

ALELOPATÍA Y SUSTANCIAS BIOACTIVAS

Efecto del extracto crudo de hojas de *Tagetes erecta* L. en el control de cuatro hongos patógenos de hortalizas "in vitro"

Effect of leaf crude extract from Tagetes erecta "in vitro" control of four pathogen fungi of the horticultural crops

Yoannia G Pupo B.¹, L. Herrera², B. Vargas¹, Y. Marrero¹, R. Arévalo³, M. C. Jiménez¹.

1. Universidad de Granma
2. Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas.
3. Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal Granma

E-mail: yoni@udg.co.cu

RESUMEN. La utilización de plantas con propiedades biocidas es un instrumento tecnológico importante dentro del manejo ecológico de plagas. En este trabajo se evaluó el efecto del extracto crudo obtenido a partir de hojas de *Tagetes erecta* L. a diferentes dosis en el control *in vitro* de *Alternaria porri*, *A. solani*, *Cladosporium fulvum* y *Cercospora beticola*, agentes causantes de enfermedades en tres cultivos hortícolas. El método de obtención de los extractos fue la percolación con etanol al 70 %, solvente que fue eliminado mediante rotoevaporación. El bioensayo se montó según diseño completamente aleatorizado y se utilizó el método de dilución en agar. Las cepas fueron aisladas a partir de material de campo. Con la dosis de extracto de 1g.L⁻¹ se obtuvo para todos los hongos porcentajes de inhibición superiores al 65 %. Para *A. solani*, *C. fulvum* y *C. beticola* esta dosis se comportó superior al zineb (fungicida comercial utilizado como control). Se muestran los datos de pH, índice de refracción, color, olor, sabor y resultados del tamizaje fitoquímico realizado al extracto de la planta.

Palabras clave: Actividad antifúngica, *Alternaria porri*, *A. solani*, *Cercospora beticola*, *Cladosporium fulvum*, *Tagetes erecta*.

ABSTRACT. The use of plants with biocides properties is an important technological instrument inside the ecological handling of plagues. In this work the effect of extracts obtained from leaves of *Tagetes erecta* L in different doses in the control "in vitro" of *Alternaria porri*, *Alternaria solani*, *Cladosporium fulvum* and *Cercospora beticola*, causing agents of illnesses in three horticultural crops, was evaluated. Extracts were obtained by percolation method with 70% ethanol, solvent was eliminated by rotoevaporation. Bioassays were arranged in a totally randomized design and the fungi were isolated from ill material collected in farm. The colony growth during seven days in the different treatments, in which are included a negative control without extract and positive one (which is actually a commercial fungicide) have been evaluated. Doses of 1g/L of the extract inhibited the growth of *A. solani*, *Cladosporium fulvum* and *Cercospora beticola* being higher to the zineb. In this work is showed the following data: pH, IR, colour, taste, smell and the results of phytochemical study of the extracts.

Key words: Antifungal activity, *Alternaria porri*, *A. solani*, *Cercospora beticola*, *Cladosporium fulvum*, *Tagetes erecta*.

INTRODUCCIÓN

La necesidad de proteger los cultivos ha favorecido la generación de diversas estrategias. Según Álvarez (2005) las plantas con propiedades biocidas pueden ser sustitutos naturales de los insecticidas y fungicidas químicos. Lentz *et al.* (1998) refieren que el trópico representa una región particularmente fértil como reservorio de compuestos orgánicos de bajo peso molecular.

La familia *Asteraceae* es poseedora de propiedades medicinales (Carvalho *et al.*, 2001). El género *Tagetes* posee sustancias aromáticas que lo distinguen de otros

grupos, como son los aceites esenciales, que posibilitan su empleo en el control de plagas agrícolas (Cruz *et al.*, 2003). *Tagetes erecta* L. ha sido evaluada por su potencial nematocida (Ijani *et al.*, 2000) y contra larvas de mosquitos (Nemrata *et al.*, 2000). En Cuba se siembra como ornamental y en la agricultura urbana se utiliza como planta repelente.

En este trabajo se evalúa el efecto del extracto de hojas de *T. erecta* frente a cuatro hongos patógenos de hortalizas (*Alternaria solani* (E&M) J. & G.; *Alternaria porri* Ell. y Cif.; *Cladosporium fulvum* Cooke y *Cercospora beticola* Sacc.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en el período de enero a julio de 2006. La especie *Tagetes erecta* fue colectada en horas de la mañana en la Universidad de Granma, Bayamo. El secado de las hojas se efectuó en estufa a 35 °C, luego se molió de forma manual y se tamizó el tamaño de las partículas a 2,5 mm. El extracto se obtuvo por el método de percolación con etanol al 70 % durante siete días; la eliminación del solvente se realizó por rotoevaporación a 40 °C y 150 r.p.m.

Se obtuvieron cultivos monospóricos procedentes de en organopónicos. De *Lycopersicum esculentum*: *A. solani* y *C. fulvum*; de *Allium cepa*: *A. porri* y de *Beta vulgaris*: *C. beticola* y se diluyeron en agar (Rahmann *et al.*, 2001).

Los tratamientos fueron tres dosis del extracto 1, 2, 3 g/L (Dosis 1, 2 y 3, respectivamente), un control positivo (Zineb, 0,1 g/L) y un control negativo (medio de cultivo sin productos). La solución madre del extracto se esterilizó y filtró con un filtro bacteriológico de membrana de poro de 0,1 µ. El medio fue PDA, a pH 5,4 y esterilizado a 121 °C y 1,2 atmósfera por 20 minutos. En el flujo laminar se le adicionaron las alícuotas correspondientes del extracto para obtener las disoluciones deseadas ajustadas a un volumen final de 50 mL, el cual fue vertido a razón de 10 mL por placa.

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado. Se utilizaron discos de 5 mm de diámetro obtenidos del cultivo del hongo crecido en placas con 7 días de edad. Cada 24 horas y durante 7 días se realizó la medición del crecimiento en diámetro del micelio con un pie de rey.

Se calculó el porcentaje de inhibición micelial mediante la fórmula siguiente:

Inhibición micelial (%) = $[(dc - dt)/dc] \times 100$ donde:

dc = diámetro del micelio del control

dt = diámetro del micelio del tratamiento

Se realizó un análisis de varianza de clasificación simple con el Programa Statistic ver. 5.0. Los datos en las tablas se expresaron como la media ± desviación estándar de la misma. Empleando para la comparación de medias el Método de Scheffé.

El tamizaje fitoquímico se realizó según Richard y

Cannell (1998) y Peña *et al.* (2002), utilizando la simbología descrita por el último para referir los resultados.

El pH fue medido en pH meter Hanna – 211 y el índice de refracción en un refractómetro AB. Se realizó además un análisis físico de los extractos para describir sus características más representativas en cuanto a color, olor y sabor.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Sólo con el fungicida comercial empleado se obtuvo 100% de inhibición del crecimiento de *A. porri*, (Tabla 1), lo cual puede estar relacionado con el origen de las cepas donde resulta frecuente el uso de este producto. MINAGRI (2002) recomienda el empleo de Zineb para controlar estos patógenos en campo. La menor efectividad del Zineb frente a *A. solani* ha sido referida por autores como Mesiaen y Lafon (1967) que señalan que es muy resistente a los fungicidas.

El mayor porcentaje de inhibición micelial debido a la acción del extracto vegetal se obtuvo para el hongo *C. beticola*, (100%), en todas las dosis ensayadas. Frente a *A. solani* se obtuvieron mejores resultados que con el Zineb sin diferencias significativas en las respuestas de *C. fulvum* a las dosis 1 y 2 del extracto y al Zineb, con un 69 % de inhibición superior. También para el hongo *A. porri* se obtuvieron buenos resultados, con un 50 % de inhibición en todas las dosis. El hecho de que un extracto vegetal supere en actividad a un producto químico ha sido informado por otros autores. Mesén (2005) reporta que el extracto de *Equisetum giganteum* es capaz de mostrar un control efectivo sobre el tizón tardío de la papa (*Phytophthora infestans*) con un porcentaje final de 55 % a diferencia del control fungicida comercial que fue de un 40 %.

Es importante señalar que existe una regularidad en las respuestas de tres de los hongos evaluados frente a la dosis superior del extracto, con los menores porcentajes de inhibición micelial. (Figuras 1 y 2)

En la primera se observa que con las tres dosis del extracto se obtienen respuestas similares durante los primeros tres días. Sin embargo, a partir de este momento, frente a las dos especies de *Alternaria*, las dosis 1 y 2 incrementan el efecto inhibitorio mientras que en la curva que describe la dosis 3 se observa una zona de meseta en el gráfico (A) que indica cierta estabilidad alrededor

Tabla 1. Efecto del extracto de *Tagetes erecta* en el crecimiento de los hongos

Tratamientos	Inhibición %± S (Significación $\alpha=0,01$)			
	<i>A. porri</i>	<i>A. solani</i>	<i>C. fulvum</i>	<i>C. beticola</i>
Zineb	100 ± 0 (a)	27.4 ± 0 (c)	69.66 ± 2.64(a)	71.96±1.95 (b)
Dosis 1	67 ± 4.94 (b)	72 ± 2.34 (a)	71.04 ± 8.10(a)	100 ± 0 (a)
Dosis 2	69 ± 1.87 (b)	74 ± 1.78 (a)	69.05± 6.4 (a)	100 ± 0 (a)
Dosis 3	52.4 ± 1.94 (c)	60.4 ± 0.89 (b)	31.26 ± 2.94(b)	100 ± 0 (a)

Letras desiguales en las columnas difieren para $P \leq 0,05$

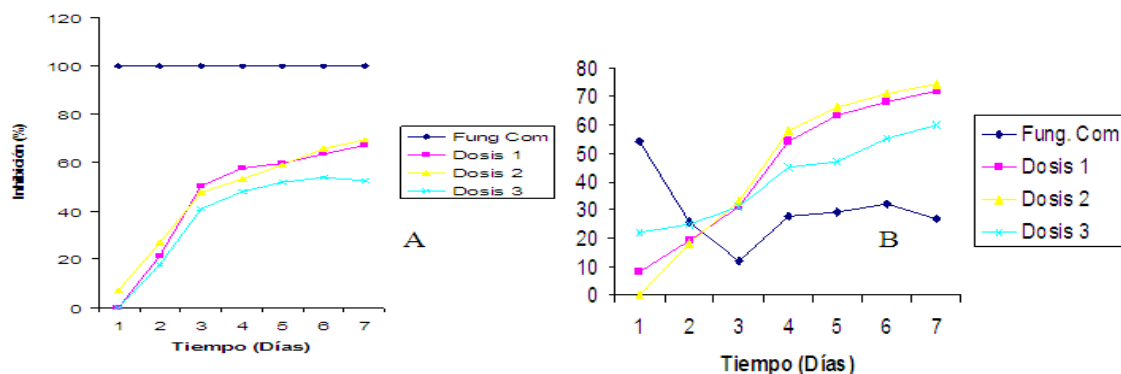


Figura 1. Dinámica de inhibición del crecimiento de *Alternaria porri* (A) y *A. solani* (B)

de un valor de inhibición; para *A. solani*, aunque no se describe una zona de meseta, el valor absoluto de inhibición es inferior con respecto a los demás tratamientos.

En la Figura 2, para el crecimiento de *C. fulvum* se puede apreciar a las dosis 1 y 2 del extracto vegetal y al fungicida comercial, a partir del tercer día, sus curvas describen una meseta, que indica que el crecimiento se mantuvo estable, sin incrementos notables. Las colonias de la dosis 3, siguieron creciendo en el tiempo, es decir que esta dosis provocó un menor efecto inhibitorio.

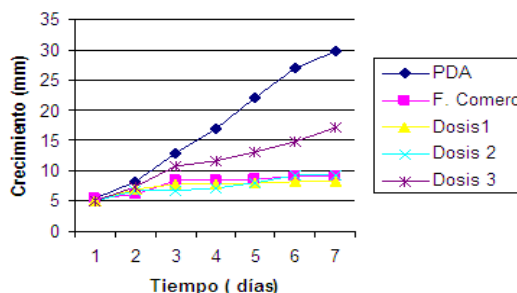


Figura 2. Crecimiento de *Cladosporium fulvum*

erecta frente a seis hongos; con porcentajes de inhibición entre 13 y 88 %.

Tal situación puede deberse a las características de la hoja como órgano vegetativo, relacionado con la nutrición de la planta. Muñoz (1996) señala que la hoja constituye la parte de la planta mayormente empleada para la obtención de metabolitos de interés y donde se producen la mayor parte de heterósidos y alcaloides. Debido a esta riqueza de sustancias potencialmente presentes en las hojas, es posible que en ella se encuentren sustancias que sean activas como inhibitorias del crecimiento micelial de algunos hongos, otras por el contrario, estimuladoras y otras indiferentes. No existiendo entre ellas una relación directamente proporcional.

Singh *et al* (2003) informan el efecto inhibitorio del crecimiento micelial del aceite de hojas de *Tagetes*

Estos resultados confirman a esta planta como una alternativa valiosa para la obtención de compuestos de acción antifúngica. Gómez y Zavaleta (2001) refieren que esta especie es ampliamente reconocida por sus propiedades fungicidas, además de nematocidas e insecticidas y sus resultados muestran que su empleo ha resultado en reducciones significativas de algunos problemas fitosanitarios en varios cultivos. Serrato (2004) informa que esta especie es efectiva para el control de enfermedades humanas causadas por hongos.

El extracto obtenido de hojas de *Tagetes erecta* tiene un color carmelita-grisáceo y observado a trasluz es transparente; su olor es muy fuerte, penetrante y, al igual que el de la planta, desagradable. El extracto es insípido aunque puede apreciarse un sabor amargo

durante instantes que provoca gran secreción salival. El Índice de refracción es de 1,326 y el pH 5,33. Con el tamizaje fitoquímico se determinó la presencia de Resinas (+), Alcaloides (++) , taninos pirogalotánicos, cumarinas (++) y azúcares reductores (+).

CONCLUSIONES

1. El extracto de hojas de *Tagetes erecta* mostró buena efectividad en el control del crecimiento micelial de *A. porri*, *A. solani*, *C. fulvum* y *C. beticola* en condiciones “in vitro”.
2. Con las dosis de 1 y 2 g/L del extracto se obtuvieron los mejores resultados.
3. El tamizaje fitoquímico arrojó la presencia de Resinas (+), Alcaloides (++) , taninos pirogalotánicos, cumarinas (++) y azúcares reductores (+).

BIBLIOGRAFÍA

1. ÁLVAREZ, D.: Influencia de la aplicación de algunas sustancias de origen botánico en el comportamiento de plagas del tomate (*Lycopersicon esculentum*). Trabajo de Diploma. Universidad de Granma, Facultad de Ciencias Agrícolas, 2005.
2. CARVALHO, G. J. A.; M. G. CARVALHO; D. T. FERREIRA; T. J. FARIA Y R. BROZ – FILHO.: “Diterpenos, Triterpenos y Esteroides Das flores de *Wedelia paludosa*”. Quim. Nova. Vol. 24, No.1: 24. 2001.
3. CRUZ, M. A. S.; D. REYES, L. ORTEGA Y A. DOMÍNGUEZ. Anisillo (*Tagetes filifolia* Lag.): recurso genético mexicano para controlar la mosquita blanca (*Bemisia* sp.)”. *Rev. Jardín Botánico Nacional*. 24 (1-2): 65-70. 2003.
4. GÓMEZ, O. Y E. ZAVALA: La asociación de cultivos como estrategia para el manejo de enfermedades, en particular con *Tagetes* spp. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 19: 94- 99, 2001.
5. IJANI, A., B. MABAGALA Y S. MSOLLA: Efficacy of different control method applied separately and in combination in managing root-Knot nematode (*Meloidogyne* spp.) in common beans. *European Journal of Plants Pathology*. 106: 1 - 10, 2000.
6. LENTZ, L. D.; A. CLARCK AND CH. HUFORD: “Antimicrobial properties of Honduran Medicinal Plants. *Journal of Ethnopharmacology*. 63: 255-263, 1998.
7. MESÉN, R. Manejo integrado del Tizón tardío (*Phytophthora infestan*) con extractos naturales y fungicidas químicos en el ASA. I Congreso de Agricultura Conservacionista. En <http://www.potato.org>. 2005.
8. MESSIAEN, C. M Y R. LAFON: Enfermedades de las hortalizas. Ediciones Vilssar de Mar, Barcelona, España. 361 pp, 1967.
9. MINAGRI. Centro Nacional de Sanidad Vegetal. Programa de Defensa Fitosanitaria para Hortalizas: tomate, pimiento, col, ajo y cebolla. Departamento de Programas de Defensa.2002
10. MUÑOZ, F. *Plantas medicinales y aromáticas: estudio, cultivo y procesado*. Edit. Mundi-prensa, España, 1996.
11. NEMRATA, P.; P. K. MITTAL, O. P. SINGH Y D. V. SAGAR. “Larvicidal action of essential oils from plants against the vector mosquitoes *Anopheles* (L), *Culex quiquefasciatus* (S) and *Aedes aegyti* (L). *Int. Post. Control*. 42(2): 53-55. 2000.
12. PEÑA, A; J. RAMÍREZ, L. R. CHÁVEZ, M. ALMEIDA, M. RAMOS, D. VEGA, A. RODRÍGUEZ Y E. TORRES: *Algunas consideraciones sobre el empleo de productos naturales en la medicina natural*. Monografía. Universidad de Granma. Bayamo M.N. 2002.
13. RAHMANN, A.; M. I. CHOUDHARY AND W. J. THOMSON. *Bioassay Techniques for Drug Development*. Harwood Academic Publisher is an imprint of the Gordon and Breech Publishing Group. Pp. 14 – 25. 2001.
14. RICHARD, J. Y P. CANNELL. *National products isolation*. Edit. Humana press. Titonia. New Jersey.1998.
15. SERRATO, M. A. Diversidad biológica y usos. Ciencia y desarrollo en Internet. En <http://www.conacyt.mx>. 2004.
16. SINGH, G.; O. PRAKOSH; M. P. LAMPARSONA AND C. A. N. CATALÁN: “Studies on essential oils. Chemical and biocidal investigations on *Tagetes erecta* leaf volatile oil” *Flavours and Fragrance Journal* 18: 62- 65. 2003.

Recibido: 16/Marzo/2007

Aceptado: 19/Julio/2007