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

Yoannia G. Pupo , L. Herrera, B. Vargas, Y. Marrero, R. Arévalo y M. C. Jiménez.
Universidad de Granma, Universidad Central de Las Villas y Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal, Granma.

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 a diferentes dosis en el control in vitro de *Alternaria porri*, *A. solani*, *Cladosporium fulvum* y *Cercospora beticol*a, 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.

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, o por lo menos disminuir su empleo considerablemente. Lentz et al (1998) plantea que el trópico representa una región particularmente fértil como reservorio de compuestos orgánicos de bajo peso molecular; los cuales han sido resultado de una intensa presión predatoria de microbios, insectos y otros organismos multicelulares.

La familia *Asteraceae* aparece en un gran número de referencias como poseedora de propiedades medicinales (Carvalho et al, 2001). El género *Tagete*s posee sustancias aromáticas que lo distinguen de otros grupos, relacionados con la presencia de aceites esenciales lo que abre la posibilidad de 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.

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. Se realiza además tamizaje fitoquímico del extracto.

Materiales y métodos.

El trabajo se realizó en el período comprendido de enero a julio de 2006. El material vegetal fue colectado en horas de la mañana en los alrededores de la Universidad de Granma, Bayamo. Se herborizaron tres ejemplares, los cuales fueron depositados en la colección del laboratorio de Botánica de este centro de estudios. El secado de las hojas se efectuó en estufa a 35 0 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 0 C y 150 r/m. revoluciones por minuto.

Se obtuvieron cultivos monospóricos a partir de los siguientes materiales colectados en el organopónico " Hogar de ancianos" de la ciudad de Bayamo: *A. solani* y *C. fulvum* de *Lycopersicum esculentum* L. *var. Vita*; *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 g. L-1 (Dosis 1, 2 y 3, respectivamente), un control positivo (Zineb, 0. 1 g L-1) y un control negativo (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 PDA, luego de ser ajustado su pH a 5.4 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 a 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 crecido en placas con 7 días de edad. Cada 24 horas 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 siguiente fórmula:

Inhibición micelial (%) = [(dc - dt)/ dc] × 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 Statistica versión 5 del año 1997. Los datos en las tablas se expresan como la media ± desviación estándar de la media. Se consideraron diferencias significativas para alpha<0.05 y altamente significativas para alpha<0.01. Como prueba de comparación de medias se emplea el Método de Scheffé. Los gráficos se realizaron con el programa Excel del Office de Windows 2000.

Se realizó tamizaje fitoquímico según Richard y Cannell (1998) y Peña et al (2002).Se utilizó la simbología descrita por el último para referir los resultados.

El pH fue medido en Microprocesador pH meter Hanna pH – 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.

La Tabla 1 muestra que con el fungicida comercial empleado solo se obtuvo 100% de inhibición del crecimiento de *A. porri*, lo cual puede estar relacionado con el origen de las cepas donde resulta frecuente el uso de este producto. MINAGRI (2002) recomienda el empleo del

zineb como agente de control de estos patógenos en condiciones de campo. La menor efectividad del producto frente a *A. solani* ya ha sido discutido por otros autores. Mesiaen y Lafon (1967) señalan que *A. solani* es muy resistente a los fungicidas y dentro de estos, los que ofrecen mejores resultados en su control son los ditiocarbamatos.

El mayor porcentaje de inhibición micelial debido a la acción del extracto vegetal se obtuvo con el hongo *C. beticola*, con un 100 % en todas las dosis ensayadas. Frente a *A, solani* se obtuvieron mejores resultados que con el fungicida comercial empleado y no hubo diferencias significativas, en las respuestas de *C. fulvum* cuando fue expuesto a las dosis 1 y 2 del extracto y al zineb, siendo el porcentaje de inhibición superior al 69%. También con el hongo *A. porri* se obtuvieron resultados alentadores, pues el porcentaje de inhibición en todas las dosis superó el 50 %. Mesén (2005) reporta que el extracto de *Equisetum giganteum* es capaz de mostrar un control efectivo del tizón tardío de la papa (*Phytophtora infestan*) con un porcentaje final de 55% a diferencia del control *fungicida comercial*) que fue de un 40%.

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

Tratamientos	Inhibición %± S (Significación)			
	A. porri	*A. solani*	*C.fulvum*	*C.beticola*
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)

Resulta importante señalar que existe una regularidad en las respuestas de tres de los hongos evaluados frente a la dosis superior del extracto, con la cual se obtiene los menores porcentajes de inhibición micelial. La dinámica en el tiempo de este hecho se puede apreciar en las Figura 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 de un valor de inhibición; en el caso B (*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 que muestra el crecimiento en el tiempo de las colonias de *C. fulvum* frente a los diferentes tratamientos se puede apreciar que en aquellas expuestas a las dosis 1 y 2 del extracto vegetal y al fungicida comercial., a partir del tercer día, sus curvas describen una recta casi paralela al eje de las accisas, que indica que el crecimiento se mantuvo estable, sin incrementos sustanciales. Las colonias del tratamiento correspondiente a la dosis 3, aunque con menor velocidad, (según pendiente de la curva) siguió creciendo en el tiempo, es decir que esta dosis provocó un menor efecto inhibitorio.

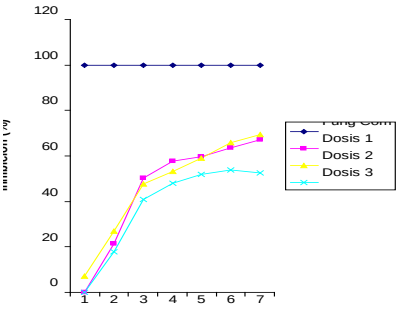
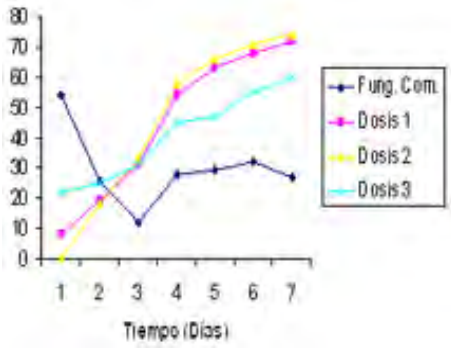


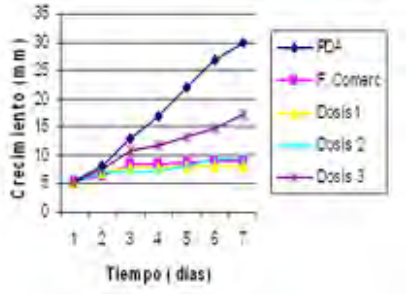
Figura 1. Dinámica de inhibición del crecimiento de *Alternaria porri* (A) y *A. solani* (B).

Tal situación puede deberse a las características de la hoja como órgano vegetativo, relacionado di-



rectamente 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, no es absurdo pensar que en tal matriz se encuentren sustancias que sean activas como inhibitorias del crecimiento micelial de algunos hongos, Figura 2. Crecimiento de *C. fulvum* otras sean, por el contrario, estimuladoras y otras indiferentes. No existiendo entre ellas una relación directamente proporcional.

Singh et al (2003) informa acerca



del efecto inhibitorio del crecimiento micelial del aceite de hojas de *Tagetes erecta* frente a seis hongos; los porcentajes de inhibición estuvieron en el rango de 13 a 88 %. De los hongos evaluados solo *Fusarium oxisporum* creció normalmente en presencia del aceite de la planta.

Los resultados obtenidos con el extracto de hojas de *T. erecta* en este trabajo confirman a esta planta como una alternativa valiosa para la obtención de compuestos de acción antifúngica. Plantean Gómez y Zavaleta (2001) que esta especie es ampliamente reconocida por sus propiedades fungicidas, además de nematicidas e insecticidas. Refiere 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 varios cultivos. Serrato (2004) informa que la especie antes referida 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, es desagradable. El extracto es insípido aunque se puede apreciar un sabor amargo durante breves instantes que provoca gran secreción salival.

Índice de refracción: 1.326 pH: 5.33

Con el tamizaje fitoquímico se determinó la presencia de Resinas(+), Alcaloides (++) , taninos pirogalotánicos, cumarinas(++) y azúcares reductores(+).

Conclusiones.

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".

Con las dosis de 1 y 2 g L-1 del extracto se obtuvieron los mejores resultados.

El tamizaje fitoquímico arrojó la presencia de Resinas (+), Alcaloides (++) , taninos pirogalotánicos, cumarinas (++) y azúcares reductores (+).

Recomendaciones.

Realizar bioensayos con hojas separadas o plantas completas (según cultivos) en condiciones semi – controladas.

Determinar las fracciones más activas del extracto frente a cada hongo.

Referencias bibliográficas.

Álvarez, D. Influencia de la aplicación de algunas sustancias de origen botánico en el comportamiento de plagas del tomate (Licopersicum sculentum). Trabajo de Diploma. Universidad de

Granma. Facultad de Ciencias Agrícolas. 2005.

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.

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.

Gómez, O. y E. Zavaleta. La asociación de cultivos como estrategia para el manejo de enfermedades, en particular con Tagetes spp. Revista Mexicana de Fitopatología. Vol. 19. pp. 94 – 99.2001

Ijani, A., B. Mabagala y S. Msolla." Eficacy 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.

Lentz, L. D.; A. Clarck; Ch. Huford. "Antimicrobial properties of Honduran Medicinal Plants. Journal of Ethnopharmacology. 63: 255 – 263. 1998.

Mesén, R. Manejo integrado del Tizón tardío (Phytophtora infestan) con extractos naturales y fungicidas químicos en el cultivo de la papa en tierra blanca de Cártago. MINAGRI. ASA. I Congreso de Agricultura Conservacionista. En http://www.potato.org. 2005.

Messiaen, C. M y R. Lafon. Enfermedades de las hortalizas. Ediciones Vilssar de Mar – Barcelona – España. 361 p. 1967.

MINAGRI. Centro Nacional de Sanidad Vegetal. Programa de Defensa Fitosanitaria para Hortalizas: tomate, pimiento, col, ajo y cebolla. Departamento de Programas de Defensa.2002

Muñoz, F. Plantas medicinales y aromáticas: estudio, cultivo y procesado. Edit. Mundi-prensa. España.1996.

Nemrata, P.; P. K. Mittal, O. P. Singh y D. V. Sagar. "Larvicidal action of essencial oils from plants against the vector mosquitoes Anepheles (L), Culex quiquefasciatus (S) and Aedes aegyti (L). Int. Post. Control. 42(2): 53 – 55. 2000.

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. Año 2002.

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.

Richard, J. y P. Cannell. National products isolation. Edit. Humana press. Titonia. New Jersey.1998.

Serrato, M. A. Diversidad biológica y usos. Ciencia y desarrollo en Internet. En http://www.conacyt.mx. 2004.

Singh, G.; O. Prakosh; M. P. Lampersona 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.