

Concentraciones e intervalos de aplicación del aceite esencial de *Tagetes lucida* Cav. contra *Nacobbus aberrans*

Johana Zarate-Escobedo¹

Elba Lidia Castañeda-González²

Jesús Axayácatl Cuevas-Sánchez¹

Calixto Leopoldo Carrillo-Fonseca¹

Edgar Eduardo Mendoza-García³

Miguel A. Serrato-Cruz^{1§}

¹Universidad Autónoma Chapingo. Carretera México-Texcoco km 36.5, Chapingo, Estado de México. CP. 56230. (johan.quiahuitl@hotmail.com; jaxayacatl@gamil.com; cacafo54@hotmail.es; satur9s@hotmail.com; serratocruz@gmail.com). ²Fundación Salvador Sánchez Colín CICTAMEX SC. Ignacio Zaragoza núm. 6, Coatepec de Harinas, Estado de México. CP. 51700. cgelidia@hotmail.com. ³Centro de Bachillerato Tecnológico Agropecuario (CBTa) núm. 10. Prolongación 6^{ta} norte S/N, colonia el Dispensario, Santiago Pinotepa Nacional, Oaxaca. CP. 71600. mendoza.edgar@colpos.mx.

§Autor para correspondencia: serratocruz@gmail.com.

Resumen

La escasa información sobre los efectos del aceite esencial de *Tagetes lucida* contra nematodos y la riqueza de poblaciones nativas de esta especie vegetal en algunas áreas en el Estado de México resultan condiciones favorables para derivar insumos naturales inocuos de esta especie que posibiliten enfrentar problemas de agallamiento por *N. aberrans* en la producción de jitomate. El objetivo de este estudio fue evaluar en condiciones de invernadero la aplicación de aceite de *T. lucida* de una población natural de Ixtapan de la Sal, Estado de México en la formación de agallas por *N. aberrans* en plántulas de jitomate. El aceite esencial se extrajo por hidrodestilación a nivel piloto con rendimiento en peso seco de 0.4% (mL 100 g⁻¹) y se analizó por CG/EM identificando los compuestos mayoritarios siguientes: acetato de geranilo (40.8%), β -ocimeno (15.1%), nerolidol (8.1%), β -cubebeno (5.1%) y cariofileno (5.2%). Plántulas de jitomate en maceta se inocularon con *N. aberrans* (10 mL kg⁻¹ de sustrato) y se les dosificaron concentraciones de aceite desde 0.01 hasta 10 mg mL⁻¹, como tratamientos preventivos y de control, en intervalos de aplicación de aceite de 1, 2 y 3 semanas. La inhibición del agallamiento de la raíz fue consistente en el tratamiento de control (TC) que en el preventivo. En TC, concentraciones de aceite de 0.35 y 1 mg mL⁻¹ produjeron 63 a 80% de inhibición del agallamiento y se obtuvieron valores de CL₅₀ de 0.06 mg mL⁻¹ para los intervalos 1 y 2, y de 0.13 mg mL⁻¹ para el intervalo 3.

Palabras clave: *Tagetes lucida* Cav., *Nacobbus aberrans*, concentración de aceite, inhibición de agallamiento.

Recibido: enero de 2018

Aceptado: marzo de 2018

Introducción

El jitomate es una hortaliza que genera divisas para México (SIAP, 2014), también es el hospedante más afectado por nematodos, entre ellos *Nacobbus aberrans*, que ocasionan pérdidas de rendimiento de 36 a 55% en invernadero (Manzanilla *et al.*, 2002) y de 50 al 100% en campo (Mendoza, 1999). El control químico es el método más empleado, pero induce resistencia, además de eliminar enemigos naturales (Gutiérrez *et al.*, 2013). Por otra parte, los nematicidas son costosos y poco accesibles para pequeños productores; considerar que en las últimas décadas se ha reducido la disponibilidad de productos comerciales eficientes (Sorribas y Ornat, 2011).

Dada la importancia económica de esta hortaliza y las consecuencias de empleo de nematicidas, se están explorando alternativas, como el control biológico, la resistencia genética y el uso de sustancias vegetales. El empleo de extractos acuosos y aceites esenciales, por sus propiedades citotóxicas, son insumos potenciales para control de plagas y enfermedades (Isman, 2000), en particular, los aceites esenciales tienen un uso promisorio en el control de nematodos (Andrés *et al.*, 2012).

Aunque en México existe una gran diversidad vegetal, se desconocen las propiedades biológicas de varias plantas que pudieran ser útiles en el control de nematodos (Silva *et al.*, 2005). Las familias botánicas por la presencia de aceites esenciales son: Asteraceae, Lamiaceae, Lauraceae, Labiateae, Myrtaceae, Poaceae, Rutaceae, Turaceae y Umbeliferae (Andrés *et al.*, 2012), pero Asteraceae es la más estudiada y reconocida como fuente de compuestos con propiedades plaguicidas (Choi *et al.*, 2003). Asteraceae representa el 18.3 % del total de especies que conforman la flora de México (Villaseñor *et al.*, 2005), en esta familia destaca el género *Tagetes* por su potencial alelopático contra los nematodos parásitos de plantas, documentado desde hace más de 75 años (Steiner, 1941).

Al respecto, Tyler (1938) informa que 29 especies de *Tagetes* no son atacadas por nematodos agalladores de *Meloidogyne* spp., debido que las excreciones que produce la raíz reducen la incidencia de nematodos en el suelo, contienen tiofenos, compuestos poliacetilénicos que son metabolitos secundarios responsables del efecto biológico (Marotti *et al.*, 2010). Debido a estas propiedades químicas de *Tagetes*, plantas de este género se utilizan como cultivo intercalado, imbricado, cobertera o en rotación con otras especies de importancia económica para control de nematodos (Serrato y Argomedo, 1993); por otra parte, se está planteando el aprovechamiento de los aceites esenciales de *Tagetes* como insumo aplicable contra nematodos, toda vez que este recurso natural es abundante en México (Serrato, 2014). Al respecto, se tienen varias referencias del efecto del aceite esencial de *Tagetes* en nematodos; por ejemplo, se reporta que el aceite de *T. minuta* controla huevos y juveniles de *Meloidogyne incognita* (Adekunle *et al.*, 2007), *T. erecta* tiene efecto tóxico contra poblaciones de huevos de nematodos de *Haemonchus contortus* (Macedo *et al.*, 2013) y se evidenció el efecto nematicida del aceite de *T. zypaquiensis* (Álvarez *et al.*, 2016).

En particular *T. lucida* o pericón es una especie que se encuentra distribuida en México, en terrenos agrícolas como arvense o ruderal en elevaciones de 800 a 2 700 msnm (Villareal, 2003). El aceite esencial del pericón se puede utilizar como insecticida en larvas de *Aedes aegypti* L. (Vera *et al.*, 2014), coleópteros como *Sitophilus zeamais* (Nerio *et al.*, 2009) y adultos de *Tribolium castaneum* (Olivero *et al.*, 2013), como extracto obtenido con solventes posee efecto contra agentes bacterianos causantes de infecciones respiratorias (Caceres *et al.*, 1991) y gastrointestinales (Céspedes *et al.*, 2006) y con efecto en nematodos (Siddiqui y Alam, 1988; Omer *et al.*, 2015).

Estas últimas dos referencias son las únicas sobre el efecto de sustancias extraídas de *T. lucida* contra nematodos como *Meloidogyne incognita*, *Rotylenchulus reniformis*, *Tylenchorhynchus brassicae*, *Hoploimius indicus*, *Helicotylenchus indicus* y *Tylenchus filiformis*, pero el aceite de *T. lucida* no se ha evaluado contra este tipo de organismos. La composición química del aceite esencial de *T. lucida* se registra desde 1938, el estragol es el compuesto primeramente referido en el aceite de esta especie (Anonymous 1938; citado por Visbal *et al.*, 2010).

Este metabolito secundario, del grupo de los fenilpropanoides, se ha identificado como un compuesto en alto porcentaje (96.8% y 97.3%) para poblaciones de Cuba (Regalado *et al.*, 2011) y de Costa Rica (Ciccio, 2004), respectivamente; no obstante, además del estragol, se reportan otros fenilpropanoides mayoritarios en muestras de pericón de Guatemala, como el anetol y el metil eugenol (Bicchi *et al.*, 1997). La caracterización química de este recurso natural de México no se ha explorado suficientemente (Serrato, 2014).

En el Estado de México *T. lucida* está presente en 22 municipios (Discover Life, 2014), es una planta ceremonial y útil en medicina tradicional (García *et al.*, 2012). Considerando que son escasos los antecedentes sobre la actividad del aceite de esta especie contra nematodos y tomando en cuenta la disponibilidad natural del pericón en esa entidad, se planteó el objetivo de evaluar la actividad tóxica del aceite esencial de una población natural de pericón en la formación de agallas por *N. aberrans* en invernadero, con la finalidad de valorar si este recurso local, en dosis específica, influye el proceso de agallamiento en la raíz de plantas de jitomate, además de precisar la secuencia en la que este insumo vegetal se podría aplicar, aspecto metodológico poco referido en evaluaciones toxicológicas de este tipo.

Materiales y métodos

Tagetes lucida Cav. En la colonia La Joya 3 de Mayo Linda Vista del municipio Ixtapan de la Sal, Estado de México, coordenadas 18° 49' 31'' latitud norte y 99° 41' 18'' E, altitud 1 853 m y clima Cw₁(w)₁i'g, en octubre de 2014 se recolectaron tallos florales de plantas ruderales para la extracción de aceite esencial. Semillas de esta población vegetal se ingresaron al Banco Nacional de Germoplasma Vegetal (BANGEV) en el Departamento de Fitotecnia de la Universidad Autónoma Chapingo (UACH) (JZE-*Tateges*-001) y también se envió especímenes al Herbario-Hortorio "Jorge Espinosa Salas" del Departamento de Preparatoria Agrícola, UACH.

Jitomate (*Solanum lycopersicum* L.). Para los ensayos correspondientes se utilizó la variedad Río Grande de la marca Edena[®], variedad susceptible a nematodos. En charolas de unicel de 200 (2.5 x 2.5 x 6.5 cm) y como sustrato peat moss; se sembró una semilla por celda el 07 de mayo de 2015, el trasplante se realizó el 3 de junio del mismo año en macetas de plástico con capacidad de 1 L. Las plantas en maceta se establecieron en el área de invernaderos del Instituto de Horticultura, UACH.

Inóculo del nematodo

De plantas de jitomate establecidas en invernaderos de la Unidad de producción Tlapeaxco, Departamento de Irrigación, UACH se seleccionaron las infestadas para extracción de agallas por *N. aberrans*, de las cuales se obtuvo inóculo mediante la metodología descrita por Castaño (1998), con modificaciones de Carrillo (Carrillo, F. C. Com. Per.) mayo de 2015, Departamento de

Parasitología Agrícola, UACH). Para la inoculación de nematodos en las plantas de jitomate en maceta se usó 10 mL kg^{-1} de sustrato. El inóculo se aplicó 4 días después del trasplante (tratamiento preventivo) y también se aplicó cinco días después (tratamiento de control, 24 h después de la aplicación de aceite de *T. lucida*).

Extracción del aceite esencial

El traslado de los tallos florales desde el punto de recolecta hasta el área de trabajo (Bodega de la Fundación Salvador Sánchez Colín, CICTAMEX, SC. Coatepec de Harinas, Estado de México) para la destilación se llevó a cabo el mismo día. Para la extracción de aceite a nivel piloto se utilizaron 50 kg de planta que se cortó en trozos de 2 cm aproximadamente mediante una picadora mecánica; el tejido picado se llevó a un destilador de acero inoxidable con capacidad de 60 kg, la secuencia de manejo de la destilación la describen Serrato *et al.* (2014). A partir de las primeras gotas en el tubo de salida del condensador se dejó transcurrir 1 h de destilación, obteniendo un volumen de aceite esencial de 80 mL en 50 kg de masa vegetal.

Análisis cromatográfico de los aceites esenciales

La identificación de los compuestos se hizo por cromatografía de gases con detector de masas (Adams, 2000), mediante un cromatógrafo de gases CG 7890A (Agilent Technologies, USA) acoplado a un detector selectivo de masas 5975C Inert MSD con un detector triple eje (Agilent Technologies, USA), con ionización por impacto eléctrico (IE) de 70 eV; se utilizó una columna HP-5ms[®] (California, USA), empacada con 5% difenil-95% dimetilpolisiloxano (30 m x 0.25 mm Ø x 0.25 μm). Las temperaturas del inyector y del detector se mantuvieron a 250 °C y 280 °C, respectivamente, y se alcanzaron a una velocidad de 10 °C min^{-1} .

La temperatura del horno se inició en 70 °C, se mantuvo así 1 min y se programó para alcanzar las temperaturas y la velocidad antes señaladas. La velocidad de flujo del gas acarreador (helio) se mantuvo a 1 mL min^{-1} . Muestras diluidas (1/100) se inyectaron en acetona (v/v) de 1 μL , manualmente en modo “split” automático (para diluir) mediante un inyector 7683D (Agilent Technologies, USA). Los datos de abundancia relativa de cada compuesto se obtuvieron a partir del porcentaje total del área de todos los picos cromatográficos y luego dividiendo el área de cada pico entre el área total, el resultado multiplicado por 100.

Como compuestos mayoritarios se consideraron aquellos con más de 5% de abundancia relativa (Mora *et al.*, 2009) y elementos traza aquellos con menos de 5% de abundancia relativa. El intervalo de masas detectado fue de 35 a 500 m/z. Cuatro muestras se procesaron y la identificación de los componentes se realizó por comparación de los índices de retención relativa, más los espectros de masas comparados en la base de datos NIST 05 del sistema GC-MS (National Institute of Standard and Technology) y con los datos espectrales publicados por la Carol Stream Corp., USA (Adams, 2000).

Preparación y aplicación de las concentraciones del aceite esencial

A partir del aceite puro se elaboraron concentraciones de 0.01, 0.035, 0.1, 0.35, 1, 3.5 y 10 mg mL^{-1} (0.001 a 1%) por medio de diluciones subsecuentes. Para facilitar las diluciones del aceite en agua se añadió Tween[®] 20 al 0.1%, agitándolo manualmente, generando una emulsión. En el caso del testigo,

que correspondió a agua destilada, también se le agregó Tween® 20. La aplicación de las diferentes concentraciones obtenidas del aceite fue puntual; es decir, al pie de la plántula y aplicando 50 mL plántula⁻¹. Los tratamientos se aplicaron en dos formas: preventivo (tratamiento-inóculo) y de control (inóculo-tratamiento). Para el primero, las concentraciones se dispensaron a 96 h antes de la inoculación y para el segundo, 96 h después de la inoculación. En cada uno de estos escenarios experimentales, se implementaron tres diferentes intervalos de aplicación, a una, dos y tres semanas. En cada intervalo se aplicaron los tratamientos de aceite esencial y el testigo.

Diseño experimental

Para el establecimiento de los tratamientos (intervalo de aplicación y concentraciones) en cada forma de aplicación (preventivo y de control) se siguió el diseño de parcelas divididas en donde: parcela grande correspondió a los intervalos y parcela chica a las concentraciones. El testigo y los siete tratamientos se repitieron cinco veces, la unidad experimental fue una maceta por repetición.

Análisis estadístico

El número de plantas con agallas en la raíz fue una variable necesaria para obtener el porcentaje de inhibición del agallamiento, que se obtuvo por medio de la ecuación de Abbott (1925), se recurrió al análisis de varianza del porcentaje de inhibición utilizando el procedimiento GLM de SAS (1999) y también se recurrió a la comparación de medias mediante la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$). Los datos obtenidos en cada uno de los intervalos de aplicación se procesaron con la técnica de análisis Probit (SAS, 1999) para determinar las líneas de respuesta log dosis-Probit, y con ello los valores de la Concentración Letal Media (CL₅₀).

Resultados

Composición química del aceite esencial de *T. lucida*

En el aceite esencial de la población Ixtapan de *T. lucida* se identificaron 19 compuestos, cinco de ellos mayoritarios y el resto como trazas. Los compuestos mayoritarios fueron: acetato de geranilo (40.83%), β -ocimeno (15.14%), nerolidol (8.19%), cariofileno (5.29%) y β -cubebeno (5.17%) (Figura 1, Cuadro 1).

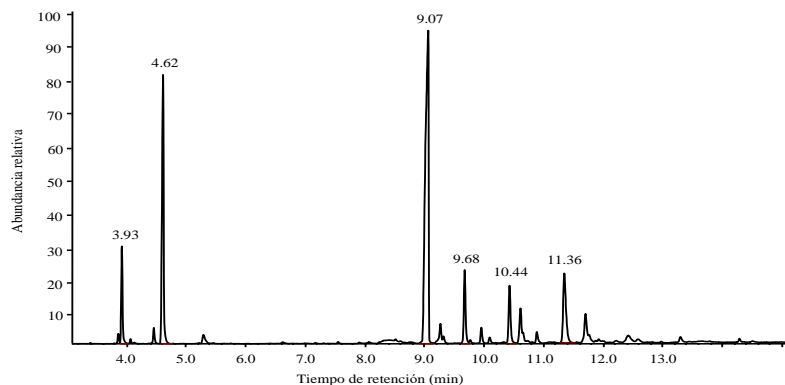


Figura 1. Cromatograma que muestra los picos de: β -mirceno (tiempo de retención, Rt, 3.93) β -ocimeno (Rt, 4.62), acetato de geranilo (Rt, 9.07), carifileno (Rt, 9.68), β -cubebeno (Rt, 10.44) y nerolidol (Rt, 11.36).

Cuadro 1. Composición química del aceite esencial de tallos florales de la población Ixtapan de T. lucida.

Pico	Compuesto	Tr	Área	(%)
1	β -Pinoeno	3.87	1 225 630	0.55
2	β -Mirceno	3.93	11 923 332	4.79
3	Acetato de alcohol de hojas	4.07	556 487	0.29
4	3,6,6-2-Norpineno	4.47	2 270 961	0.88
5	β -Ocimeno	4.62	41 693 860	15.14
6	Linalool	5.3	2 222 315	1.23
7	Acetato de geranilo	9.07	92 446 673	40.83
8	Humuleno-(v1)	9.28	3 692 376	1.57
9	[†] Biciclo [4.3.0]nonan-2-eno, 8-isopropylideno-	9.33	1 165 226	0.55
10	Cariofileno	9.68	11 650 343	5.29
11	Copaeno	9.78	473 212	0.21
12	Farneseno	9.97	2 449 168	1.27
13	α -Cariofileno	10.1	1 011 519	0.45
14	β -Cubebeno	10.44	10 046 965	5.17
15	γ -Elemeno	10.62	6 598 214	3.97
16	δ -Cadineno	10.89	2 055 984	0.86
17	Nerolidol	11.36	18 323 420	8.19
18	Óxido de cariofileno	11.71	6 250 778	1.68
19	tau-Cadinol	12.43	2 935 784	1.19

[†]= no se encontró nombre trivial.

Inhibición del agallamiento y concentración letal (CL₅₀)

En la condición de control, los tratamientos con aceite inhibieron el agallamiento en la raíz, tal inhibición en los tres intervalos fue en aumento a medida que se incrementó la concentración de aceite (Cuadro 2), las CL₅₀ en los intervalos de aplicación 1 y 2 fue la misma (0.06 mg mL⁻¹) y de casi el doble (0.13 mg mL⁻¹) en el tercer intervalo. En la condición de manejo preventivo no se apreció que la inhibición de las agallas estuviera asociada proporcionalmente con la concentración, por ejemplo, en el intervalo 1 no hubo diferencia entre tratamientos y el testigo, y en los intervalos 2 y 3, solamente con la concentración de 10 mg mL⁻¹ se observó diferencia con relación al testigo; una tendencia irregular que, en el caso del intervalo 3, dificultó calcular la CL₅₀ (Cuadro 2). En general, los resultados más consistentes en el valor de la CL₅₀ se tuvieron con el tratamiento de control, con un valor de la pendiente de la línea de regresión menor a 0.7, destacando las concentraciones de aceite esencial de 0.35 y de 1 mg mL⁻¹ para inhibición del agallamiento por *N. aberrans*.

Cuadro 2. Inhibición promedio (%) de agallamiento por *N. aberrans* a 52 días posteriores a la aplicación del aceite esencial de *T. lucida* en diferentes concentraciones a plántulas de jitomate y valor de la CL₅₀ según manejo de tratamientos e intervalos de aplicación.

Intervalo de aplicación (semanas)	Manejo preventivo		Manejo de control	
	Concentración (mg mL ⁻¹)	Inhibición (%)	Concentración (mg mL ⁻¹)	Inhibición (%)
1	10	68.97 a	10	94.03 d
	3.5	53.45 a	3.5	77.61 cd
	1	59.77 a	1	64.93 bcd
	0.35	40.23 a	0.35	63.43 bcd
	0.1	45.4 a	0.1	53.73 cb
	0.035	26.44 a	0.035	46.27 cb
	0.01	42.53 a	0.01	38.06 b
	Testigo	0 a	Testigo	0 a
	CL ₅₀ 0.50 (mg mL ⁻¹) (0.024 - 137.88)*		CL ₅₀ 0.06 (mg mL ⁻¹) (0.03 - 0.1)*	
	b ±s= 0.27 ± 0.09		b ±s= 0.49 ± 0.05	
2	10	85.63 b	10	95.24 e
	3.5	59.88 ab	3.5	87.3 e
	1	44.31 ab	1	80.95 de
	0.35	19.76 ab	0.35	65.87 cd
	0.1	42.51 ab	0.1	61.11 c
	0.035	45.51 ab	0.035	41.27 b
	0.01	47.9 ab	0.01	31.75 b
	Testigo	0 a	Testigo	0 a
	CL ₅₀ = 0.37 (mg mL ⁻¹) (-)		CL ₅₀ = 0.06 (mg mL ⁻¹) (0.04 - 0.08)*	
	b ±s= 0.26 ± 0.18		b ±s= (0.04 - 0.08) 0.68 ± 0.06	
3	10	80.85 b	10	94.64 d
	3.5	-17.02 ab	3.5	76.79 cd
	1	-106.38 ab	1	63.39 bcd
	0.35	-151.06 a	0.35	47.32 bc
	0.1	-95.74 ab	0.1	39.29 b
	0.035	-104.26 ab	0.035	37.5 b
	0.01	-125.53 a	0.01	40.18 b
	Testigo	0 a	Testigo	0 a
	CL ₅₀ (no obtenida)		CL ₅₀ = 0.13 (mg mL ⁻¹) (0.02 - 0.5)*	
			b ±s= 0.53 ± 0.12	

b= pendiente de la línea de regresión; s= error estándar; Testigo con Tween[®] 20, 50 mL individuo⁻¹; *= límites de confianza al 95 %; (-)= no mostró límites de confianza.

Discusión

Los compuestos mayoritarios identificados en el aceite esencial de la parte aérea de plantas en floración de *T. lucida* corresponden a los grupos químicos de monoterpenos (acetato de geranilo y β -ocimeno) y sesquiterpenos (cariofileno, nerolidol y β -cubebeno) (Lange y Ahkami, 2013). Monoterpenos y sesquiterpenos, en extractos vegetales de *Tagetes* obtenidos con solventes, pueden tener actividad biológica contra nematodos (Marotti *et al.*, 2010) y se esperaría que su presencia en la composición del aceite esencial de *T. lucida* podría tener efecto parecido, como más adelante se expone (Cuadro 2).

El acetato de geranilo (40.8%) fue el más abundante en el aceite esencial de la población Ixtapan de *T. lucida* (Cuadro 1), este compuesto no se había reportado en poblaciones de Guatemala, Cuba, Costa Rica y México (Bicchi *et al.*, 1997; Ciccío, 2004; Serrato *et al.*, 2007; Regalado *et al.*, 2011); a esta molécula y al nerolidol se les atribuye actividad tóxica contra larvas de *Aedes aegypti* (Muñoz *et al.*, 2014), pero no se tenía referencia de su efecto contra nematodos. El compuesto β -ocimeno (15.14 %) posee propiedades antibióticas, anti-inflamatorias y anti-oxidantes, también destaca su efecto contra patógenos y protege a las plantas contra insectos plaga (Adorjan y Buchbauer, 2010), pero sin antecedentes contra nematodos.

El cariofileno (9.6%) tiene efecto insecticida contra larvas de mosquitos (Jaenson *et al.*, 2006) y el β -cubebeno (5.17%), además presenta actividad contra *Escherichia coli* (Bezic *et al.*, 2005); ninguno de estos compuestos se relaciona con efectos contra nematodos. La mayoría de estos compuestos, en cantidades traza, ya se habían descrito en la composición del aceite esencial de *T. lucida* (Bicchi *et al.*, 1997; Ciccío, 2004; Serrato *et al.*, 2007; Visbal *et al.*, 2010; Regalado *et al.*, 2011), lo distintivo de la composición del aceite de la población Ixtapan de *T. lucida* fue la alta abundancia de algunos de ellos y la presencia del compuesto acetato de geranilo.

Considerando que el agallamiento en las raíces de las plantas de jitomate es una consecuencia de la presencia de nematodos hembra y su penetración al interior de las raíces (Manzanilla *et al.*, 2002), resultó claro que la aplicación del aceite de *T. lucida* redujo el proceso de agallamiento por *N. aberrans* (Cuadro 2), resultado que constituye el primer reporte para este nematodo. Posiblemente la inhibición de agallas se debió a que el aceite esencial afecta el sistema nervioso del organismo, consecuentemente ocasiona parálisis y finalmente la muerte (Maffei, 2010), efecto de inmovilidad de nematodos previamente consignado con la aplicación de extractos de raíz y de la parte aérea de *T. lucida*, obtenidos con solventes (Siddiqui y Alam, 1988; Marotti *et al.*, 2010; Omer *et al.*, 2015); hasta antes del presente trabajo no se había evaluado el efecto del aceite esencial de *T. lucida* contra nematodos.

Los valores de CL_{50} se esperaba fueran cada vez menores en forma proporcional al número de número de intervalos, pero no se apreció la tendencia; al analizar el número de plantas con agallas mediante análisis factorial, se confirmó que no hubo efecto de intervalo, de tal manera que aplicar una vez, o quizá dos, es lo conveniente. Estos resultados constituyen una referencia útil para el manejo de sustancias vegetales, pues es poca la información al respecto. Desde el punto de vista práctico, las concentraciones más altas produjeron los mejores resultados, aunque destaca el posible empleo de 0.35 a 1 mg mL⁻¹; sin fitotoxicidad.

Con el tratamiento de control, la inhibición fue proporcional a las concentraciones en las que se diluyó y aplicó el aceite; esto no ocurrió con la aplicación preventiva, por ello solamente se obtuvo la CL_{50} para los dos primeros intervalos. No obstante, los valores bajos de CL_{50} (0.06-0.13 mg mL⁻¹) en el esquema de control, la pendiente siempre fue menor a 0.7 en los tres intervalos, indicando con ello que la población de individuos respondieron heterogéneamente a la aplicación del aceite, lo que podría significar que las moléculas del aceite no afectan eficazmente a las hembras J2 de *N. aberrans*, aunque también es posible que una proporción heterogénea de individuos hembra en el inóculo se haya dispersado a la zona de raíces de las plántulas, incluso que hayan presentado diferencias en la habilidad parasítica de las poblaciones del nematodo en el hospedante, así como la habilidad colonizadora (Bourne y Kerry, 1999).

El aceite esencial de especies como *T. minuta* se ha evaluado contra *Anopheles gambiae* registrando CL_{50} de 1.49 mg mL⁻¹ (Kyarimpa *et al.*, 2014), de *T. patula* contra *Aedes aegypti* con CL_{50} de 0.13 mg mL⁻¹ (Dharmagadda *et al.*, 2005) y de *T. lucida* contra *Tetranychus urticae* con una CL_{50} de 0.016 mg mL⁻¹ (Caramillo *et al.*, 2008) tales resultados y los logrados en este estudio en el caso de los tratamientos de control con CL_{50} de 0.06-0.13 mg mL⁻¹, sugieren fuerte acción biológica del aceite de *T. lucida* contra *N. aberrans*.

Para aplicar aceite esencial en concentración de 0.06 mg mL⁻¹ a una hectárea se necesitarían 120 mL de aceite en 199.8 L de agua, mientras que se requerirían 260 mL en 199.7 L de agua para la concentración 0.13 mg mL⁻¹. En terrenos no cultivados en Ixtapan, se calcula que en 1 m² de superficie hay nueve plantas de *T. lucida* y en 1 ha, 90 000 de ellas con un rendimiento de aceite aproximado de 0.68 mL m⁻² y producción de 6.8 L ha⁻¹. La amplia distribución de poblaciones de *T. lucida* en el Estado de México y su abundancia en numerosas localidades como la de Ixtapan, son condiciones favorables para el aprovechamiento de este recurso natural y de bajo costo.

Conclusiones

El aceite esencial obtenido mediante hidrodestilación de plantas en floración de la población Ixtapan de *T. lucida* presentó los compuestos mayoritarios acetato de geranilo, β -ocimeno, nerolidol, β -cubebeno y cariofileno, destacando acetato de geranilo que no se había reportado como abundante. El aceite esencial de *T. lucida* influyó en el proceso de agallamiento de *N. aberrans* en plántulas de jitomate resultando crítico el efecto de concentración y poco efectivo el intervalo de aplicación, de esta manera los mejores resultados de CI_{50} de 0.06-0.13 mg mL⁻¹ para inhibir el agallamiento se lograron aplicando el aceite como tratamiento de control.

Literatura citada

- Abbott, W. S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol. 18(2):265-267.
- Adams, R. P. 2000. Identification of essential oils components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy. Allured Publishing Crop. Carol Stream, IL. 468-572 pp.
- Adekunle, O. K. A.; Acharya, R. and Singh, B. 2007. Toxicity of pure compounds isolated from *Tagetes minuta* oil to *Meloidogyne incognita*. Austr. Plant Disease Notes. 2(1):101-104.
- Adorjan, B. and Buchbauer, G. 2010. Biological properties of essential oils: an updated review. Flavour and Fragrance J. 25(6):407-426.

- Álvarez, S. D. E.; Botina, J. J. A.; Ortiz, C. A. J. and Botina, J. L. L. 2016. Evaluación nematicida del aceite esencial de *Tagetes zypaquirensis* en el manejo del nematodo *Meloidogyne* spp. Rev. Cienc. Agríc. 33(1):22-23.
- Andrés, M. F.; González, C. A.; Sanz, J.; Burillo, J. and Sainz, P. 2012. Nematicidal activity of essential oils: a review. Phytochemistry Reviews. 11(4):371-390.
- Bezic, N.; Skocibusic, M. and Dunkic, V. 2005. Phytochemical composition and antimicrobial activity of *Satureja montana* L. and *Satureja cuneifolia* Ten. essential oils. Acta Bot. 64(2):313-322.
- Bicchi, C.; Fresia, M.; Rubiolo, P.; Monti, D.; Franz, C. and Goehler, I. 1997. Constituents of *Tagetes lucida* Cav. ssp. *lucida* essential oil. Flavour and Fragrance J. 12(1):47-52.
- Bourne, J. M. and Kerry, B. R. 1999. Effect of the host plant on the efficacy of *Verticillium chlamydosporium* as a biological control agent of root-knot nematodes at different nematode densities and fungal application rates. Soil Biol. Biochem. 31(1):75-84.
- Cáceres, A.; Álvarez, A. V.; Ovando, A. E. and Samayoa, B. E. 1991. Plants used in Guatemala for the treatment of respiratory diseases. 1. Screening of 68 plants against gram-positive bacteria. J. Ethnopharmacol. 31(2):193-208.
- Castaño, J. 1998. Prácticas de laboratorio de fitopatología. Segunda edición. Universidad de Caldas. Manizales. 103 p.
- Caramillo, D. R. G.; Serrato, C. M. A.; y Barajas, P. J. S. 2008. Efecto del aceite esencial de *Tagetes lucida* Cav. contra araña roja (*Tetranychus* sp.). In: XI Congreso Internacional en Ciencias Agrícolas. Mexicali, Baja California, 23 y 24 de octubre.
- Céspedes, C. L.; Ávila, J. G.; Martínez, A.; Serrato, B.; Calderón, M. J. C. and Salgado, G. R. 2006. Antifungal and antibacterial activities of Mexican Tarragon (*Tagetes lucida*). J. Agric. Food Chem. 54(10):3521-3527.
- Choi, W. I.; Lee, E. H.; Choi, B. R.; Park, H. M. and Ahn, Y. J. 2003. Toxicity of plant essential oils to *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae). J. Econ. Entomol. 96(5):1479-1484.
- Ciccio, J. F. 2004. A source of almost pure methyl chavicol: Volatile oil from the aerial parts of *Tagetes lucida* (Asteraceae) cultivated in Costa Rica. Rev. Biol. Trop. 52(4):853-857.
- Discover Life. 2014. http://www.discoverlife.org/mp/20m?act=make_map.
- Dharmagadda, V. S. S.; Naik, S. N.; Mittal, P. K. and Vasudevan, P. 2005. Larvicidal activity of *T. patula* essential oil against three mosquito species. Biores. Technol. 96(11):1235-1240.
- García, S. F.; López, V. E.; Aguilar, R. S. y Aguilar, C. A. 2012. Etnobotánica y morfo-anatomía comparada de tres especies de *Tagetes* que se utilizan en Nicolás Romero, Estado de México. Bot. Sci. 90(3):221-232.
- Gutiérrez, R. A.; Robles, B. A.; Santillán, O. C.; Ortiz, C. M. y Cambero, C. O. J. 2013. Control biológico como herramienta sustentable en el manejo de plagas y su uso en el estado de Nayarit, México. Rev. Bio Cienc. 2(3):102-112.
- Isman, M. B. 2000. Plant essential oils for pest and disease management. Crop Protec. 19(8-10):603-608.
- Jaenson, T. G. T.; Pålsson, K. and Borg, K. A. K. 2006. Evaluation of extracts and oils of mosquito (Diptera: Culicidae) repellent plants from Sweden and Guinea-Bissau. J. Medical Entomol. 43(1):113-119.
- Kyarimpa, C. M.; Böhmendorfer, S.; Wasswa, J.; Kiremire, B. T.; Ndiege, I. O. and Kabasa, J. D. 2014. Essential oil and composition of *Tagetes minuta* from Uganda. Larvicidal activity on *Anopheles gambiae*. Industrial Crops and Products. 62:400-404.

- Lange, B. M. and Ahkami, A. 2013. Metabolic engineering of plant monoterpenes, sesquiterpenes and diterpenes-current status and future opportunities. *Plant Biotechnol. J.* 11(2):169-196.
- Macedo, F. I. T.; Beserra, O. L. M.; Camurca, V. F. A. L.; Correia, R. W. L.; Leite, J. M.; Maia, M. S.; Beserra, P. H. C. and Leal, B. C. M. 2013. *In vitro* effects of *Coriandrum sativum*, *Tagetes minuta*, *Alpinia zerumbet* and *Lantana camara* essential oils on *Haemonchus contortus*. *Rev. Bras. Parasitol. Veter.* 22(4):463-469.
- Maffei, M. E. 2010. Sites of synthesis, biochemistry and functional role of plant volatiles. *South Afr. J. Bot.* 76(4):612-631.
- Manzanilla, L. R. H.; Costilla, M. A.; Doucet, M.; Franco, J.; Inserra, R. N.; Lehman, P. S.; Cid del Prado, V. I.; Souza, R. M. and Evans, K. 2002. The Genus *Nacobbus* Thorne & Allen, 1994 (Nematoda: Pratylenchidae): systematics, distribution, biology and management. *Nematropica.* 32(2):149-228.
- Marotti, I.; Marotti, M.; Piccaglia, R.; Nastri, A.; Grandi, S. and Dinelli, G. 2010. Thiophene occurrence in different *Tagetes* species: agricultural biomasses as sources of biocidal substances. *J. Sci. Food Agric.* 90(7):1210-1217.
- Mendoza, Z. C. 1999. Diagnóstico de enfermedades fungosas. Universidad Autónoma Chapingo. México. 168 p.
- Mora, V. F. D.; Rojas, L. B.; Usbillaga, A.; Carmona, J. y Bladimiro, S. 2009. Composición química del aceite esencial de *Myrcianthes fragrans* (Sw.) Mc Vaught de los Andes venezolanos. *Rev. de la Facultad de Farmacia.* 51:20-23.
- Muñoz, V. J. A.; Staschenko, E. y Ocampo, D. C. B. 2014. Actividad insecticida de aceites esenciales de plantas nativas contra *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Rev. Colomb. Entomol.* 40(2):198-202.
- Nerio, L. S.; Olivero, V. J. and Stashenko, E. E. 2009. Repellent activity of essential oils from seven aromatic plants grown in Colombia against *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera). *J. Stored Products Res.* 45(3):212-214.
- Olivero, V. J.; Tirado, B. I.; Caballero, G. K. and Stashenko, E. E. 2013. Essential oils applied to the food act as repellents toward *Tribolium castaneum*. *J. Stored Products Res.* 55:145-147.
- Omer, E. A.; Hendawy, S. F.; El-deen, A. M. N.; Zaki, F. N.; Abd, E. M. M.; Kandeel, A. M.; Ibrahim, A. K. and Ismail, R. F. 2015. Some biological activities of *Tagetes lucida* plant cultivated in Egypt. *Adv. Environ. Biol.* 9(2):82-88.
- Regalado, E. L.; Fernández, M. D.; Pino, J. A.; Mendiola, J. and Echemendia, O. A. 2011. Chemical composition and biological properties of the leaf essential oil of *Tagetes lucida* Cav. from Cuba. *J. Essential Oil Res.* 23(5):63-67.
- SAS (Statistical Analysis System) Institute. 2001. SAS user's guide. Statistics. Version 9.0. SAS Inst., Cary, NC. USA. Quality, and elemental removal. *J. Environ. Qual.* 19:749-756.
- Serrato, C. M. A. y Quijano, A. M. de L. 1993. Usos de algunas especies de *Tagetes*: Revisión bibliográfica (1984-1992). *In: Memorias: I Simposio Internacional y II Reunión Nacional sobre Agricultura Sostenible: Importancia y contribución de la agricultura tradicional.* CEICADAR-Puebla, Colegio de Postgraduados, México. 228-238 pp.
- Serrato, C. M. A.; Barajas, P. J. S. y Díaz, C. F. 2007. Aceites esenciales del recurso genético *Tagetes* para el control de insectos, nematodos, ácaros y hongos. *In: López, O. J. F.; Aragón, G. A.; Rodríguez, C. H. y Vázquez, G. M. (Eds.). Agricultura sostenible: Substancias naturales contra plagas. Vol. 3. Sociedad Mexicana de Agricultura Sostenible.* Benemérita Universidad de Puebla. Colegio de Posgraduados. 186-197 pp.
- Serrato, M. A. 2014. El recurso genético cempoalxóchitl (*Tagetes* spp.) de México (diagnóstico). Universidad Autónoma Chapingo- SINAREFI-SNICS-SAGARPA. 182 p.

- Serrato, C. M. A.; Vásquez, D. M. A. y Ramírez, L. I. J. 2014. Promoción del pericón (*Tagetes lucida* Cav.) en Teposcolula, Oaxaca para la obtención de bioplaguicidas y como estrategia para la conservación *in situ*. Universidad Autónoma Chapingo (UACH)-SINAREFI-SNICS-SAGARPA. México. Red Cempoalxóhitl. 15 p.
- SIAP. 2014. (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). <http://www.siap.gob.mx/avance-de-siembras-y-cosechas-por-cultivo/>.
- Siddiqui, M. A. and Alam, M. M. 1988. Toxicity of different plant parts of *Tagetes lucida* to plant parasitic nematodes. *Ind. J. Nematol.* 18(2):181-185.
- Silva, G.; Orrego, O.; Hepp, R. y Tapia, M. 2005. Búsqueda de plantas con propiedades insecticidas para el control de *Sitophilus zeamais* en maíz almacenado. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira.* 40(1):11-17.
- Sorribas, J. y Omat, C. 2011. Estrategias de control integrado de nematodos fitoparásitos. *In: Ándres, M. F. y Verdejo, S. (Eds.). Enfermedades causadas por nematodos fitoparásitos en España.* Phytoma-SEF. Valencia. 115-127 pp.
- Steiner, G. 1941. Nematodes parasitic on and associated with roots of marigold (*Tagetes hybrida*). *Proceeding of the Biological Society of Washington.* 54:31-34.
- Tyler, J. 1938. Conference: proceedings of the root-knot conferences held in Atlanta, Georgia. *Plant Disease Reporter.* 109:133-151.
- Vera, S. S.; Zambrano, D. F.; Méndez, S. S. C., Rodríguez, S. F., Stashenko, E. E. and Duque, L. J. E. 2014. Essential oils with insecticidal activity against larvae of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Parasitol. Res.* 113(7):2647-2654.
- Villareal, Q. J. A. 2003. Familia compositae. Tribu *Tageteae*. *In: Rzedowski, G. C. and Rzedowski J. (Eds.). Flora del Bajío y de regiones adyacentes.* Instituto de Ecología-Centro Regional del Bajío. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). Pátzcuaro, Michoacán, México. Fascículo 113. 85 p.
- Villaseñor, J. L.; Maeda, P.; Colín, L. J. J. y Ortiz, E. 2005. Estimación de la riqueza de especies de Asteraceae mediante extrapolación a partir de datos de presencia-ausencia. *Boletín de la Sociedad Botánica de México.* 76:5-18.
- Visbal, T.; Rojas, L. B.; Cordero, R. Y.; Carmona, A. J.; Morillo, M. y Usabillaga, A. 2010. Componentes volátiles de *Tagetes lucida* Cav. (Asteraceae) (Cordero edo Táchira. Venezuela). *Rev. de la Facultad de Farmacia.* 52:2-4.