

ALELOPATÍA Y SUSTANCIAS BIOACTIVAS

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

Effect of leaf crude extract from *Tagetes erecta* on control of four pathogen fungi of horticultural crops *in vitro* conditions

Yoannia Pupo Blanco^{1*}, Lidcay Herrera Isla², Belyanis Vargas Batis¹, Yaidelín Marrero Aliaga¹, Raquel Arévalo Arévalo³ y Caridad Jiménez Artiaga¹.

1. Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad de Granma. Carretera a Manzanillo km 17 ½. Bayamo, Granma. CP 85 100, Cuba.

2. Centro de Investigaciones Agropecuarias. Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, Cuba.

3. Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal, Granma, Cuba.

E-mail: yonni@udg.co.cu

RESUMEN. En el trabajo se realizó tamizaje fitoquímico al extracto crudo obtenido de hojas de *Tagetes erecta* y se evaluó su efecto a diferentes dosis (1, 2, 3 mg. mL⁻¹) en el crecimiento *in vitro* de *Alternaria porri*, *Alternaria solani*, *Cladosporium fulvum* y *Cercospora beticola*, hongos aislados a partir de material de campo. Se calculó el porcentaje de inhibición alcanzado con respecto al control sin producto al séptimo día de incubación y se graficó el efecto provocado en el crecimiento diario de las colonias ocurrido durante una semana. El tamizaje fitoquímico mostró la presencia de resinas, alcaloides, taninos pirogalotánicos, cumarinas y azúcares reductores en el extracto. En cuanto a la actividad biológica, con las dosis de 1 y 2 mg. mL⁻¹ se obtuvieron porcentajes de inhibición por encima del 65 %, superiores a los alcanzados con el zineb (fungicida comercial) en tres de los hongos evaluados.

Palabras clave: *Alternaria porri*, *Alternaria solani*, *Cercospora beticola*, *Cladosporium fulvum*, extracto vegetal, *Tagetes erecta*.

ABSTRACT. In this work it is carried out a phytochemical study to the crude extracts obtained from leaves of *Tagetes erecta* L., and the effect of these, at different doses (1, 2, 3 mg. mL⁻¹), in the growth "in vitro" of *Alternaria porri*, *Alternaria solani*, *Cladosporium fulvum*, and *Cercospora beticola* was evaluated. Fungi were isolated from field material. Inhibition percentage to the seventh day of incubation was calculated with regard to the control without product; besides, it was made graphic for the caused effect of extract in the daily growth of the colonies happened during one week. The results of phytochemical study revealed the presence of resins, alkaloids, tannins, coumarins, and reducers sugars in the extract. About biological activity, with the doses of 1 and 2 mg. mL⁻¹ were obtained superior inhibition percentages to 65%, higher than those obtained for zineb (commercial fungicide) for three of the evaluated mushrooms. **Palabras clave:** *Alternaria porri*, *Alternaria solani*, *Cercospora beticola*, *Cladosporium fulvum*, extracto vegetal, *Tagetes erecta*,

Key words: *Alternaria porri*, *Alternaria solani*, *Cercospora beticola*, *Cladosporium fulvum*, plant extract, *Tagetes erecta*.

INTRODUCCIÓN

La necesidad de proteger los cultivos y el medio ambiente ha favorecido la generación de diversas estrategias que implican la reducción del uso de productos químicos y el mayor empleo de procesos y productos biológicos en los sistemas agrícolas (Bettioli y Ghini, 2003). El género *Tagetes* posee sustancias aromáticas relacionadas con la presencia de 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

nematicida (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. Realizar un tamizaje fitoquímico del extracto de hojas de *T. erecta* y evaluar el efecto de este 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) constituyó el objetivo de este trabajo.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en el Laboratorio de Sanidad Vegetal de la Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad de Granma en el período comprendido de enero a julio de 2007. El material vegetal fue colectado en horas de la mañana en los alrededores del Centro. Se herborizaron tres ejemplares, los cuales fueron depositados en la colección del Laboratorio de Botánica de dicho lugar. El secado de las hojas se efectuó en estufa a 35 °C, luego se molinó de forma manual y se tamizó el tamaño de las partículas a 2,5 mm. El extracto se preparó al 10 % en masa (10 g en 100 mL de solvente) por el método de percolación con etanol al 70 % durante siete días. De 100 g de masa fresca se obtuvo un rendimiento de $28,6 \pm 2,47$ g de masa seca y de 10 g de masa seca se extrajeron $1,29 \pm 0,26$ g de sólidos solubles en el solvente. El tamizaje fitoquímico se realizó según Cannell (1998). El pH fue medido en potenciómetro modelo Hanna pH 211 y el índice de refracción en un refractómetro AB.

Se obtuvieron cultivos monospóricos a partir de los siguientes materiales colectados en el organopónico de la ciudad de Bayamo: *A. solani* y *C. fulvum* de *Lycopersicum esculentum* L. var. Vyta; *A. porri* de *Allium cepa* L. var Yellow Granex y *C. beticola* de *Beta vulgaris* var Rojiverda.

El método de bioensayo fue el de dilución en agar (Rahmann *et al.*, 2001). Los tratamientos consistieron en la utilización de tres dosis del extracto 1, 2, 3 mg/mL, un control químico (zineb, 0,2 mg/L) y un control absoluto (medio de cultivo sin productos). La solución madre del extracto se esterilizó por filtración a través de filtro bacteriológico de membrana de tamaño de poro de 0,1 μ . El medio de cultivo fue agar papa dextrosa (PDA), a pH 5,8, fue esterilizado en autoclave a 121 °C y 1,2 atmósferas durante 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.

Los bioensayos se montaron sobre un diseño completamente aleatorizado. Se utilizaron discos de 5 mm de diámetro obtenidos del cultivo del hongo axénicos con 10 días de edad. Los hongos se

mantuvieron en incubadora a 27 ± 2 °C durante siete días con un fotoperíodo de 12 h de luz-12 h de oscuridad. Al séptimo día se realizó la medición del diámetro de la colonia con un pie de rey y se calculó el porcentaje de inhibición micelial con respecto al control según Singh (2003).

Se procesaron los datos mediante un análisis de varianza de clasificación simple con el Programa Statistica versión. 6.1(2003) y para la comparación de medias se utilizó la Prueba de Tuckey con un nivel de significación de 0,01.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El extracto obtenido de hojas de *Tagetes erecta* tiene un color marrón - grisáceo, olor penetrante y sabor ligeramente amargo. El tamizaje fitoquímico evidenció la presencia de resinas (+), alcaloides (++) , taninos pirogalotánicos, cumarinas(++) y azúcares reductores(+). Índice de refracción: 1,326, pH: 5,33.

Al séptimo día de incubación (tabla 1), el extracto ejerció una inhibición del crecimiento de los hongos que superó el 50 %, con la excepción de la dosis de 3 mg/mL frente a *C. fulvum* donde sólo alcanzó un 31% de inhibición. Todas las dosis ensayadas contra *A. porri*, *A. solani* y *C. beticola* ocasionaron una inhibición superior que el Zineb y con *C. fulvum* las dosis de 1 y 2 mg/ mL resultan semejantes en actividad al fungicida comercial.

La no existencia de diferencias significativas entre los valores de inhibición obtenidos con las dosis de 1 y 2 mg/mL en todos los hongos y el hecho de que la dosis superior del extracto provocó, en tres de los hongos evaluados, menores porcentajes de inhibición micelial recomiendan la evaluación de dosis inferiores a las aquí ensayadas y sugieren que aunque el extracto crudo de *T. erecta* contiene sustancias antifúngicas posee además otras que pueden ser aprovechadas por los hongos evaluados o ser antagonistas de las anteriores, según la proporción en que se encuentren y determinado por la dosis.

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

Tratamientos	Crecimiento de la colonia (mm) / Inhibición del crecimiento (%) (séptimo día de incubación : Media ± S)							
	<i>A. solani</i>		<i>A. porri</i>		<i>C. fulvum</i>		<i>C. beticola</i>	
PDA	66 ± 0,9	-----	72 ± 2,2	-----	29±1,0	-----	65±3,3	-----
Zineb	48 ± 0,4	44±0,8 c	30 ± 0,5	49±1,1 b	9,0±0,9	72±1,4 a	39±1,7	39±1,8 b
Dosis 1	18 ± 1,6	72± 2,3a	24 ±3,2	67±4,9 a	7,4± 0,4	71± 8,1a	23±2,5	63± 2,1a
Dosis 2	17± 1,3	74± 1,7a	22 ±1,1	69± 1,8a	8,7±1,2	69± 6,4a	23±1,0	64± 2,1a
Dosis 3	26 ± 0,8	60±0,9 b	34 ± 0,8	52±1,9 b	17± 1,7	31± 2,9b	25±3,9	60± 1,3a

En las columnas tratamientos con letras desiguales difieren significativamente (p = 0,01)

La dinámica en el tiempo del efecto del extracto en los diferentes hongos se muestra en las figuras 1, 2, 3 y 4. Las dosis 1 y 2 ejercieron un efecto similar en *A. solani*, *C. fulvum* y *C. beticola* (figuras 1, 3 y 4); alrededor del tercer día de incubación comienza a detenerse el crecimiento de los hongos hasta observarse cero incremento durante varios días. Con respecto a *Alternaria porri* (figura 2), la

detención total del crecimiento sólo fue observada entre el sexto y séptimo días de incubación aunque, en los días precedentes, este hongo frente al extracto creció menos de 5 mm, con una diferencia importante respecto al control. En los gráficos también se percibe que los hongos presentaron mayor capacidad de crecer frente a la dosis superior del extracto.

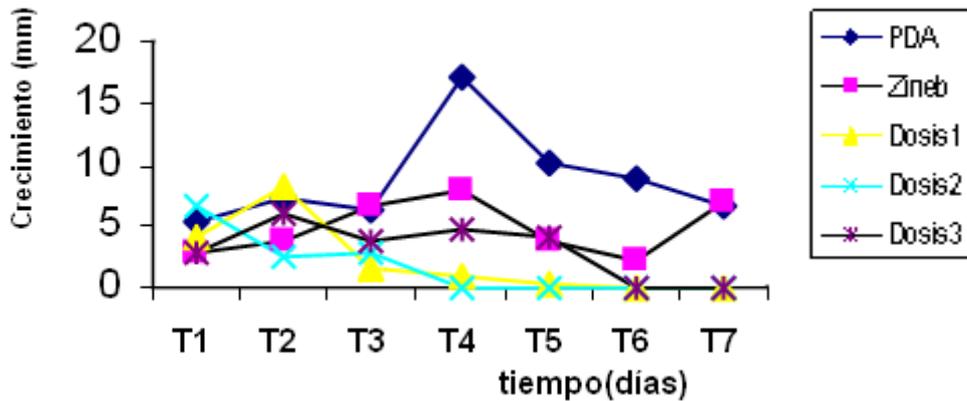


Figura 1. Efecto del extracto de hojas de *T. erecta* en el crecimiento de *A. solani*

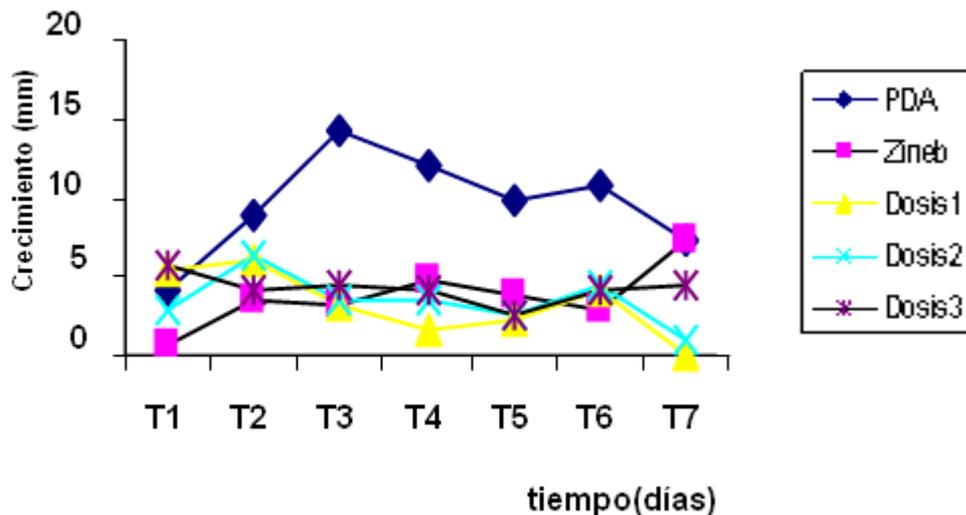


Figura 2. Efecto del extracto de hojas de *T. erecta* en el crecimiento de *A. porri*

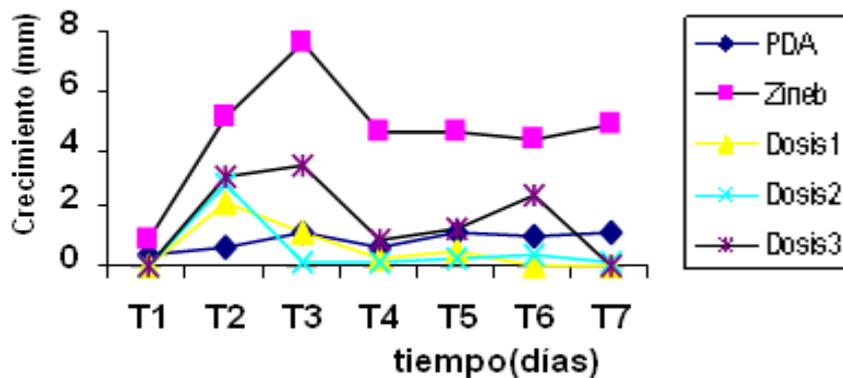


Figura 3. Efecto del extracto de hojas de *T. erecta* en el crecimiento de *C. fulvum*

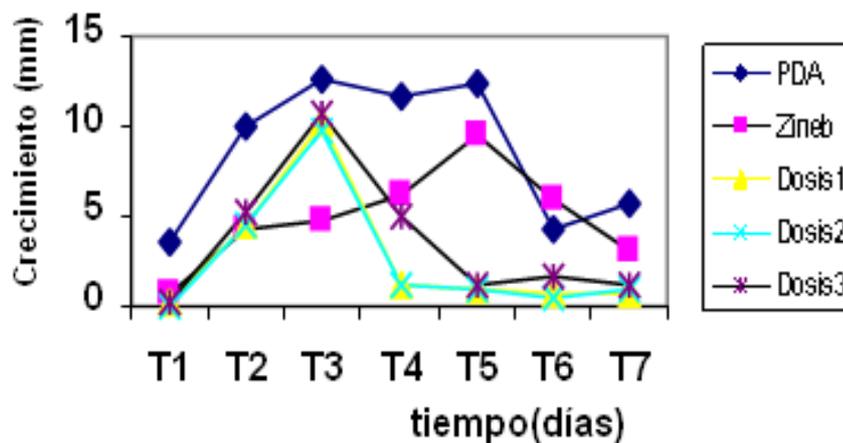


Figura 3. Efecto del extracto de hojas de *T. erecta* en el crecimiento de *C. beticola*

Estos resultados inclinan a pensar que el extracto crudo de *T. erecta* contiene sustancias antifúngicas pero, posee además otras que pueden ser aprovechadas por los hongos evaluados o ser antagonistas de las anteriores, según la proporción en que se encuentren y determinado por la dosis.

Aunque con la dosis de 3mg/mL el resultado obtenido aún sea satisfactorio, la citada disminución del efecto constituye un aspecto negativo pues, incrementos deliberados de la concentración pueden ejercer un efecto totalmente contrario al deseado de mantenerse la tendencia manifestada; a su vez esto permite recomendar la evaluación de dosis inferiores a las aquí ensayadas. No obstante, la planta puede

considerarse como promisoría en la búsqueda de fungicidas naturales. Un estudio anterior donde se emplearon aceites esenciales y de *Tagetes erecta* (Singh *et al.*, 2003) evidenció la presencia de sustancias inhibitorias del crecimiento de algunos hongos, las que ejercieron un efecto que estuvo en el rango de 13 a 88 %; de los siete hongos evaluados solo *Fusarium oxisporum* creció normalmente en presencia del aceite de la planta. Gómez y Zavaleta (2001) expresan que esta especie es ampliamente reconocida por sus propiedades fungicidas, nematocidas e insecticidas. Refieren además que la asociación de cultivos con la “flor de muerto”, como se le conoce vulgarmente, ha resultado en reducciones significativas de varios problemas fitosanitarios en diversos cultivos.

CONCLUSIONES

1. Con las dosis de 1 y 2 mg/mL del extracto se obtuvo un buen control del crecimiento de *A. porri*, *A. solani*, *C. fulvum* y *C. beticola* en condiciones *in vitro*, pero con una dosis superior disminuyó el efecto del extracto.

2. El tamizaje fitoquímico arrojó la presencia de varios metabolitos secundarios.

“Bioassay techniques for drug development.” Harwood Academic Publisher, USA, p. 17, 2001

7. Singh, G. P.; M.P. Lamparsona & C.A. Catalán.: “Studies on essential oils. Chemical and biocidal investigations on *Tagetes erecta* leaf volatile oil.” *Flavour and Fragrance Journal*, 18, 2003.

Recibido: 29/octubre/2007

Aceptado: 12/abril/2008

RECOMENDACIONES

Evaluar el efecto de dosis inferiores a 1 mg/mL en el control de estos hongos *in vitro*.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bettiol, W. & Ghini, R. Proteção de plantas em sistemas agrícolas alternativos. En Campahola, C.; Bettiol, W (ed). *Métodos alternativos de control fitosanitario*. Jaguariúna, EMBRAPA Meio Ambiente, Brasil; p 80, 2003.

2. Cannell, R. *Natural products isolation*. Humana Press Inc. New Jersey, USA, p. 354-359, 1998.

3. Cruz, M.; D. Reyes; L. Ortega & A. Domínguez. “Anisillo (*Tagetes filifolia* Lag.): recurso genético mexicano para controlar la mosquita blanca (*Bemisia* sp.)”. *Revista del Jardín Botánico Nacional*, 24(1-2): 65-70, 2003.

3. Gómez, O. & E. Zavaleta: “La asociación de cultivos como estrategia para el manejo de enfermedades, en particular con *Tagetes* spp.” *Revista Mexicana de Fitopatología*, 19: 94-99, 2001.

4. Ijani, A.; B. Mabagala & M. 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.

5. Nemrata, P.; P. K. Mittal; G. P. Singh & D. V. Sagar. “Larvicidal action of essential oils from plants against the vector mosquitoes *Anopheles* (L), *Culex quiquefasciatus* (S), and *Aedes aegyti* (L)”. *Pest Control*, 42(2): 53-55, 2000.

6. Rahman, A.; M. Choudhary & W. Thomsen: