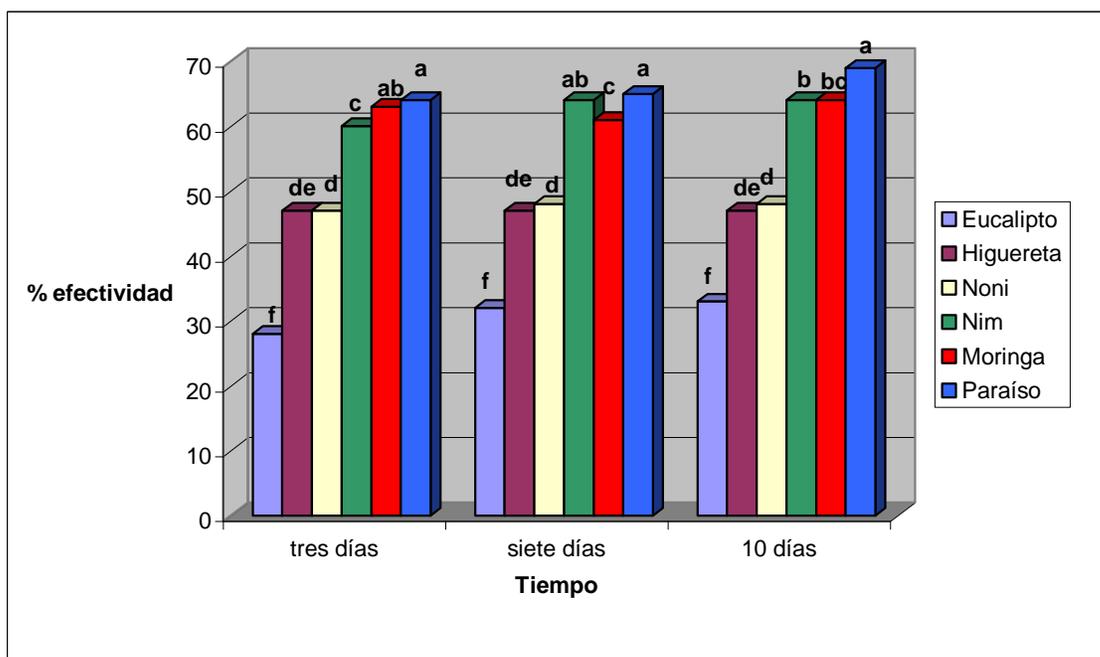
ser controlada por enmiendas en el suelo con estiércol de hojas secas de la especie de planta antes mencionada.

Tabla 6. Efectividad biológica de diferentes extractos en la inhibición del crecimiento del hongo *M. phaseolina* a los diez días

Extractos	\bar{X} transf. $2\text{arc sen } \sqrt{p}$	\bar{X} retransf.
Eucalipto	1,220f	33
Higuereta	1,51de	47
Noni	1,53d	48
Moringa	1,85bc	64
Nim	1,86 b	64
Paraíso	1,95 a	69
E.T	0.21	
C.V %	12.7	

* Letras desiguales difieren para $p < 0.05$ (Lerch, 1977)

En la figura 2 se puede destacar que en los tres momentos evaluados de los extractos naturales de fitoplaguicidas ensayados los mejores resultados de efectividad en el porcentaje de inhibición de *M. phaseolina* se obtuvieron con Paraíso, seguido por la Moringa y el Nim.



*Letras desiguales difieren para $p < 0,05$ (Lerch, 1977)

Figura 2. Efectividad biológica de diferentes extractos en la inhibición del crecimiento del hongo *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid

En la tabla 7 se aprecia la interacción entre las concentraciones utilizadas y los diferentes extractos naturales de fitoplaguicidas, observándose los mejores resultados con la Moringa al 50% de concentración que difiere estadísticamente del resto, exceptuando al tratamiento Moringa al 80% , no obstante esta última no difiere estadísticamente del Paraíso en ninguna de las concentraciones estudiadas, por lo que dichas especies a esta concentración lograron los mejores resultados en cuanto al porcentaje de inhibición de *M. phaseolina* seguidos por el Nim.

Tabla 7 .Efectividades obtenidas en la interacción entre los diferentes tratamientos de extractos naturales y concentraciones empleadas a los tres días

Extractos	Concentraciones %			
	Testigo (0)	25	50	80
Eucalipto	0.47 i	1.15 h	1.08 h	1.75 g
Noni	0.47 i	1.72 g	1.92 Ef.	1.97 e
Higuereta	0.47 i	1.75 g	1.82 fg	1.82 g
Nim	0.55 i	2.17 d	2.20 cd	2.20 cd
Moringa	0.47 i	2.17 d	2.4 a	2.35 ab
Paraíso	0.55 i	2.25 bcd	2.30 bc	2.30 bc
E. T	0.17			
C.V	10.8			

* Letras desiguales difieren para $p < 0.05$ (Lerch, 1977)

A los siete días a pesar de no obtenerse diferencia estadística entre el Nim, Paraíso y Moringa en las tres concentraciones evaluadas se apreció el valor mayor de efectividad (2.4) en el porcentaje de inhibición del patógeno en estudio con Moringa al 50% (Tabla 8).

Tabla 8 Efectividad en la inhibición de *M. phaseolina* a diferentes concentraciones de extractos naturales a los siete días

Extractos	Concentraciones %			
	Testigo (0)	25	50	80
Eucalipto	0.60g	1.15f	1.12f	2.02bc
Noni	0.60g	1.67e	1.67e	2.2a
Higuereta	0.60g	1.75de	1.87cd	1.82de
Nim	0.60g	2.27a	2.3a	2.27a
Moringa	0.60g	2.12ab	2.4a	2.2a
Paraíso	0.60g	2.3a	2.3a	2.3a
E. T	0.17			
C.V	10.3			

* Letras desiguales difieren para $p < 0.05$ (Lerch, 1977)

En la tabla 9 a los 10 días la Moringa al 50 y 80% y Paraíso en las tres concentraciones no presentaron diferencias estadísticas con valores de inhibición del crecimiento del hongo *M. phaseolina* muy similares a los obtenidos a los siete días. Nótese que con la concentración al 80% el porcentaje de inhibición se incrementa en todas las especies de plantas.

Referido a esto podemos citar estudios realizados por Puente et., al, (2004) para determinar el efecto de la actividad alelopática en el crecimiento micelial del hongo fitopatógeno del suelo *Sclerotium rolfsii* Sacc., causante de pudriciones del cuello en condiciones in vitro. de los extractos de partes aéreas de *Wedelia trilobata* (L.) Hitchc. (botón de oro) se utilizaron las diluciones 0,8 g/mL (80 %): 0,50 g/mL (50 %) y 0,25 g/mL(25 %) , presentando el mismo una fuerte actividad inhibitoria del crecimiento del hongo donde todas las concentraciones resultaron ser inhibidoras, pero el mejor control se obtuvo al emplear el extracto al 50 % de concentración.

Tabla.9 Efectividad en la inhibición de *M. phaseolina* a diferentes concentraciones de extractos naturales a los diez días

Extractos	Concentraciones %			
	Testigo (0)	25	50	80
Eucalipto	0.60l	1.15i	1.12jk	2.02 g
Noni	0.60l	1.67j	1.67j	2.2dc
Higuereta	0.60l	1.75ij	1.87h	1.82 hi
Nim	0.60l	2.27bcd	2.3bc	2.3bc
Moringa	0.60l	2.17f	2.4a	2.35 ab
Paraíso	0.60l	2.4a	2.4a	2.4a
E. T	0.17			
C.V	10.3			

*Letras desiguales difieren para $p < 0.05$ (Lerch, 1977)

5. CONCLUSIONES

- En los tres momentos evaluados, tres, siete y 10 días en todos los extractos ensayados la concentración del 80% resultó ser la de mejor efectividad en la inhibición del crecimiento del hongo *M. phaseolina* (Tassi) Goid.
- Los extractos de Paraíso (*Melia azedarach* L), Moringa (*Moringa oleífera*) y Nim (*Azadirachta indica* A. Juss) fueron los de mejor comportamiento obteniéndose efectividades superiores al 60 % en los tres momentos evaluados.
- El paraíso (*Melia azedarach* L) mostró valores superiores al resto de los extractos en todas las concentraciones evaluadas sobre la inhibición de *M. phaseolina* en condiciones de laboratorio, mientras que la Moringa (*Moringa oleífera*) presentó mejor comportamiento a partir del 50 % de concentración

6. RECOMENDACIONES

- ❖ Aplicar los resultados obtenidos a nivel de campo con los extractos vegetales de Paraíso (*Melia azedarach* L), Moringa (*Moringa oleífera*) y Nim (*Azadirachta indica* A. Juss)
- ❖ Realizar la desinfección de semillas que pueden ser hospedantes del patógeno *M. phaseolina* (Tassi) Goid con los extractos vegetales de Paraíso (*Melia azedarach* L), , Moringa (*Moringa oleífera*) y Nim (*Azadirachta indica* A. Juss)
- ❖ Continuar el estudio con otras especies vegetales de acción fúngica.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Abawi, G.S, & Pastor–Corrales, M.A. (1990). Root rots of beans in Latin America and Africa: Diagnosis, research methodologies, and management strategies (p. 114). Presented at the Centro Internacional de Agricultura Tropical. Cali, Colombia.
- Addor, R. (1995). Insecticides (pp. 1-63). Nueva York, Estados Unidos: C.R.A. Gofrey (ed): Agrochemicals from natural products. Marcel Dekker, Inc.
- Alfonso et al, Alfonso, M, R. Avilés, N. González, X. Cruz, R. Villasana, et al. (2002). Los plaguicidas botánicos y su importancia en la Agricultura Orgánica. Revista Agricultura Orgánica. ACTAF, 2(8).
- Alfonso, M, R. Avilés, N. González, X. Cruz, R. Villasana, V. Rodríguez, et al. (2002a). Los plaguicidas botánicos y su importancia en la Agricultura Orgánica. Revista Agricultura Orgánica. ACTAF.
- Alfonso, M, R. Avilés, N. González, X. Cruz, R. Villasana, V. Rodríguez, et al. (2002b). Los plaguicidas botánicos y su importancia en la Agricultura Orgánica. Revista Agricultura Orgánica ACTAF, (2).
- Alfonso, M, R. Avilés, N. González, X. Cruz, R. Villasana, V. Rodríguez, et al. (2003). Los plaguicidas botánicos y su importancia en la Agricultura Orgánica. Revista Agricultura Orgánica. ACTAF, 8.
- Altieri, M.A. (1997). Agroecología: Bases científicas para una Agricultura Sostenibles (primera.). La Habana, Cuba: Pueblo y Educación.
- Altieri, M. (1996). Curso para Diplomado de Postgrado en Agroecología y Agricultura Sostenible. Módulo 2 (pp. 11-17). La Habana.

- Anónimo. (2008). Enfermedades de raíz y tallo en maíz y sorgo. Boletín Fitosanitario Cereales. INTA. Edición de la EEA Sáenz Peña. http://www.inta.gov.ar/saenzpe/info/boletin/boletincereales/boletin_cereales_%20N1.htm. Retrieved October 28, 2011, .
- Bramel-Cox, P., Stein, ., Rodgers, D, & Clafin, L. (1988). Inheritance of resistance to *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid and *Fusarium moniliforme* Sheldon in sorghum. Crop Science, 37-40.
- Brechelt, A. (1995). El árbol para la agricultura y el medio ambiente. (p. 133). Presented at the Experiencias en la República Dominicana, Republica Dominicana: Fundación Agricultura y medio ambiente.
- Castellanos, Leónides, Teresa, Rivero, Bárabara, Roselló, Roquelina, Jiménez, Ana Rodríguez, & Rubén. Acea. (1998). Manual para el establecimiento de los Manejos Integrados de Plagas en la Provincia de Cienfuegos (p. 30). Presented at the Manejo Integrado de Plagas, Universidad de Cienfuegos.
- CETAS. (2005). Manejo integrado de Plagas. Evolución del concepto. (p. 20). Presented at the Gestión del Desarrollo Agrario Sostenible, Universidad de Cienfuegos.
- CIBA- GEYGY. (1981). Manual parar ensayos de campo en la protección vegetal (segunda.). Basilea, Suiza: Werner Puntener, División Agricultura, CIBA-GEIGY S.A.
- Cloud, G, & Rupe, J. (1994). Influence of nitrogen, plant growth stage and environment on charcoal rot of grain sorghum caused by *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid (Plant and Soil., Vol. 158).
- Cremllyn, R. (1989). Plaguicidas modernos y su acción bioquímica. México: Limusa.

- Crespo, J, J. Estrada, V. Toledo, & X. Rey. (1995). Uso de insecticidas botánicos para el control de *Heliothis virescens* f. en el cultivo del tabaco (p. 139). Presented at the Primer Taller Internacional y Tercero Nacional sobre Plaguicidas Biológicos de Origen Botánico, BioPlag 95, Ciudad de la Habana.
- Cuellar, I, M. León, A. Gómez, D. Piñón, R. Villegas, & I. Santana. (2003). Caña de azúcar paradigma de sostenibilidad. Edición Publica. INICA. Cuba, 73.
- Duncan, R. (1984). Duncan, R. (1984). The association of plant senescence with root and stalk diseases in sorghum. In: Mughogho, L.K, ed sorghum rot and stalk rots., 99-110.
- Estrada, J. (1995). Control de plagas en la producción agrícola empleando insecticida natural NIM". Revista Se puede, 1(5).
- Estrada, J, & López, M. T. (1996a). Los bioplaguicidas, alternativa de autosostenibilidad en la agricultura cubana. Memorias I Taller Latinoamericano sobre Bio-plaguicidas. Honduras.
- Estrada, J, & López, M.T. (1996b). Los Bioplaguicidas en la Agricultura Sostenible Cubana. Instituto de Investigaciones Fundamentales de Agricultura Tropical Alejandro de Humboldt (INFAT), C. de la Habana.
- Estrada, J. (1994). El Nim y el Paraíso en Cuba, su cultivo y explotación como insecticidas botánicos. Memorias Primer Congreso Latinoamericano y del Caribe sobre Nim y otros insecticidas vegetales (pp. 103- 111). República Dominicana.
- Estrada, J., & María López. (1996). Los bioplaguicidas, alternativa de autosostenibilidad en la agricultura cubana", en Curso Taller: (pp. 82 -112). Presented at the Gestión medio ambiental de desarrollo rural, La Habana.

- Estrada, J, & López, M.T. Los bioplaguicidas, alternativa de autosostenibilidad en la agricultura cubana. Memorias I Taller Latinoamericano sobre Bio-plaguicidas (pp. 82-112). Honduras.
- Eswaramurthy, S. (1996). Efficacy of *Ipomoea cornea* L. in controlling Rice Sheath Ro, 21, 50.
- Fernández. E, & J. Alfonso. (2007). Desarrollo de prácticas de manejo de la diversidad de plantas en sistemas de producción de la Agricultura Urbana. Revista Agricultura Orgánica ACTAF, (1).
- García, I. (2002). Producción integrada: una alternativa de la agricultura sostenible. Revista Agricultura Orgánica. ACTAF, (No. 2), 32-35.
- Girón, L, J. Martínez, D. Amador, & A. Calcares. (2000). Plantas plaguicidas. Fundamentos de Agrotecnología de Cultivo de Plantas Medicinales Iberoamericanas. Colombia.
- González, R, Ávila; J, & Norma Pierezzim. (2011). Manejo de las principales enfermedades del sorgo en el estado Portuguesa. Centro de Investigaciones Agrícolas del Estado Portuguesa, 63-65.
- González, C, & E. Rivas. (2000). Curso de Manejo Integrado de Plagas (p. 50). Presented at the Gestión medio ambiental de desarrollo rural, Universidad de Cienfuegos.
- González. R, J. Pineda, & Y. Graterol. (2007). Cuantificación de inóculo en el suelo e incidencia de *Macrophomina phaseolina* sobre híbridos de sorgo en tres localidades de los Llanos Centrooccidentales de Venezuela. Rev. Fac. Agron., 4, 70-73.

- Gruber, A.K. (1992). Perspectivas del cultivo y uso del árbol del Nim (*Azadirachta indica* A. Juss) en América Latina (p. 24). Presented at the Memorias Taller de Intercambio de Experiencias y conocimientos sobre el cultivo del árbol del Nim en América Latina, De. Evang. Cieets. Managua.
- Hernández M, Fuentes V, Alfonso M, Avilés R, & Perera, E. (2001). Plaguicidas naturales de origen botánico.
- Hernández, M. (2006). Análisis espacial de la enfermedad pudrición carbonosa de la raíz (*Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid.) en una plantación de *Pinus radiata* D. Don. Trabajo de Diploma en opinión al título de Ingeniero Forestal, Pinar del Río.
- Hillocks, R, & J. Waller. (1997). Soilborne diseases of tropical crops, : 45-46.
- Iannacone, J, & Lamas G. 2003. (2003). Efecto toxicológico de extractos de molle (*Chinus molle*) y lantana (*Lantana cámara*) sobre *Chryperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae), *Trichogramma pintoii*; (Hymenoptera: Trichogrammatidae) y *Capidosoma koehleri* (Hymenoptera : Encyrtidae) en el Perú. Agricultura Técnica, Perú, 63, 347 – 350.
- Javaid , A, & A, Saddique. (2011). Control de la pudrición carbonosa de la raíz causada por *Macrophomina* en judía mungo utilizando estiércol de hojas. Comunicación corta. www.cicegraf.es/inia/sjar/sjar93/SJAR93_26esp.htm, . Retrieved May 15, 2012,
- Jermey, T. (1990). Prospects of antifeedant approach to pest control. A critical review. *Journal of Chemical Ecology*, 16(11), 10-13.

- Lodha, S, Sharma, S, & Aggarwal, R. (1996). Solarization and natural heating of irrigated soil amended with cruciferous residues for improved control of *Macrophomina phaseolina*. *Crop Protection*, 16, 315-320.
- Lodha, S. (1996). Soil solarization, summer irrigated and amendments for the control of *Fusarium oxysporum fsp. Cumini* and *Macrophomina phaseolina* in arid soil. *Crop Protection.*, 14, 215-219.
- López, M. (2005). El Nim y sus posibilidades de uso artesanal en el control de plagas. In III Curso Taller Nacional para la formación de facilitadores en la lucha biológica. Cuba.
- López, M, R. Ocete, B. Darvas, & J. Coll. (1998). Efecto inhibitor de la alimentación de diversos extractos botánicos sobre *Kaloterms flavicollis* Fabr. (Isoptera, Kalotermitidae, 11-21.
- Martínez González, E.; Barrios Sanromá G, Rovesti L, & Santos Palma R. (2006). Manejo Integrado de Plagas. In Manual Práctico (pp. 45-50.). Cuba. Retrieved from http://www.ecured.cu/index.php/Tiz%C3%B3n_ceniciento.
- Mayek-Pérez, N, López-Castañeda, C, López-Salinas, E, Cumpián-Gutiérrez, & J, Acosta-Gallegos. (2001). Resistencia a *Macrophomina phaseolina* en frijol común bajo condiciones de campo en México. *Agrociencia*, 35, 649-661.
- MINAGRI. (2000). Manual de organopónicos. Grupo Nacional de la Agricultura Urbana. INIFAT.
- MINAGRI. (2007). Lineamientos para los subprogramas de la Agricultura Urbana para 2008-2010 y sistema evaluativo. ACTAF. Hivos. INIFAT.

- Olaya, G, Abawi, G.S, & Weeden, N.F. (1996). Inheritance of the resistance to *Macrophomina phaseolina* and identification of RAPD markers linked to the resistance genes in beans. *Phytopathology*, 86, 674–679.
- Olaya, G., & Abawi, GS. (1996). Efecto del potencial de agua en el crecimiento del micelio y la producción y germinación de esclerocios de *Macrophomina phaseolina*. *Planta de Enfermedades*, 80, 1347-1350.
- Ortega, Isabel, L, Castellanos, & Roquelina, Jiménez. (2007). Plantas forestales con propiedades repelentes y/o fitoplaguicidas en la agricultura urbana en Cienfuegos. Tesis en Opción al Título Académico de Master en Agricultura Sostenible, Universidad de Cienfuegos "Carlos Rafael Rodríguez".
- Ovody, G, & Dunkle, L. (1979). Charcoal stalk rot of sorghum: effect of environment on host-parasite relation. *Phytopathology*.
- Paliwal, R. (2001). El maíz en los trópicos: Mejoramiento y producción. FAO, 61-174.
- Pande, S, Mughogho, L, & Karunakar, R. (1990). Effects of moisture stress, plant population density and pathogen inoculation on charcoal stalk rot of sorghum. *Annals of Applied Biology*.
- Papale, & Susana. (2003). Plaguicidas. ¿Venenos útiles? <http://www.ecoportel.net/articulos/plagui.htm>.
- Pascual, M. (1998). Repelencia, inhibición del crecimiento y toxicidad de extractos vegetales en larvas de *Tribolium castaneum* Herbst. (Coleoptera: Tenebrionidae)., 144- 153.
- Pastor–Corrales, M.A, & Abawi, GS. (1988). Reactions of selected bean accessions to infection by *Macrophomina phaseolina*. *Plant Disease*, 72, 39–41.

- Pérez, A, Johann, Rojas, L, Chamorro, & Katy, Pérez. (2011). Evaluación in vitro de la actividad inhibitoria de extractos vegetales sobre aislados de *Collectotrichum* spp. Revista Acta Agronómica, 60(2). Retrieved May 16, 2012, from www.revista.unal.edu.co.
- Pérez, N. (1996). Manejo Agroecológico de Plagas”, en: Curso para Diplomado de Postgrado en Agroecología y Agricultura Sostenible. Módulo 2 (pp. 20-35.). La Habana.
- Pineda, J. (2001). Evaluación de métodos de aplicación de *Trichoderma harzianum* al suelo para el control de *Macrophomina phaseolina* en ajonjolí. Fitopatología Venezolana, 14, 314-340.
- Pineda, J, & Ávila, J. (1988). Alternativas para el control de *Macrophomina phaseolina* y *Fusarium oxysporum*, patógenos del ajonjolí. Agronomía Tropical., 38, 79-84.
- Pineda, J. B, Méndez, A, & Mosquera, D. (1985). Eficacia de algunos biocidas en el control de *Macrophomina phaseolina*. (p. p. 61). Presented at the 9. Seminario Nacional de Fitopatología, Maracay (Venezuela).
- Piñón, D. (2002). Hacia una fotoprotección ecológica de plagas. Manual para productores (Primera.). Cuba: Ediciones Publicas, MINAZ.
- Pradas , Marisol. (2006). Investigadores de la UCLA “curan” plantas de cultivo con extractos vegetales. http://boletin.uc.edu.ve/index.php?Itemid=14&id=4590&option=com_content&task=view . Retrieved February 5, 2012 .
- Puente, M, K. Allaert, L. Herrera, S. Torres, C. Pérez, & M. Rodríguez. (2003). Determinación de la actividad alelopática de extractos vegetales sobre algunos hongos fitopatógenos del suelo. Revista Centro Agrícola, (1), 11-21.

- Puente, M, Robaina, M, Espinosa, R, Torres, S, & Herrera, L. (2004). Determinación del efecto del extracto de *Wedelia trilobata* (L.) Hitchc. sobre el crecimiento in vitro del hongo *Sclerotium rolfii* Sacc. Centro Agrícola, 1-2, 31, 9-12.
- Ramírez, L. (2004). Manual de Bioplaguicidas. Tecnología para Protección de Cultivos (segunda.). La Paz, Bolivia: Topaz Creaciones Gráficas.
- Reinhardt C. F, Samina Khalil, & Suzette. Bezuidenhout. (1999). Bioassay Techniques in Assessing the Allelopathic Effects of Weeds on Crop and Plantation Species. Science for the Future, 1, 37.
- Rivera, M, R. Oramas, & I. Echavarría. (2003). Posibilidades de control de enfermedades a partir de productos naturales y controles biológicos en las plantas medicinales. La Sierrita, Cumanayagua, Cienfuegos. Cuba.
- Rodríguez, A, & N. Companioni. (2006). Situación actual perspectivas y retos de la Agricultura Urbana en Cuba. Revista Agricultura Orgánica ACTAF, (2).
- Roog, H. (2000). Manejo y control biológico de plagas de Bolivia. Ecuador. Ediciones. Ediciones Abya Yala, (1), 16-19.
- Russin, J, & J,Griffin. (1995). Effects of grain sorghum herbicides on charcoal rot fungus. Weed Technology, 9, 343-351.
- Sasovsky, C.A. (2001). La soja frente al estrés hídrico. Agribusiness Journal, 64(6), 124-127.
- Schmutterer, H. (1989). Enviromental sound control by application on Neem (*Azadirachta indca* A. Juss) based natural pesticides (pp. 135-144). Presented at the Symposium Pesticides- Mechanisms of action and Resistance, Reinhardtsbrunn, Taq. Ber., Akad, Landwirtsch-wiss. DDR Berlin.

- Schmutterer, H. (1990). Properties and potential of natural pesticides from the neem tree. *Azadirachta indica* A. Juss. Annual Review of Entomology, 35, 271-297.
- Simmonds, M. S. J., J. Manlove, & B. Khambay. (2002). Effects of selected botanical insecticides on the behavior and mortality of the glasshouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum* and the parasitoid *Encarsia Formosa*.
- Singh, S., Nene, Y., & Reddy, M. (1990). Influence of cropping systems on *Macrophomina phaseolina* populations in soil. Plant Disease, 74, 812-814.
- Torqui, J. (2007). Efecto de tres bioplaguicidas para el control del pulgón (*Aphis* sp) en el cultivo de lechuga en ambientes protegidos en la ciudad de El Alto. Trabajo de Diploma en opinión al título de Ingeniero agrónomo, Universidad Mayor de San Andrés, Bolivia.
- Van Der Nat, J.; W. Van Der Sluis, K. De Silva, & R. Labadie. (1991). Ethnopharmacognostical survey of *Azadirachta indica* A. Juss (Meliaceae). J. Ethnopharmacology (pp. 35: 1 – 24).
- Vázquez. (2003). Agroecología y agricultura sostenible y orgánica. Manejo agroecológico de Plagas. Integración del Control Biológico. Cuba (p. 8). Presented at the Agroecología y agricultura sostenible y orgánica, Curso Internacional producción y uso de bioplaguicidas en diferentes Agroecosistemas.
- Vázquez, L. (2007). Adopción de Prácticas agroecológicas para el manejo de plagas por los agricultores cubanos. Cuba. Revista Agricultura Orgánica ACTAF, 13(3), 37 -41.
- Vázquez, L., E. Fernández, & J. Alfonso. (2007). Desarrollo de prácticas de manejo de la diversidad de plantas en sistemas de producción de la Agricultura Urbana. Revista de Agricultura Orgánica. Cuba. ACTAF, 13.

- Vázquez, Luis. (2007). Adopción de prácticas agroecológicas para el manejo de plagas por los agricultores cubanos. *Revista Agricultura Orgánica. ACTAF*, Año 13(No. 2).
- Vázquez, Luis, & Fernández, Emilio. (2007). Bases para el manejo agroecológico de plagas en sistemas agrarios urbanos. *Revista Agricultura Orgánica. ACTAF*, (No. 1), 10-14.
- Wikipeda. (2007). Identificación de las principales malezas del cultivo. Control oportuno de malezas en el cultivo. "<http://es.wikipedia.org/wiki/Alelopat%C3%ADa>". Retrieved November 11, 2011,
- Windauer, L. B, Gil, A, Guglielmini, A. C, & Benech - Arnold, R. L. (2006). Producción de Granos. Bases Funcionales para su Manejo. In *Bases para el Control y Manejo de las Enfermedades en Cultivo para Granos* (p. 785). Buenos Aires: Facultad de Agronomía; Universidad de Buenos Aires.
- Yang, R., & C. Chang. (1988). Plants used for pest control in China: a literature review. In 3 (Vol. 42, pp. 376-406.). Presented at the Economic Botany, China.