

## PERFIL QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DEL TOMATE DE ÁRBOL (*CYPHOMANDRA* SPP.) Y SU PAPEL CONTRA *COLLETOTRICHUM GLOESPORIOIDES* PENZ AGENTE CAUSAL DE LA ANTRACNOSIS

CHEMICAL AND MYCROBIOLOGICAL PROFILE OF THE TREE TOMATO (*CYPHOMANDRA* SPP.) AND ITS ROLE AGAINST *COLLETOTRICHUM GLOESPORIOIDES*, CAUSAL AGENT OF ANTRACNOSIS

Antoni Rueda<sup>1,2</sup>, Fernando Echeverri<sup>1</sup>, Fernando Torres<sup>1</sup>, Adriana Gallego<sup>1</sup>, Winston Quiñones<sup>1</sup>, Mario Lobo<sup>3</sup>

### Resumen

En este trabajo se abordó un estudio preliminar sobre la composición de metabolitos secundarios en las hojas de cinco genotipos de tomate de árbol (*Cyphomandra betacea*) y su papel contra *Colletotrichum gloeosporioides*, un hongo agente causal de la antracnosis. Se determinaron varias diferencias en el perfil químico de extractos de las hojas de algunos genotipos, así como una alta actividad antibiótica contra este hongo, sugiriendo un papel activo de estas sustancias en la defensa química de la planta.

*Palabras clave:* antracnosis, *Cyphomandra betacea*, *Colletotrichum gloeosporioides*, resistencias de plantas.

### Abstract

This preliminary research was carried out to determine the composition of secondary metabolites in leaves of five genotypes of tomato tree (*Cyphomandra betacea*), and their role against pathogenic fungi *Colletotrichum gloeosporioides*, causal agent of the known disease Antracnosis. Several chemical differences were detected in the leaves of some genotype and high antibiotic activity was observed too, suggesting an active role of these substances in the plant chemical defence.

*Key word:* antracnosis, *Cyphomandra betacea*, *Colletotrichum gloeosporioides*, plant resistance.

## INTRODUCCIÓN

Dentro de los cultivos frutícolas de clima frío moderado en Colombia, el tomate de árbol (*Cyphomandra betacea* Cav. Sendt.), constituye una alternativa de gran importancia socioeconómica, como cultivo principal (Rondón, 1998) en algunas regiones de Colombia. A pesar de este panorama promisorio, el cultivo del tomate de árbol ha visto afectado su

desarrollo potencial a causa de la enfermedad conocida como antracnosis, ocasionada por el hongo fitopatógeno *Colletotrichum gloeosporioides* constituyéndose hoy en día la principal limitante de producción en el cultivo en todas las regiones del país, ocasionando pérdidas económicas que fluctúan entre (US\$) 3.006 y 11.268 dólares hectárea-año (Lobo et al., 2000). Las plantas poseen diferentes mecanismos de defensa y adaptación a los

<sup>1</sup> Laboratorio de QOPN. SIU-Universidad de Antioquia. A. A. 1226. Medellín (Antioquia), Colombia.

<sup>2</sup> Correo electrónico: <antonyrueda@yahoo.es>.

<sup>3</sup> CORPOICA. La Selva. Rionegro (Antioquia), Colombia.

microorganismos y específicamente hongos, tales como la producción de fitoanticipinas (defensas pre-existentes) y fitoalexinas (Grayer y Harborne, 1994). Al respecto, algunos autores han señalado que no existen hasta el momento variedades resistentes de tomate de árbol a la antracnosis (Saldarriaga et al., 1997). Sin embargo, una investigación en la que se evaluó la resistencia de campo en tomate de árbol a la antracnosis de los frutos, sugiere la existencia de una posible resistencia a nivel de campo, por parte del genotipo *Cyphomandra uniloba* (Lobo et al., 2000). Estos últimos resultados plantean la factibilidad de explotar el potencial químico de la resistencia de las variedades. El abordar esta problemática desde una perspectiva eminentemente química permitirá generar conocimiento de tipo básico sobre la naturaleza estructural de los metabolitos secundarios que se encuentran asociados a estos factores de resistencia, los factores que inducen su producción y su potencial antibiótico contra el agente causal de la antracnosis. Investigaciones en esta vía realizadas por el grupo de Química Orgánica de Productos Naturales, en las que se estudió la acumulación de isoflavonoides en variedades de frijón colombianas resistentes y susceptibles al hongo *Colletotrichum lindemuthianum* (Durango et al., 2002), y en la que se describió la correlación entre la concentración de fenilfenalenonas en especies colombianas de la familia Musaceae y la resistencia contra *Mycosphaerella fidjiensis* y *Fusarium oxysporium* (Otalvaro et al., 2002), mostraron altas correlaciones entre la producción metabolitos secundarios y la expresión de resistencia de los materiales estudiados.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Recolección de material vegetal.** Se realizó una colecta de fruto fresco de aproximadamente 2 kg por material, dichos muestreos se realizaron en el banco de germoplasma de tomate de árbol de Corpoica, el cual se encuentra ubicado en el centro experimental "La Selva" en Ríonegro (Antioquia) a 2.120 msnm. Los genotipos que se usaron

son las especies *Cyphomandra betacea* (material susceptible), *Cyphomandra uniloba* (material reportado con resistencia a nivel de campo), *Cyphomandra materna* (material susceptible), el híbrido S2 (cruce de *Cyphomandra uniloba* x *Cyphomandra materna*) y el híbrido S1 (*Cyphomandra betacea* x *Cyphomandra uniloba*). De los mismos materiales se colectó 500 g de hojas sanas por material.

**Cromatografía comparativa.** Las hojas frescas de cada material fueron lavadas y posteriormente licuadas en etanol al 95%, filtradas y centrifugadas, posteriormente secadas a alto vacío. Después de obtener el extracto crudo seco se procedió a fraccionarlos en hexano, diclorometano y acetato de etilo. Para los frutos se procedió de igual manera, pero con la diferencia que el fruto se partió en dos; siendo una parte la zona cercana al pedúnculo y la otra el resto del fruto. Se descartó para ello las semillas y la parte interna del fruto. A los extractos (hexano, diclorometano y acetato de etilo) provenientes de las diferentes genotipos se les realizó cromatografía de capa fina con el objetivo de detectar diferencias en los perfiles cromatográficos. Se utilizó placa cromatográfica de sílica gel 60 F254 y en los sistemas que se describen a continuación: hexano:acetato de etilo 3:1 (v/v), diclorometano:acetato de etilo: metanol 4:1:1 (v/v) y acetato:diclorometano:metanol 4:1:2.5 (v/v), para los extractos fraccionados con hexano, diclorometano y acetato de etilo respectivamente.

**Bioensayos.** Se adelantó un bioensayo para evaluar el efecto de los extractos sobre el crecimiento del *Colletotrichum gloeosporioides*, para lo cual se le adicionó al medio de cultivo 500 ppm de cada uno de los extractos de hojas de los genotipos evaluados.

El parámetro que se tomó fue el diámetro de crecimiento con respecto al testigo absoluto y así determinar el porcentaje de inhibición, las evaluaciones fueron tomadas cada doce horas desde el día tres hasta el día siete.

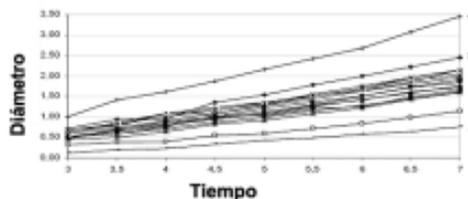
**Análisis estadístico.** El bioensayo se llevo a cabo bajo un diseño completamente al azar con arreglo factorial y cuatro repeticiones por tratamiento. Se analizó la cinética de crecimiento del hongo en cada uno de los tratamientos. Los datos por ser en porcentaje se les realizó una transformación de raíz cuadrada y una prueba Shapiro-Wilks a los residuales del modelo para determinar la distribución normal. Se hizo una regresión lineal a la curva de crecimiento de cada tratamiento para determinar el ajuste del modelo y así realizar un análisis de varianza representativo. Posteriormente, se desarrollo un análisis de varianza a una vía a los datos transformados bajo un modelo de completamente al azar con arreglo factorial para observar como los factores; genotipo, extracto y la interacción genotipo x extracto, afectan el porcentaje de inhibición de crecimiento de *C. gloeosporioides*, después se hizo una prueba de comparaciones múltiples de Tukey para establecer los mejores tratamientos. Igualmente se realizó un Anova sin tener en cuenta el efecto de las interacciones y asumiendo cada interacción como un tratamiento, seguido de la prueba de comparaciones múltiples para este caso.

**RESULTADOS**

**Cromatografía comparativa.** La cromatografía comparativa mostró diferencias en los perfiles cromatográficos principalmente en los extractos fraccionados con diclorometano, observándose un perfil particularmente diferente en el extracto obtenido a partir del genotipo *C. uniloba*. En las cromatografías obtenidas de los extractos de hexano y acetato de etilo no se detectaron diferencias apreciables.

**Curva de crecimiento e inhibición.** Las observaciones directas sobre el crecimiento del hongo permitieron establecer diferencias principalmente entre los extractos de los genotipos de *C uniloba*, *C. betacea* y las fracciones obtenidas con diclorometano y hexano. Lo anterior se visualiza de mejor manera en las curvas de crecimiento, donde se aprecia como los hongos tratados con el extracto obteni-

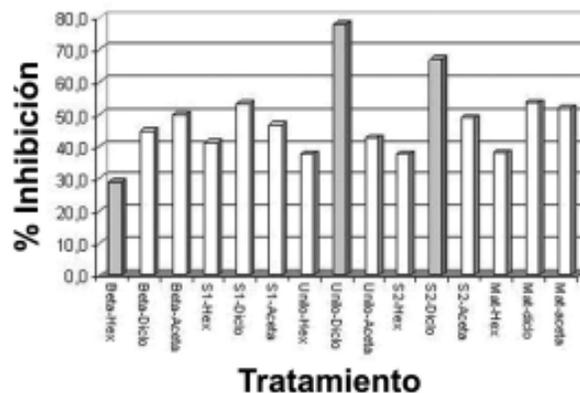
do de *C. uniloba* en diclorometano y S2 en diclorometano tuvieron una pendiente de crecimiento mucho menor que los demás tratamientos (figura 1).



C. uniloba-diclorometano (1), S2 - diclorometano (2), C. betacea-hexano (3), Testigo (4).

**Figura 1.** Curva de crecimiento de *C. gloeosporioides* tratado con extractos de cinco genotipos de tomate de árbol

Igualmente, se observó el mayor porcentaje de inhibición de crecimiento para estos dos tratamientos; por otro lado se aprecia que el extracto de hexano de *C. betacea* presenta el mayor crecimiento y el menor porcentaje de inhibición (figura 2).



**Figura 2.** Porcentaje de inhibición de crecimiento de *C. gloeosporioides* tratado con extractos de cinco genotipos de tomate de árbol

**Análisis estadístico.** La prueba de normalidad arrojó un p-valor de 0,0708, por lo cual se acepta la hipótesis de que los datos provienen de una distribución normal; igualmente el análisis de regresión para cada tratamiento es altamente significativo, ajustándose al modelo.

El análisis de varianza permite apreciar que hubo diferencias al 5% de significancia entre genotipo, extracto y su interacción, lo que indica que el por-

centaje de inhibición de crecimiento de *C. gloeosporioides*, es afectado por estos tres aspectos.

La prueba de comparaciones múltiples permite apreciar que para el factor genotipo el extracto mas

inhibitorio fue *C. uniloba* y S2 (cruce *C. uniloba* x *C. materna*) y el menos potente *C. betacea*; en cuanto a las fracciones hubo mayor inhibición con los extractos diclorometánicos y menor con el hexánico (tabla 1).

**Tabla 1.** Prueba de comparaciones múltiples de Tukey genotipos y fracción

Prueba para genotipo		Prueba para fracción	
Genotipo	Inhibición (%)	Fracción	Inhibición (%)
<i>C. uniloba</i>	52.775 a *	dicloro metano	59.350 a
S2	51.208 a	acetato de etilo	48.045 b
<i>C. materna</i>	47.825 ab	hexano	36.725 c
S1	47.100 ab		
<i>C. betacea</i>	41.292		

\* Letras iguales son estadísticamente iguales al 5% de significancia

Genotipo pr>f= 0,0039

Extracto pr>f= 0,0001

Genotipo \* extracto pr > f = 0,0001

Para la prueba en que se tomaron todos los tratamientos sin tener en cuenta las interacciones, se observaron diferencias estadísticas entre tratamientos. También se realizó una prueba de comparaciones múltiples de tukey, la cual mostró que el mejor

tratamiento fue el extracto de dicloro metano del genotipo *Uniloba*, seguido del extracto del genotipo S1 en dicloro metano, también se observa que el tratamiento con menos porcentaje de inhibición fue el extracto de *C. betacea* en hexano (tabla 2).

**Tabla 2.** Prueba de comparaciones múltiples de Tukey para los tratamientos sin considerar interacciones entre los factores

Tratamiento	Inhibición (%)	Tratamiento	Inhibición (%)
<i>C. uniloba</i> diclorometano	77.900 a *	<i>C. betacea</i> dicloro	44.925 cd
S2 diclorometano	67.025 ab	<i>C. uniloba</i> acetato	42.775 cd
<i>C. materna</i> diclorometano	53.650 bc	S1 hexano	41.300 cd
S1 diclorometano	53.250 bc	<i>C. materna</i> hexano	38.025 cd
<i>C. materna</i> acetato	51.800 bc	S2 hexano	37.675 cd
<i>C. betacea</i> acetato	49.975 c	<i>C. uniloba</i> hexano	37.650 cd
S2 acetato	48.925 c	<i>C. betacea</i> hexano	28.975 d
S1 acetato	46.750 c		

\* Letras iguales son estadísticamente iguales al 5% de significancia

Cv = 7,14

Tratamiento Pr > F = 0,0001

## DISCUSIÓN

En este trabajo se analizan tres tipos de información; una de tipo químico, biológico y otra de tipo estadístico, para describir de forma preliminar el perfil químico de cinco genotipos de tomate de árbol y el posible papel de los metabolitos que los constituyen como mecanismo de defensa contra el hongo patógeno *Colletotrichum gloeosporioides*.

Los resultados muestran un menor crecimiento del hongo con el extracto diclorometánico de *C. uniloba*, lo cual es congruente con los reportes de tolerancia a nivel de campo. Esto sugiere una posible asociación entre la composición de metabolitos secundarios y la resistencia a antracnosis por parte de este genotipo.

Las diferencias en la actividad de los tres tipos de extractos, especialmente el diclorometánico, podrían

sugerir alguna especificidad en cuanto al tipo de compuesto presente.

Finalmente se deben realizar estudios fitoquímicos adicionales para determinar la estructura de los metabolitos responsables de la inhibición del crecimiento del hongo y analizar además si la expresión de los metabolitos secundarios asociados con la resistencia a *C. gloeosporioides* está ligada a una posible heredabilidad de genes, en especial en el cruce de *C. uniloba* y el genotipo S2 (*C. materna* x *C. uniloba*).

## AGRADECIMIENTOS

Se agradece a la Universidad de Antioquia la financiación de este trabajo, Corpoica CI La Selva y al doctor Mario Lobo por el suministro del germoplasma para la realización de este trabajo.

## REFERENCIAS

- Aranzazu F, Hincapié E, Castillo L.** 1998. Antracnosis en tomate de árbol (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz) avances en aspectos epidemiológicos. Pp.1-8. En: Anónimo (ed.). *Memorias del II Seminario de Frutales de Clima Frio Moderado*. Centro de Desarrollo Tecnológico de Frutales. Manizales (Caldas), Colombia.
- Durango D, Quiñones W, Torres F, Rosero Y, Gil J, Echeverri F.** 2002. Phytoalexin accumulation in Colombian bean varieties and aminosugars as elicitors. *Molecules*, 7:817-832.
- Grayer RJ, Harborne JB.** 1994. A survey of antifungal compounds from higher plants, 1982-1993. *Phytochemistry*, 37:19-42.
- Lobo M, Medina CI, Cardona M.** 2000. Resistencia de campo a la antracnosis de los frutos (*Colletotrichum gloeosporioides*) en tomate de árbol (*Cyphomandra* (*Solanum*) *betacea* (*betaceum*) Cav. Sendt.). *Revista Facultad Nacional de Agronomía*, 53:1129-1142.
- Otálvaro F, Echeverri F, Quiñones W, Torres F, Schneider B.** 2002. Correlation between phenylphenalenone phytoalexins and phytopathological properties in *Musa* and the role of a dihydrophenylphenalene Triol. *Molecules*, 7:331-340.
- Rondon, JG.** 1998. Aspectos fisiológicos del tomate de árbol, epidemiología de la antracnosis y su relación con el manejo del problema. Pp.4-38. En: Anónimo (ed.). *Memorias del II Seminario de Frutales de Clima Frio Moderado*. Centro de Desarrollo Tecnológico de Frutales. Manizales (Caldas), Colombia.
- Saldarriaga A, Bernal J, Tamayo PJ.** 1997. Enfermedades del cultivo del tomate de árbol en Antioquia: Guía de reconocimiento y control. CORPOICA, *Boletín Técnico. Regional*, 4:1-43.

