UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA

ENSAYO PILOTO DE EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE POBLACIONES NATURALES DE *Tagetes lucida* Cav. PARA LA EVALUACIÓN TOXICOLÓGICA EN NEMATODOS PRESENTES EN JITOMATE (*Solanum lycopersicum* L.)

T E S I S

QUE COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

UNIVERSIDAD AUTONOMA CHAPINGO
MEXICO
DIRECCION GENERAL ACADEMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXAMENES PROFESIONALES

PRESENTA:

JOHANA ZARATE ESCOBEDO

Chapingo, Estado de México, junio de 2016

ENSAYO PILOTO DE EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE POBLACIONES NATURALES DE *Tagetes lucida* Cav. PARA LA EVALUACIÓN TOXICOLÓGICA EN NEMATODOS PRESENTES EN JITOMATE (*Solanum lycopersicum* L.)

Tesis realizada por **Johana Zarate Escobedo** bajo la dirección del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

DIRECTOR: _____

DR. MIGUEL ÁNGEL SERRATO CRUZ

ASESOR: _____

DRA. ELBA LIDIA CASTAÑEDA GONZÁLEZ

ASESOR: _____

DR. JESÚS AXAYACATL CUEVAS SÁNCHEZ

ASESOR: _____

M.C. CALIXTO LEOPOLDO CARRILLO FONSECA

DEDICATORIA

A mis padres

Por su esfuerzo y apoyo incondicional, gracias a ustedes culmino otra meta.

A mis hermanas

Por su apoyo, compresión y cariño.

A César

Por el amor, paciencia y apoyo que me has brindado.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) que hizo posible mis estudios de Posgrado.

A la Universidad Autónoma Chapingo y al Departamento de Fitotecnia, por brindarme la oportunidad de formar parte de su alumnado y por el apoyo otorgado para llevar a cabo esta investigación.

A la Fundación Salvador Sánchez Colín CICTAMEX S. C. por las facilidades otorgadas durante mi estancia.

Al equipo del laboratorio de Fitonematología y Biología Molecular del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo, por su asesoría y las facilidades otorgadas.

Al Dr. Miguel A. Serrato Cruz por su valiosa dirección, paciencia, disponibilidad, responsabilidad, sobre todo por sus enseñanzas que contribuyeron a la culminación de este trabajo. Muchas gracias

A la Dra. Elba Lidia Castañeda González por su compromiso, disponibilidad y aportaciones para la culminación de este trabajo. Asimismo, por su valiosa amistad y consejos. Agradezco al universo por permitirme haberla conocido, gracias por su ayuda, es un gran ser humano.

Al Dr. Jesús A. Cuevas Sánchez por su asesoramiento y contribuciones para la culminación de este trabajo. Gracias por lo que me enseñó en sus clases, por compartir su conocimiento, por su pasión y humildad.

Al M. C. Calixto Leopoldo Carrillo Fonseca por su apoyo, contribución y asesoramiento de este trabajo. Gracias por su confianza y enseñanza, sin usted parte de este trabajo no hubiera sido posible.

Al Consejo Mexiquense de Ciencia y Tecnología (COMECyT) por el apoyo económico brindado.

A Monserrat Ramírez Hernández por su apoyo en la obtención del inóculo del nematodo.

Al Dr. Emmanuel Ibarra Estrada y al Laboratorio de Fisiología de Frutales de la Universidad Autónoma Chapingo, por su apoyo en los estudios fitoquímicos de los aceites esenciales evaluados.

Al Dr. Edgar Eduardo Mendoza García por su asesoría y apoyo en los análisis estadísticos de este proyecto.

A César Ortiz Torres por su ayuda incondicional durante la realización de este trabajo.

A mis amigos Tania Hernández Ramirez, Alma T. Romero Careaga, Paul Pantoja y Ezequiel A. Sánchez González, por su apoyo en la colecta del material vegetal. Pero sobre todo por hacerme pasar bellos días de trabajo a su lado.

Mil gracias a todos los que contribuyeron en la culminación de esta investigación.

CONTENIDO

	Pág.
LISTA DE CUADROS	viii
LISTA DE FIGURAS	x
RESUMEN GENERAL	xii
ABSTRACT	xiii
OBJETIVOS	xiv
HIPÓTESIS	xiv
INTRODUCCIÓN GENERAL	1
CAPÍTULO I. REVISIÓN DE LITERATURA	5
1.1 Las plantas aromáticas	5
1.1.1 Distribución de las plantas aromáticas	8
1.2 *Tagetes*	10
1.2.1 Importancia y distribución del género *Tagetes*	10
1.2.2 Distribución de *Tagetes lucida* en el Estado de México	13
1.2.3 Clasificación taxonómica y descripción botánica de *T. lucida*	14
1.2.4 Usos etnobotánicos de *T. lucida*	14
1.2.5 Composición química de *T. lucida*	16
1.3 Cultivo del jitomate (*Solanum lycopersicum*)	17
1.3.1 Importancia y distribución de *S. lycopersicum*	17
1.3.2 Pérdida agrícola del jitomate por plagas y enfermedades	18
1.4 Aceites esenciales	19
1.4.1 Componentes de los aceites esenciales	20
1.4.2 Distribución de los aceites esenciales en las plantas	22
1.4.3 Aceites esenciales y su función	23
1.4.4 Ensayo piloto	24
1.5 Nematodos agalladores en jitomate	29
1.5.1 *Nacobbus aberrans*	30
1.5.2 Clasificación taxonómica y descripción morfológica de *N. aberrans*	31
1.5.3 Ciclo de vida de *N. aberrans*	34
1.5.4 Sintomatología inducida por *N. aberrans*	35
1.5.5 Importancia y distribución de *N. aberrans*	36
1.5.6 Métodos de control	37
1.5.7 Impacto al ambiente y al humano por el uso de los nematicidas	41
1.5.8 Metodologías para la evaluación de nematodos	42
CAPÍTULO II. COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL ACEITE ESENCIAL DE POBLACIONES DE *T. lucida* EN EL ESTADO DE MÉXICO	45
2.1 RESUMEN	45
2.2 ABSTRACT	46
2.3 INTRODUCCIÓN	47
2.4 MATERIALES Y MÉTODOS	51

2.4.1 Procedencia de las poblaciones de *T. lucida* y extracción de aceite esencial 51
2.4.2 Extracción del aceite esencial 54
2.4.3 Análisis cromatográfico de los aceites esenciales 55
2.4.4 Caracterización del medio ecológico de los sitios de colecta de las poblaciones 57
2.5 RESULTADOS 59
2.5.1 Medio ecológico de *T. lucida* en el Estado de México 59
2.5.2 Rendimiento de aceite esencial de *T. lucida* 59
2.5.3 Composición química del aceite esencial de *T. lucida* 66
2.6 DISCUSIÓN 87
2.7 CONCLUSIONES 92
CAPÍTULO III. EVALUACIÓN TOXICOLÓGICA DEL ACEITE ESENCIAL DE *T. lucida* EN LA FORMACIÓN DE AGALLAS POR *N. aberrans* EN JITOMATE 94
3.1 RESUMEN 94
3.2 ABSTRACT 95
3.3 INTRODUCCIÓN 96
3.4 MATERIALES Y MÉTODOS 103
3.4.1 Material vegetal 103
3.4.2 Inóculo del nematodo 105
3.4.3 Extracción del aceite esencial 107
3.4.4 Análisis cromatográfico de los aceites esenciales 108
3.4.5 Preparación y aplicación de las concentraciones del aceite esencial 109
3.4.6 Diseño experimental 111
3.4.7 Manejo de plantas y registro de variables 113
3.4.8 Análisis estadístico 115
3.5 RESULTADOS 115
3.5.1 Composición química del aceite esencial de *T. lucida* 115
3.5.2 Efecto en el agallamiento 117
3.5.3 Expresión morfológica 119
3.5.4 Efecto de fitotoxicidad 119
3.5.5 Concentración Letal (CL_{50}) 121
3.6 DISCUSIÓN 124
3.7 CONCLUSIONES 129
DISCUSIÓN GENERAL 130
CONCLUSIONES GENERALES 134
ANEXOS 135
LITERATURA CITADA 144

LISTA DE CUADROS

Cuadro		Pág.
1.1	Clasificación de plantas aromáticas-medicinales	6
1.2	Distribución de especies del género *Tagetes* en México.	11
1.3	Ejemplos de aplicaciones de los aceites esenciales en la medicina, medio ambiente, agricultura y alimentos.	26
2.1	Sitios de recolección de poblaciones de *T. lucida* en el Estado de México.	53
2.2	Volumen de aceite esencial de *T. lucida*.	55
2.3	Estaciones meteorológicas consultadas para la elaboración de climogramas.	58
2.4	Relación de las moléculas mayoritarias con algunas características del medio ecológico de las 14 poblaciones de *T. lucida* en el Estado de México.	61
2.5	Rendimiento del aceite esencial en 1 kg y 100 g de material vegetal fresco de las catorce poblaciones de *T. lucida.*	60
2.6	Composición química (%) del aceite esencial de las catorce poblaciones de *T. lucida* del Norte y Sur del Estado de México.	85
2.7	Composición química del aceite esencial de *T. lucida* de la población p1.	68
2.8	Composición química del aceite esencial de *T. lucida* de la población p2	69
2.9	Composición química del aceite esencial de *Tagetes lucida* de la población p3.	70
2.10	Composición química del aceite esencial de *T. lucida* de la población p4.	71
2.11	Composición química del aceite esencial de *T. lucida* de la población p5.	72
2.12	Composición química del aceite esencial de *T. lucida* de la población p6.	74
2.13	Composición química del aceite esencial de *T. lucida* de la población p7.	75
2.14	Composición química del aceite esencial de *T. lucida* de la población p8.	76
2.15	Composición química del aceite esencial de *T. lucida* de la población p9	78
2.16	Composición química del aceite esencial de *T. lucida* de la población p10.	79
2.17	Composición química del aceite esencial de *T. lucida* de la población p11.	80

2.18	Composición química del aceite esencial de *T. lucida* de la población p12.	82
2.19	Composición química del aceite esencial de *T. lucida* de la población p13.	83
2.20	Composición química del aceite esencial de *T. lucida* de la población p14.	84
3.1	Diluciones porcentuales de aceite esencial (Tratamientos) de *T. lucida* para su aplicación en plántulas de jitomate.	110
3.2	Cronograma de aplicación de tratamientos en la unidad experimental.	113
3.3	Distribución de los tratamientos de aplicación porcentual de aceite esencial de *T. lucida* en jitomate (*S. lycopersicum*) establecidos bajo condiciones de invernadero e infestación *ex situ* de *N. aberrans.*	112
3.4	Composición química del aceite esencial de la población Ixtapan (p10) de *T. lucida.*	116
3.5	Respuestas promedio de tratamientos (concentraciones del aceite esencial de *T. lucida*) con intervalos (secuencia de aplicación de tratamientos) en el agallamiento de raíz de *S. lycopersicum* por *N. aberrans* en el experimento 1(tratamiento-inóculo).	118
3.6	Respuestas promedio de tratamientos (concentraciones del aceite esencial de *T. lucida*) con intervalos (secuencia de aplicación de tratamientos) en el agallamiento de raíz de *S. lycopersicum* por *N. aberrans* en el experimento 2 (inóculo-tratamiento).	118
3.7	Efecto de fitotoxicidad en las plantas de jitomate (*S. lycopersicum*) con base en una escala visual de 0 a 5 para el experimento 1 (tratamiento-inóculo).	120
3.8	Efecto de fitotoxicidad en las plantas de jitomate (*S. lycopersicum*) con base en una escala visual de 0 a 5 para el experimento 2 (inóculo-tratamiento).	121
3.9	Inhibición promedio (%) de agallamiento por *N. aberrans* a 52 días posteriores a la aplicación de las concentraciones del aceite esencial de *T. lucida* a plántulas de jitomate y valor de la CL_{50} según intervalo y secuencia de aplicación.	123
4.1	Registro de temperatura, precipitación y vegetación las poblaciones de *T. lucida* en el Estado de México.	135

LISTA DE FIGURAS

Figura		Pág.
1.1	Esquema general de biosíntesis.	9
1.2	Distribución de *T. lucida* en el Estado de México.	14
1.3	Estructuras químicas de algunos componentes de aceites esenciales.	25
1.4	Anatomía de *Nacobbus aberrans*	32
1.5	Diferenciación de una hembra y un macho del nematodo *N. aberrans.*	33
1.6	Ciclo biológico de *N. aberrans.*	35
2.1	Ubicación geográfica de los sitios de colecta de *T. lucida* en el Estado de México.	52
2.7	Cromatograma de los compuestos presentes en el aceite esencial de *T. lucida* de la p1.	67
2.8	Cromatograma de los compuestos presentes en el aceite esencial de *T. lucida* de la p2.	68
2.9	Cromatograma de los compuestos presentes en el aceite esencial de *T. lucida* de la p3.	69
2.10	Cromatograma de los compuestos presentes en el aceite esencial de *T. lucida* de la p4.	70
2.11	Cromatograma de los compuestos presentes en el aceite esencial de *T. lucida* de p5.	72
2.12	Cromatograma de los compuestos presentes en el aceite esencial de *T. lucida* de p6.	73
2.13	Cromatograma de los compuestos presentes en el aceite esencial de *T. lucida* de p7.	74
2.14	Cromatograma de los compuestos presentes en el aceite esencial de *T. lucida* de p8.	76
2.15	Cromatograma de los compuestos presentes en el aceite esencial de *T. lucida* de p9.	77
2.16	Cromatograma de los compuestos presentes en el aceite esencial de *T. lucida* de p10.	78
2.17	Cromatograma de los compuestos presentes en el aceite esencial de *T. lucida* de p11.	80
2.18	Cromatograma de los compuestos presentes en el aceite esencial de *T. lucida* de p12.	81
2.19	Cromatograma de los compuestos presentes en el aceite esencial de *T. lucida* de p13.	82
2.20	Cromatograma de los compuestos presentes en el aceite esencial de *T. lucida* de p14.	84
3.1	Localización geográfica del sitio de colecta de *T. lucida.*	104
3.2	Germinación y emergencia de jitomate	105

3.3	Raíz de *S. lycopersicum* infestada con *N. aberrans* e inoculación de *N. aberrans* a plantas de jitomate.	107
3.4	Destilación ensayo piloto de *T. lucida.*	110
3.5	Distribución de tratamientos-diseño experimental.	112
3.6	Escala de vigorosidad visual.	114
3.7	Cromatograma de los componentes del aceite esencial de la población Ixtapan (p10) de *T. lucida*.	116
4.1A	Climograma de p1-Acambay	136
4.2A	Climograma de p2-Jilotepec	136
4.3A	Climograma de p3-Atlacomulco	136
4.4A	Climograma de p4, p5 y p11 Coatepec de Harinas	136
4.5A	Climograma de p6, p7 y p8 Villa Guerrero	136
4.6A	Climograma de p9, p10 y p12 Ixtapan de la Sal	136
4.7A	Climograma p13-Tonatico	137
4.8A	Climograma p14-Pilcaya	137
5.1A	Representación de la elevación de poblaciones de *T. lucida* al Norte del Estado de México.	137
5.2A	Representación de la elevación de poblaciones de *T. lucida* al Sur del Estado de México.	138
5.3A	Clima de las poblaciones de *T. lucida* al Norte del Estado de México.	138
5.4A	Clima de las poblaciones de *T. lucida* al Sur del Estado de México.	139
5.5A	Tipos de suelo de las poblaciones de *T. lucida* al Norte del Estado de México.	139
5.6A	Tipos de suelo de las poblaciones de *T. lucida* al Sur del Estado de México.	140
5.7A	Tipos de vegetación en las poblaciones de *T. lucida* al Norte del Estado de México.	140
5.8A	Tipos de vegetación en las poblaciones de *T. lucida* al Sur del Estado de México.	141
6.1A	Estructuras químicas de moléculas mayoritarias en el aceite esencial de *T. lucida*	142

RESUMEN GENERAL

Los aceites esenciales son eficaces contra una gran variedad organismos, por lo que representan alternativas para el manejo de plagas y enfermedades. Los objetivos de este estudio fueron: 1) describir el contenido de compuestos químicos en el aceite esencial de algunas poblaciones de *Tagetes lucida* Cav. del Estado de México y 2) evaluar la actividad tóxica del aceite esencial de una población de *T. lucida* del Estado de México en la formación de agallas por *Nacobbus aberrans* en plántulas de jitomate en invernadero.

En una primera fase, el aceite esencial de tallos en etapa de floración de catorce poblaciones de *T. lucida* se obtuvo por hidrodestilación y se analizó mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG/EM). En total se identificaron de 9 a 23 compuestos, los compuestos principales en poblaciones del Norte del Estado de México (Clima templado) fueron los fenilpropenos: metil eugenol, estragol y anetol. Al Sur del Estado de México (Clima semicalido) los compuestos principales fueron monoterpenos: acetato de geranilo y β-Ocimeno.

En la segunda fase, se evaluó la actividad tóxica del aceite esencial de *T. lucida* de la población Ixtapan contra *N. aberrans*. El aceite se extrajo a nivel piloto con rendimiento en peso seco de 4.2 % mL 100 g^{-1}; para determinar el efecto tóxico se inóculo *N. aberrans* en plántulas de jitomate establecidas en invernadero que se trataron con aceite esencial en concentraciones desde 0.01 hasta 10 mg mL^{-1}. La aplicación de los tratamientos se realizó en dos escenarios: preventivo (tratamiento-inóculo) y de control (inóculo-tratamiento), en cada uno de estos escenarios se implementaron tres intervalos de aplicación, a 1, 2 y 3 semanas. Mediante el análisis Probit se obtuvo la CL_{50}. En el experimento preventivo se registró mayor inhibición de agallas en la concentración de 10 mg mL^{-1} y en el experimento de control la mejor respuesta se logró a las concentraciones de 3.5 a 10 mg mL^{-1}. La mejor CL_{50} correspondio al experimento de control con valores de 0.06 mg mL^{-1} para el intervalo 1 y 2, y de 0.13 mg mL^{-1} para el intervalo 3.

PALABRAS CLAVES: Metodos de evaluación de nematodos, agallamiento, *Tagetes*, fenilpropenos, monoterpenos.

GENERAL ABSTRACT

Essential oils are effective against a wide range of organisms, thereby representing an alternative strategy for pest and disease management. The main objectives of this study were: 1) describe the chemical compounds contained in the essential oil of some *Tagetes lucida* Cav. populations in the State of Mexico and 2) evaluate the toxic activity of the essential oil from a *Tagetes lucida* Cav. population in the State of Mexico on the formation of galls by *Nacobbus aberrans* in tomato seedlings in a greenhouse.

In the first phase, the essential oil in flowering-stage stems from fourteen *T. Lucida* populations was obtained by hydrodistillation and analyzed through gas chromatography – mass spectometry (GC/MS). In total, from 9 to 23 compounds were identified. The main compounds in populations from the northern part of the State of Mexico (temperate climate) were phenylpropenes: methyleugenol, estragole and anethole. In the southern part of the state (semi-warm climate), the principal compounds were monoterpenes: geranyl acetate and β-Ocimene.

In the second phase, the toxic activity of *T. lucida* essential oil from the Ixtapan population relating to *Nacobbus aberrans* was evaluated. The oil was extracted at pilot level with 4.2 % mL 100 g^{-1} of dry weight performance : to determine the toxic effect, *N. aberrans* was inoculated in greenhouse-cultivated tomato seedlings, which were treated with essential oil concentrations from 0.01 to 10 mg mL^{-1}. The application of the treatments was conducted in two stages: preventive (treatment-inoculum) and control (inoculum-treatment); in each one of these stages, three application intervals, of 1, 2, and 3 weeks, were implemented.

The CL_{50} was obtained by Probit analysis. In the preventive experiment, greater gall inhibition was obtained at the concentration with 10 mg mL^{-1}, while in the control the best response were with concentrations of 3.5 to 10 mg mL^{-1}. The best CL_{50} was obtained in the control experiment with values of 0.06 mg mL^{-1} for interval 1 and 2, and 0.13 mg mL^{-1} for interval 3.

KEYWORDS: Nematodes evaluation metod, galling, *Tagetes,* phenylpropenes*,* monoterpenes.

OBJETIVOS

1. Describir el contenido de compuestos químicos en el aceite esencial de algunas poblaciones de *T. lucida* del Estado de México.

2. Evaluar la actividad tóxica del aceite esencial de una población de *T. lucida* del Estado de México, en la formación de agallas por *N. aberrans* en invernadero.

HIPÓTESIS

1. Si se practica cromatografía de gases y espectrometría de masas para analizar el aceite esencial obtenido por hidrodestilación de la parte aérea en floración de poblaciones de *T. lucida* del Estado de México se espera que su composición química varíe en relación con su origen geográfico, tomando en cuenta resultados obtenidos en *T. filifolia* (Serrato-Cruz *et al*., 2008) y en *T. minuta* (Gil *et al*., 2000).

2. Si el aceite esencial de *T. lucida* tiene actividad biológica contra el nematodo *Meloydogyne incognita* (Siddiqui y Alam, 1988; Omer *et al.,* 2015), entonces se espera que el aceite esencial de la población Ixtapan, pueda inhibir el agallamiento de raíces por *N. aberrans* en plántulas de jitomate.

Considerando la falta de antecedentes sobre la importancia de secuencia de aplicación de sustancias vegetales para la evaluación de su efecto en nematodos se proponen las siguientes hipótesis:

3. Si la secuencia de aplicación es: inoculación con nematodos y luego tratamiento con aceite esencial, entonces se espera que el agallamiento en las raíces de *S. lycopersicum* sea menor a la del testigo y la fitotoxicidad a concentraciones altas no sea significativa.

4. Si la secuencia de aplicación es: tratamiento con aceite esencial y posteriormente inoculación con nematodos, entonces, se espera que la incidencia de *N. aberrans* en las raíces de *S. lycopersicum* sea menor a la secuencia inoculación con nematodos y luego tratamiento con aceite esencial.

INTRODUCCIÓN GENERAL

"México es un país privilegiado tanto biológica como culturalmente; su territorio alberga un alto número de especies de plantas, animales, hongos y otros organismos y de igual forma da cabida a numerosas culturas hablantes de lenguas diferentes, por ello, el país ha sido ubicado entre las 10 naciones bioculturalmente más ricas del planeta y se le considera como uno de los principales centros de diversificación biológica a escala mundial" (Boada y Toledo, 2003). Esta gran diversidad de especies que existe en el país, está estrechamente relacionada con la gran diversidad de ecosistemas distribuidos a lo largo del territorio. "Estos ecosistemas no sólo se circunscriben a la clasificación de los tipos de vegetación clásicos sino que, en cada uno de éstos, existen asociaciones particulares definidas tanto por sus componentes específicos y las relaciones que establecen con las características climáticas y microclimáticas de cada localidad" (Oyama y Castillo, 2006).

En México las plantas vasculares se calcula están representadas por 2 804 géneros nativos, de los cuales 127 son helechos y plantas afines, 14 gimnospermas y 546 monocotiledóneas y 2 117 dicotiledóneas. Estos géneros se incluyen en 304 familas y as su vez contienen un total de 23, 424 especies (Villaseñor y Espinosa-García, 2004). Diversidad que resulta importante para México porque la sociedad y la industria obtienen una gran cantidad de satisfactores y servicios, pero que a la vez todos los componentes de esta diversidad biológica están desapareciendo o se están deteriorando (Daily, 1997; Millennium Ecosystem Assessment, 2005; Sarukhán, 2006; Chivian y Bernstein, 2008; citatos por Soberon, 2010). Según la NOM-059 de la SEMARNAT (Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales) hay 2583 especies consideradas amenazadas. Esta pérdida de la diversidad biológica y de su deterioro acelerado hace

que, por razones económicas, culturales, científicas o éticas, sectores cada vez más amplios de la sociedad se manifiesten a favor de la conservación, protección y en la búsqueda de alternativas productivas compatibles con el mantenimiento de los recursos naturales y más aún porque "México cuenta con un amplio sector campesino e indígena que aún mantienen economías de características rurales, a menudo en directo contacto con la naturaleza" (Soberon, 2010).

Así, la continua necesidad de desarrollar nuevas herramientas de protección de cultivos con nuevos modos de acción, hace que el descubrimiento y la comercialización de productos vegetales sea atractivo y rentable (Isman y Machial, 2006). Por ello, los países con recursos naturales como México deben privilegiar el estudio de sus recursos fitogenéticos como fuente de sustentabilidad de los sistemas de producción agrícola, en este caso, para aprovechar la materia prima vegetal que permita desarrollar productos para el biocontrol de plagas y enfermedades. Y de manera específica, estudiar los recursos fitogenéticos en su ambiente local con la finalidad de generar soluciones locales.

En particular, *T. lucida* o pericón es una especie ampliamente distribuida en México, principalmente en terrenos agrícolas en elevaciónes de 800 a 2, 700 msnm (Villareal, 2003). Esta especie tiene amplias propiedades como insecticida, bactericida, nematicida y otras (Siddiqui y Alam, 1988; Cáceres *et al*., 1991; Camarillo *et al*., 2008; Nerio *et al*., 2009; Olivero-Verbel *et al*., 2013; Smith *et al*., 2014); propiedades que pueden ser aprovechadas en el manejo integral de plagas y enfermedades en la agricultura. Como ejemplo, *Nacobbus aberrans* (Thorne) Thorne y Allen es un nematodo importante por las pérdidas que causa en la producción de cultivos como el chile (*Capsicum annuum* L.), jitomate (*Solanum lycopersicum L.*) y frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Esta especie de

nematodo se ha encontrado en los estados de Coahuila, Distrito Federal, Guanajuato, Hidalgo, Estado de México, Michoacán, Morelos, Puebla, Oaxaca, San Luis Potosí, Tlaxcala y Zacatecas (Cid, 1986; Manzanilla-López *et al*., 2002). Ante la creciente presión por preservar el ambiente y atender demandas sobre inocuidad alimentaria por parte de los consumidores se ha creado un gran número de restricciones en el uso de pesticidas (incluidos los nematicidas) (Lampkin, 1998).

El Estado de México, al tener una gran diversidad de climas, es una región muy importante en el sector agrícola, se registran 710 422 hectáreas de superficie agrícola, de las que 602 251 corresponden a superficie sembrada, lo que representa 84.8 % de la superficie agrícola de la entidad (INEGI, 2007). Desde el punto de vista económico, el Estado de México destaca en la producción de granos y ornamentales, aportando 4 y 2 de cada 10 pesos del valor de su producción, respectivamente; asimismo, es importante considerar que la oferta agrícola abarca diversos cultivos apreciados en el mercado nacional e internacional (SIAP, 2015). Resulta inquietante que uno de los problemas que afecta gravemente el desarrollo y calidad de los cultivos es la presencia de plagas y enfermedades, y más aún, que el método que se utiliza para su control sea el químico, porque a través de los años éste ha estado ocasionando una dependencia tecnológica importante (Céspedes y Alarcón, 2011). Los problemas ambientales causados por el uso excesivo de estos productos también han sido motivo de preocupación en los últimos años, pues se ha estimado que alrededor de 2.5 millones de toneladas de productos sintéticos se utilizan en los cultivos cada año en todo el mundo y el daño causado alcanza $ 100 mil millones al año. Las razones: (1) la alta toxicidad y las propiedades no biodegradables de los productos químicos y (2) los residuos en el suelo, los recursos hídricos y los cultivos que afectan a la salud pública (Koul *et al*., 2008).

Por lo tanto, es necesario implementar alternativas de control compatibles con el ambiente, que aseguren una producción estable de alimentos, encaminada a la recuperación y conservación ecológica de los recursos naturales y al mejoramiento de los ingresos y calidad de vida de los productores (Altieri y Nichlls, 2000; Gómez y Gómez, 2004). Con estos razonamientos es clara la pertinencia del manejo integrado de plagas y enfermedades, particularmente la parte correspondiente al control biológico que involucre el uso de sustancias vegetales (Ruso *et al*., 2005) porque son biodegradables, seguras para el ser humano y al medio ecológico, y son de bajo costo (Nava-Pérez *et al*., 2012).

Con base en lo anterior, en el presente trabajo se plantearon dos objetivos: 1) identificar los compuestos químicos en el aceite esencial de algunas poblaciones de *Tagetes lucida* Cav. del Estado de México y 2) evaluar la actividad tóxica del aceite esencial de una población de *T. lucida* del Estado de México, en la formación de agallas por *Nacobbus aberrans* en invernadero.

Con el fin de alcanzar los objetivos propuestos, el presente trabajo se organizó en tres capítulos. El Capítulo I proporciona información descriptiva de *T. lucida*, del jitomate (*S. lycopersicum*) y del nematodo *N. aberrans*; se destaca la importancia de la producción del jitomate y la pérdida agrícola de este cultivo por plagas y enfermedades, así como la importancia de los aceites esenciales. En el Capítulo II, se aborda la composición química de aceites esenciales de catorce poblaciones del Estado de México, resaltando la posible influencia de la variabilidad ambiental en la composición de los aceites; mientras que en el Capítulo III se muestra la actividad tóxica del aceite esencial de una población de *T. lucida* sobre *N. aberrans* en jitomate bajo condiciones de invernadero, en dos secuencias: inoculación-tratamiento y tratamiento-inoculación.

CAPÍTULO I

REVISIÓN DE LITERATURA

1.1 Las plantas aromáticas

Las plantas aromáticas se cultivan desde tiempos inmemoriales con fines farmacéuticos y culinarios (Mansaray, 2000; Dixon, 2001; Ottaway, 2001); contienen compuestos olorosos, volátiles, hidrófobos y aceites esenciales, obtenidos de diversas partes de la planta, tales como flores, hojas, tallos, semillas, raíces y frutos (Brenes y Roura, 2010; Negi, 2012). A estas plantas se les ha considerado como productos de gran interés social, cultural, culinario y medicinal (Fernández, 2006), dado que poseen la facultad de producir principios activos, los cuales propician cambios en el funcionamiento del organismo para aliviar síntomas de malestar o restablecer el equilibrio orgánico del mismo (Calixto, 2005). Sus compuestos, conocidos también como metabolitos secundarios, responden a condiciones ambientales de estrés o son una manifestación de la individualidad del organismo que los contiene y, generalmente, están relacionados con la interacción con otros organismos (función ecológica, no fisiológica), tales como la reproducción, la comunicación, la competencia y la protección contra la depredación y la infección (Gros *et al.,* 1985; Marcano y Hasegawa, 2002). Además de que juegan un rol importante no sólo en los sistemas de producción tradicionales, sino también en los mercados internacionales (Martínez, 2005), y más de dos tercios de las especies vegetales del mundo se originan en los países en vías de desarrollo (Kossmann, 1999).

Cases (2007) hace una clasificación de las plantas aromáticas y medicinales de acuerdo con la naturaleza química de los principios activos que elaboran en su metabolismo y que no influyen en la fisiología, ni en el desarrollo normal de las plantas (Cuadro 1.1).

Cuadro 1.1 Clasificación de plantas aromáticas-medicinales

Principio activo	Características	Ejemplos
Plantas con alcaloides	Contienen sustancias nitrogenadas y generalmente actúan sobre el sistema nervioso	*Atropa belladona* *Papaver* spp. *Erythroxylum coca* *Colchicum* spp. *Camellia sinensis* *Vinva* spp. *Lupinus* spp.
	Cianogenéticos	*Laurus nobilis* *Prunus* spp.
	Tiociánicos	*Piper* spp. *Sinapis* spp.
	Fenolgenéticos	*Psidium* spp.
	Antraquinónicos	*Rheum rhabarbarum* *Cassia angustifolia* *Aloe* spp. *Rhamnus frangula*
Plantas con glucósidos de distinta naturaleza	Saponínicos	*Glycyrrhiza glabra* *Polygala* spp. *Smilax aspera*
	Flavónicos	*Ruta* spp. *Lespedeza* spp. *Genista* spp.
	Aldehídicos	*Vainilla* spp. *Melilotus officinalis*
	Cardiotónicos	*Digitalis* spp. *Nerium oleander*
	Amargos	*Raíz de Gentiana lutea* *Cichorium intybus*
Plantas con taninos	Tienen en su composición química, grupos fenólicos y propiedades astringentes.	*Quercus* spp. *Juglans regia* *Aesculus hippocastanum* *Schinopsis* spp. *Rhus coriaria* *Acacia* spp.
Plantas con grasas	Aceites de acción purgante	*Ricinus communis,* *Croton* spp.
	Otros aceites	*Olea europea* *Germen de trigo* *Germen de maíz* *Glycine max* *Persea americana* *Prunus dulcis* *Corylus avellana*
	Manteca	*Elaeis* spp. *Theobroma cacao*
	ceras	*Lycopodium* spp.

Continua…

Cuadro 1.1Clasificación de plantas aromáticas-medicinales

Principio activo	Características	Ejemplos
Plantas con esencias	--	*Pimpinella anisum* *Satureja montana* *Arnica* spp. *Tagetes* spp. *Syzygium aromaticum* *Coriandrum sativum* *Eucalyptus* spp. *Foeniculum vulgare* *Hyssopus* spp. *Lavandula* spp. *Chamaemelum nobile* *Melissa officinalis* *Mentha* spp. *Rosmarinus officinalis* *Salvia* spp. *Thymus* spp.
Plantas con resinas	--	*Pinus* spp. *Cupressus* spp.
Plantas con goma y mucílagos	--	*Malva* spp. *Hibiscus syriacus* *Linum* spp. *Plantago psyllium*

--Sin información
Fuente: Cases (2007).

Las familias botánicas Asteraceae (Compositae) y Lamiaceae son las más importantes por el número de representantes (Farias, 1994); la primera abarca 1, 911 géneros y 32, 913 especies, y la segunda se compone de 245 géneros y 7, 886 especies (The Plant List, 2013). La familia Asteraceae es de interés alimenticio y un fuente de oleaginosas, ornamentales y medicinales, además de que incluye a numerosas malezas. Por su parte, la familia de las Lamiaceas poseen aceites esenciales, muy apreciadas como condimentos, licorerías y como medicinal y ornamental (Farias, 1994).

1.1.1 Distribución de las plantas aromáticas

La distribución de las plantas aromáticas en el mundo está condicionada fundamentalmente, por factores ecológicos entre los que destacan el suelo y el clima (Cases, 2007). Por lo que los metabolitos secundarios de las plantas pueden variar considerablemente a nivel intraespecífico dependiendo del genotipo y la localización geográfica (Muñoz-Bertomeu *et al*., 2007; Herraiz *et al*., 2010; González *et al*., 2011).

Los metabolitos secundarios son compuestos de bajo peso molecular (Sepúlveda-Jiménez, *et al*., 2003), que no intervienen directamente en los procesos de crecimiento y diferenciación, ni son esenciales en los metabolismos básicos de fotosíntesis y respiración de las plantas (Taiz y Zeiger, 1998; Theis y Lerdau, 2003). Estos compuestos pueden tener funciones ecológicas como atrayentes o repelentes de animales (Ávalos y Péres-Urria, 2009), pueden tener efecto biológico contra bacterias, hongos, ácaros, nematodos, e insectos de importancia económica y urbana (Koul *et al.,* 2008), o bien, pueden ser responsables de la acción farmacológica de las plantas sobre el organismo (FUNDAQUIM *et al*., 2004).

Las principales rutas de biosíntesis de metabolitos secundarios derivan del metabolismo primario del carbono (Marcano y Hasegawa, 2002) (Figura 1.1).

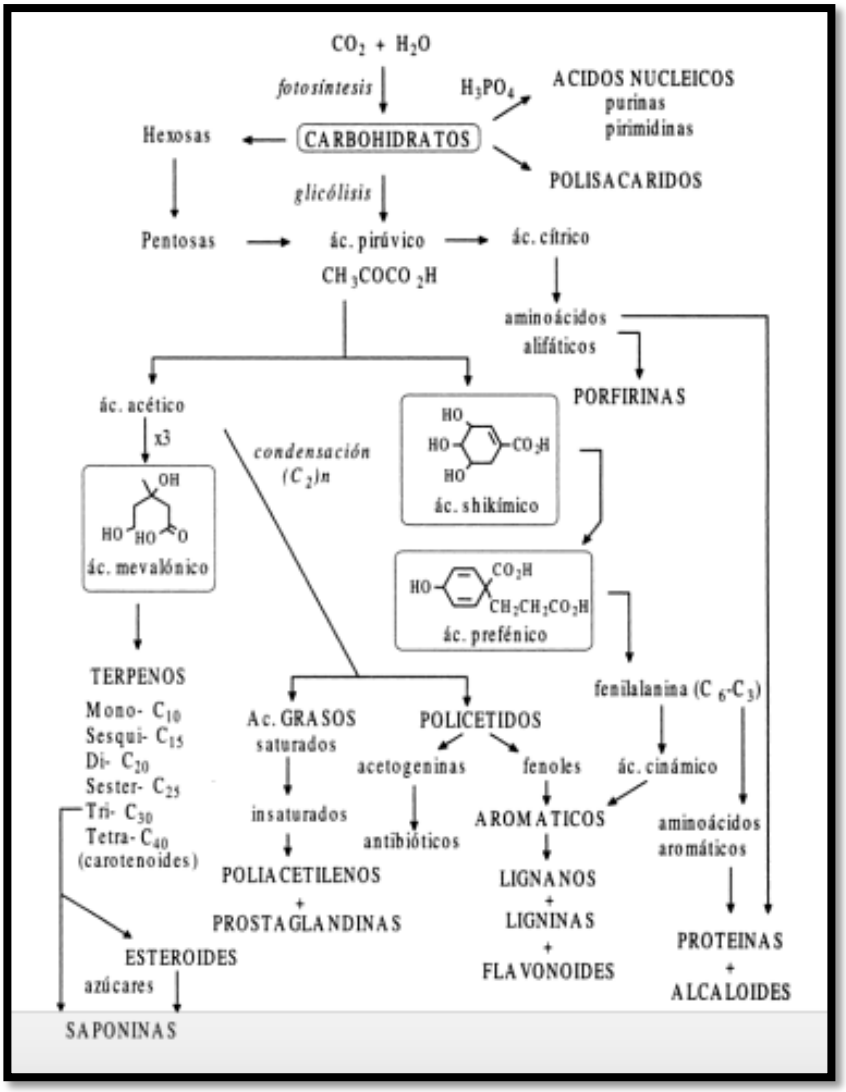


Figura 1.1 Esquema general de biosíntesis
Fuente: Marcano y Hasegawa (2002).

La Figura 1.1 “ilustra la secuencia de aparición de los productos. Los fragmentos pequeños se recombinan para generar grandes moléculas y de acuerdo con ese esquema, so observa cómo los metabolitos secundario se forman por distintas vías y cómo, siguiendo el criterio biogenético, una misma clase de compuestos por ejemplo los alcaloides, pueden tener varios orígenes” (Macano y Hasegawa, 2002).

Actualmente se conocen aproximadamente 20,000 estructuras de metabolitos secundarios (MS) que, por su composición química, son clasificados en dos grupos principales: nitrogenados y no nitrogenados. Los MS que contienen nitrógeno incluyen a los alcaloides, aminoácidos no protéicos, aminas, glucósidos cianogénicos y glucosinolatos. Los MS no nitrogenados se dividen en terpenoides, poliacetilenos, policétidos y fenilpropanoides (Sepúlveda-Jiménez, *et al*., 2003).

1.2 *Tagetes*

1.2.1 Importancia y distribución del género *Tagetes*

Las especies del género *Tagetes* han sido estudiadas por sus propiedades antagonistas, además de considerarlas como una alternativa potencial en el manejo de plagas y enfermedades en la agricultura (Zavaleta y Gómez, 1995), ya que varias especies de este género poseen una fuente importante de compuestos insecticidas (Green *et al*., 1991) y propiedades hipotensoras, espasmolíticos y anti inflamatorios y está adquiriendo importancia comercial debido a sus diversas actividades biológicas (Krishna *et al*., 2005). La familia Asteraceae se distribuye en todo el mundo y ocupa el segundo lugar en dispersión después de la familia Gramineae (Strother, 1977). En México la familia Asteraceae forma uno de los principales centros de diversificación, las estimaciones indican que México incluye unos 362 géneros y 3 021 especies de la familia, de las cuales 65.9 % son especies endémicas (Villaseñor, 2003).

La tribu Tageteae es nativa de América, principalmente en hábitats xéricos, moderados y extremos. Las Sierras Madre Occidental y Oriental de México, desde el norte de Coahuila hasta Oaxaca, son las regiones de mayor distribución (Strother, 1997).

Del género *Tagetes,* se han referido alrededor de 55 especies distribuidas principalmente en el Continente Americano, la mayoría de las cuáles se localizan en México (Turner, 1996). "Esta diversidad, ubica a México como centro de origen y diversidad de *Tagetes* en el mundo, o al menos como un centro de radiación evolutiva del género" (Serrato, 2010).

En el Cuadro 1.2 se propone una aproximación de distribución de especies de *Tagetes* en México, cabe indicar que hasta ahora no se ha realizado un estudio sobre la distribución ecogeográfica de esta especie.

Cuadro 1.2 Distribución de especies del Género *Tagetes* en México.

Región/Estados	**Especies**	**No. de especies**
Norte		
Baja California	*T. filifolia (a), T. micrantha (a), T. subulata (a), T. lacera (p), T. lucida (p), T. lunulata (a)*	6
Sonora	*T. erecta (a), T. filifolia, T. lucida, T. micrantha, T. palmeri (p), T. lemmonii (p), T. subulata, T. minuta (a)*	8
Chihuahua	*T. filifolia, T. lucida, T. micrantha, T. palmeri, T. pringlei (a), T. subulata*	6
Coahuila	*T. coronopifolia (a), T. Lucida, T. Micrantha*	3
Nuevo León	*T. lucida, T. micrantha, T. mulleri (p)*	3
Tamaulipas	*T. erecta, T. filifolia, T. lucida, T. foetidissima (a)*	4
Sinaloa	*T. filifolia, T. lucida, T. palmeri, T. patula (a), T. subulata, T. erecta*	6
Durango	*T. erecta, T. epapposa (a)* [†] *, T. filifolia, T. foetidissima, T. lucida, T. lunulata, T. micrantha, T. patula, T. pringlei, T. elongata (a), T. remotiflora (a), T. subulata*	12
Zacatecas	*T. filifolia, T. lucida, T. micrantha, T. patula, T. subulata*	5
Centro Sur		
San Luis Potosí	*T. erecta, T. lucida, T. micrantha, T. patula, T. parryi (p), T. tenuifolia*	6
Aguascalientes	*T. lucida, T. micrantha, T. lunulata, T. patula, T. pringlei*	5
Guanajuato	*T. filifolia, T. lucida, T. lunulata, T. micrantha, T. tenuifolia, T. patula, T. pringlei, T. remotiflora, T. subulata*	9
Nayarit	*T. erecta, T. filifolia, T. hartwegii, T. lucida, T. micrantha, T. patula, T. subulata*	7
Jalisco	*T. erecta, T. filifolia, T. foetidissima, T. jaliscensis (a), T. hartwegii (p), T. lucida, T. lunulata, T. micrantha, T. patula, T. persicaefolius, T. pringlei, T. stenophylla (p), T. subulata*	13
Colima	*T. filifolia, T. lucida, T. patula, T. subulata, T. tenuifolia*	5
Michoacán	*T. erecta, T. filifolia, T. foetidissima, T. lucida, T. lunulata, T. micrantha, T. persicaefolius, T. patula, T. pringlei, T. stenophylla, T. subulata, T. tenuifolia, T. remotiflora, T. triradiata, T. subvillosa*	15

Continua…

Cuadro 1.2 Distribución de especies del Género *Tagetes* en México.

Región/Estados	Especies	No. de especies
Centro Sur		
Guerrero	*T. arenicola (p), T. erecta, T. filifolia, T. foetidissima, T. lucida, T. patula, T. stenophylla, T. subulata*	8
Oaxaca	*T. erecta, T. filifolia, T. foetidissima, T. lucida, T. oaxacana (a), T. patula, T. subulata, T. tenuifolia*	8
Veracruz	*T. coronopifolia, T. erecta, T. filifolia, T. foetidissima, T. linifolia (p), T. lucida, T. micrantha, T. patula, T. tenuifolia*	9
Puebla	*T. coronopifolia, T. erecta, T. foetidissima. T. linifolia, T. lucida, T. micrantha, T. patula, T. subvillosa, T. triradiata, T. tenuifolia*	10
Tlaxcala	*T. coronopifolia, T. foetidissima, T. linifolia, T. lucida, T. micrantha, T. patula, T. tenuifolia*	7
México	*T. coronopifolia, T. erecta, T. filifolia, T. foetidissima, T. lucida, T. lunulata, T. micrantha, T. patula, T. persicaefolius, T. pringlei, T. stenophylla, T. subulata, T. triradiata, T. tenuifolia*	14
Distrito Federal	*T. coronopifolia, T. filifolia, T. micrantha, T. lunulata, T. patula, T. erecta*	6
Morelos	*T. coronopifolia, T. erecta, T. filifolia, T. foetidissima, T. lucida, T. micrantha, T. patula, T. stenophylla, T. subulata, T. subvillosa, T. triradiata, T. tenuifolia*	12
Hidalgo	*T. erecta, T. filifolia, T. foetidissima, T. lucida, T. lunulata, T. persicaefolius, T. tenuifolia*	7
Querétaro	*T. erecta, T. filifolia, T. foetidissima, T. lucida, T. lunulata, T. micrantha, T. moorei (a-* *sp-p, T. patula, T pringlei, T. remotiflora,), T. tenuifolia*	11
Sur-Sureste		
Chiapas	*T. erecta, T. filifolia, T. foetidissima, T. lucida. T. nelsonii, T. subulata, T. tenuifolia, T. terniflora*	8
Campeche	*T. patula*	1
Yucatán	*T. erecta, T. patula, T. tenuifolia*	3
Tabasco	*T. lucida*	1

† Subacuática, (a) anual o herbácea, (sp) semiperenne, (p) perenne.
Fuente: Serrato, 2010.

1.2.2 Distribución de *Tagetes lucida* en el Estado de México

T. lucida en el Estado de México se ha encontrado en 22 municipios según la base de datos de Discover Life (2014), entre los que se encuentran: San Simón de Guerrero, Temascaltepec, Toluca, Almoloya de Juárez, Villa Victoria, Villa Guerrero, Malinalco, Texcoco, Papalotla, Tonatico, Ixtapaluca, Tlalmanalco, Tlalnepantla de Baz, Nicolás Romero, Cuautitlán Izcalli, Tepotzotlán, Ecatepec, Tultitlan, Villa del Carbón, Jilotepec, Coatepec de Harinas y la Ciudad de México (Figura 1.2).

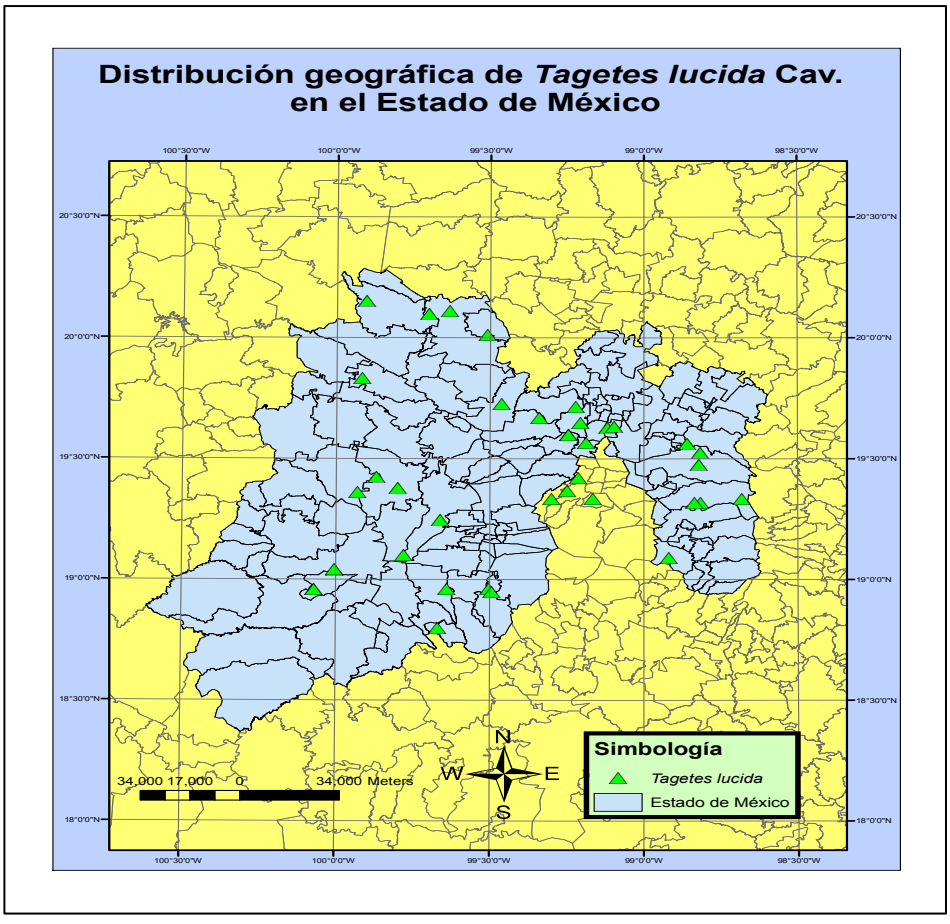


Figura 1.2 Distribución de *T. lucida* en el Estado de México.
Fuente: Elaboración propia con la base de datos de Discover Life (2014).

1.2.3 Clasificación taxonómica y descripción botánica de *T. lucida*

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Asterales

Familia: Asteraceae

Tribu: Tageteae

Género: *Tagetes*

Plantas herbáceas anuales o perennes, aromáticas al estrujarse; las hojas son compuestas, pinnadas, algunas veces simples; las cabezuelas son solitarias o cimoso-corimbosas, con involucro cilíndrico, fusiforme o angostamente campanulado, sus brácteas de tamaño subigual, unidas entre sí hasta cerca del ápice y provistas de dos hileras de glándulas oleíferas translúcidas; las flores son liguladas, fértiles, sus corolas son amarillas; las flores del disco son hermafroditas, las anteras con las bases obtusas, ramas del estilo de las flores hermafroditas son truncadas y con apéndices cónicos cortos; los aquenios lineares o claviformes tienen vilano de 3 a 10 escamas desiguales, a veces unidas entre sí (Calderón y Rzedowski, 2005).

1.2.4 Usos etnobotánicos de *T. lucida*

El *Libellus de Medicinalibus Indorum Herbis (Tratado sobre hierbas medicinales indígenas),* es el primer libro escrito por indígenas y elaborado por el nuevo mundo (finales del siglo XV), que trata sobre plantas curativas americanas. El *Libellus* documenta el encuentro entre los remedios autóctonos mesoamericanos con la medicina europea y es hoy la base para entender el papel de las plantas medicinales mexicanas

entre las culturas del pasado, así como en la sociedad contemporánea. Entre las plantas tratadas en este, predominan las de las familias botánicas Asteraceae y Fabaceae, un patrón encontrado en las flores medicinales en todo el mundo (Bye y Linares, 2013).

Sin embargo, son "los códices de la Cruz-Badiano y Florentino los que conforman los primeros documentos que consignan información etnobotánica de *Tagetes*" (Serrato, 2010). En el primer Códice mencionado se enlista la especie de *T. lucida* a la cual se le consigna el uso contra la herida del rayo o fulminado, uso que hasta la fecha se ha mantenido, y se sigue empleando para el espanto, tomada o en baños (Bye y Linares, 2013). "El pericón ha tenido muchas aplicaciones medicinales y mágicas, ya que sirve para bajar la fiebre, resolver problemas menstruales, combatir la diarrea, como protección al cruzar un río, contra los aires, para resguardo de la milpa", entre otros (Lozoya, 1999).

"El Códice Florentino (Estrada *et al*., 1988) da cuenta de los principales aprovechamientos que el hombre mesoamericano dio a algunas especies de *Tagetes*, entre los que destacan los ceremoniales y medicinales, aunque se registran otros como atenuantes o comestibles" (Serrato, 2010).

Un importante testimonio sobre conocimiento relacionado con el uso de las plantas del género *Tagetes* por su uso medicinal en México, lo constituye la información que aparece en el mural de Tepantitla, en Teotihuacán, que representa al Tlalocan o paraíso de Tláloc, en el se pueden apreciar plantas medicinales utilizadas en el México antiguo, dentro de esas plantas, a la orilla de un canal se representan varias plantas floridas cuya identificación botánica sugiere que corresponden al pericón (*T. lucida*), sin embargo, sigue siendo difícil interpretar la información que brinda el mural (Lozoya, 1999).

Otra especie del género *Tagetes* muy representada en fuentes arqueológicas es el *cempoalxóchitl* (*Tagetes erecta*), una planta siempre presente en el ámbito cultural mesoamericano de usos variados, entre los que predominaron el ritual, el mágico y el medicinal, debido a su fuerte olor y llamativo color. A esta especie se le puede observar en los tocados que portan las dos representaciones de la Coyolxauhqui más conocidas: la del Museo Nacional de Antropología y la del Templo Mayor. Asimismo, esta flor aparece en varias vasijas-efigie femeninas de uso ceremonial encontradas en Tlatelolco y en el Templo mayor (1978-1982). Después, entre los mayas, el *cempoalxóchitl* fue usado en terapias: se le preparaba como infusión y se inhalaba el olor de la pócima para combatir el dolor de cabeza y por vía oral se usaba para los dolores de estómago (Lozoya, 1999).

Incluso en los jardines botánicos prehispánicos se tiene registro de la presencia de especies del género *Tagetes*; uno de los jardines es el del Señor de Ixtapalapa, en el cual había *T. lucida* (Velasco, 2002).

Actualmente el uso de especies de *Tagetes* en México sigue siendo muy común, algunas especies se llegan a ofrecer seccionadas para su venta en los tianguis regionales y mercados de zonas urbanas (García *et al*., 2012).

1.2.5 Composición química de *T. lucida*

Los principales compuestos del aceite esencial de *T. lucida* son cumarinas y flavonoides (Céspedes *et al*., 2006) además de aceites esenciales (Guzmán y Manjarréz, 1962); se ha registrado la presencia de estragol como principal componente y otros como el anetol y el metil eugenol (Guzmán y Manjarréz, 1962; Bicchi *et al*., 1997; Cicció, 2004). En Cuba se reportó la presencia de estragol (96.8 %), mirceno (2.3 %), germacreno D (0.3

%), (E)-β-ocimeno (0.2 %), linalool (0.1 %), (E)-β-cariofileno y (E,E)-α-farnesano (0.1 %) (Regalado *et al*., 2011); en muestras obtenidas en Guatemala el estragol (33.9 %), metil eugenol (24.3 %) y (E)-anetol (23.8 %) (Bicchi *et al*., 1997); mientras que en materiales de Costa Rica se reporta la presencia de estragol (97.3 %), mirceno (0.6 %), germacreno D (0.5 %), (E,E)-α-farnesano (0.3 %), (E)-β-farnesano (0.3 %), linalool (0.3 %), β-cariofileno (0.2 %) y (E)-β-ocimeno (0.2 %) (Cicció, 2004); finalmente en México se ha identificado metil eugenol (80 %) y estragol (12 %) (Serrato, 2007).

1.3 Cultivo del jitomate (*Solanum lycopersicum*)

1.3.1 Importancia y distribución de *S. lycopersicum*

El jitomate (*Solanum lycopersicum*) es una de las hortalizas más cultivadas en el mundo, los 10 principales países productores que concentran más del 80 % del total mundial son: China, India, Estados Unidos, Turquía, Egipto, Irán, Italia, Brasil, España y México (2, 649, 358 toneladas, cantidad que contribuye en la oferta mundial de la hortaliza con 2 % SIAP, 2015). Los tres primeros marcan las tendencias de precios y consumo mundiales (FAOSTAST, 2012).

La FAO reporta que el volumen de producción a nivel mundial se ha incrementado significativamente hasta en un 26 % entre los años 2000-2008 (FAOSTAT, 2010). El aumento en la producción se atribuye a la introducción de nuevas variedades y a la adopción de mejores prácticas culturales, uso de fertilizantes, manejo de riego y control de plagas (Grandillo, *et al*., 1999).

El jitomate es el 8º cultivo con mayor valor en México, el promedio anual de producción alcanzado en los últimos 10 años es de alrededor de 2.4 millones de toneladas cuyas variedades saladette y bola son las mayormente producidas, además del cherry, teniendo

un consumo anual per cápita de 12.4 kg (FND, 2014; SIAP, 2015). La concentración de potencial productivo alto se encuentra en pequeñas regiones del Eje Neovolcánico y de la Llanura Costera del Pacífico, y de las exportaciones mexicanas de jitomate, 98 % tienen como destino Estados Unidos (SIAP, 2015). La producción de esta hortaliza, abarca una superficie total sembrada de 53 mil ha, de las cuales, aproximadamente 20 mil ha están destinadas a la agricultura protegida (SIAP, 2014). Por lo que la producción de jitomate en el país es de gran importancia económica (Muñoz *et al*., 1995).

Las zonas productoras más importantes como Sinaloa, Nayarit, Jalisco y Michoacán las formas cultivadas de la especie corresponden a variedades mejoradas, en tanto que las variedades autóctonas sólo es posible encontrarlas en algunas regiones de Oaxaca, Guerrero y Veracruz (Conabio, 1998).

1.3.2 Pérdida agrícola del jitomate por plagas y enfermedades

"En cualquier región de producción de jitomate, el incremento de la superficie cultivada también provoca un incremento en los problemas fitosanitarios y abióticos de adaptación a condiciones específicas de cultivo" (Baena *et al*., 2003), se estima que en promedio el control de plagas y enfermedades representa aproximadamente el 25 % del gasto total de producción (Martínez, s/f).

"Las enfermedades son un factor que disminuye la cantidad y calidad de la producción, y que está siempre presente en los cultivos debido principalmente al uso inadecuado de los plaguicidas, que han causado la selección de poblaciones de patógenos con resistencia y que al incrementarse provocan severos daños al cultivo" (Mendoza, 1999).

Las principales plagas y enfermedades que afectan el cultivo del jitomate a nivel mundial son: Tizón Tardío (*Phytophthora infestans*), Tizón Temprano (*Alternaria*

solani), Mildiú polvoso (*Leveillula taurina*), Damping-off (complejo de patógenos de los géneros: *Pythyum, Phytophthora, Fusarium, Alternaria*), Botritis (*Botrytis cinérea*), *Xantomonas capestris,* Mosca Blanca (*Bermisia tabaco*), Trips (*Frankiniella occidentalis*), Gusano del fruto (*Helicoverpa zea*), Gusano Soldado (*Spodoptera exigua*), Gusano alfiler (*Keiferia lycopersicella*), *Erwinia carotovora*, Ácaros: Araña roja (*Tetranychus spp*), ácaro blanco (*Polyphagotarsonemus latus*) y Nematodos (Obregón, 2012).

Las enfermedades de importancia económica del jitomate en México son los tizones temprano y tardío (*Alternaria solani* y *Phytophthora infestans*, respectivamente), las pudriciones radiculares o ahogamiento (*Pythium* spp., *Phytophthora* spp., *Rhizoctonia* spp., *Fusarium* spp.) y el ataque de nemátodos agalladores (*Meloidogyne* spp. y *Nacobbus* spp.), estos últimos causan pérdidas del 50 al 100 %. Los daños son: muerte de la planta y frutos de baja calidad (Mendoza, 1999; Prado-Vera *et al*., 2001).

1.4 Aceites esenciales

Para Tisserand y Young (2014), los aceites esenciales son mezclas de compuestos orgánicos volátiles, procedentes de una sola fuente botánica, y que contribuyen al sabor y fragancia de una planta. Para Greathed (2003) y González *et al*. (2011), los aceites esenciales son mezclas complejas de metabolitos secundarios, en la que la mayor parte la conforman componentes alifáticos de bajo peso molecular, como ácidos, alcanos, alcoholes, aldehídos, cetonas y ésteres; asimismo, fenilpropanos, terpenos y terpenoides.

No obstante las diferencias conceptuales, los aceites esenciales comparten características físicas, como el que son líquidos, volátiles, transparentes y rara vez coloreados, soluble en lípidos y soluble en disolventes orgánicos con una densidad generalmente más baja

que la del agua. Estos pueden ser sintetizados por toda la planta o en órganos, es decir, brotes, flores, hojas, ramas, semillas, frutas, raíces, madera o corteza, y se almacenan en las células secretoras, cavidades, canales, las células epidérmicas o tricomas glandulares (Bakkali *et al*., 2008).

Conviene resaltar que desde la Edad Media los árabes ya obtenían aceites esenciales por vapor o hidrodestilación y que se conocían por sus propiedades antisépticas, es decir, bactericida, viricida y fungicida, además de sus propiedades medicinales y su fragancia (Bakkali *et al*., 2008).

1.4.1 Componentes de los aceites esenciales

La composición de los aceites pueden variar con base en la constitución genética de la especie, las condiciones agronómica en que se desarrollan las plantas (Krishna *et al.,* 2002; Sefidkon *et al.,* 2004), y las condiciones ambientales (Masotti *et al*., 2003; Angioni *et al*., 2006) es decir, fertilización, nivel de humedad en el suelo, el clima, la composición del suelo, órgano de la planta, la edad, la fertilización y la etapa del ciclo vegetativo.

Considerando que la expresión de las características de los aceites esenciales se deben tanto a factores genéticos como ambientales, la noción del concepto de heredabilidad puede ayudar a entender el fenómeno de la variabilidad en las poblaciones, toda vez que para el caso de la especie en cuestión haya un origen geológico ambiental asociado con su distribución natural y por otra parte se tiene la perspectiva de prácticar selección para desarrollo de variedades. En consecuencia, se entiende que la heredabilidad es la proporción de variación genotípica observada en la planta y que es reflejada en la descendencia (Reyes, 1985; citado por Pérez *et al.,* 2000). La heredabilidad puede

expresarse en dos formas: 1) heredabilidad en sentido amplio (H^2), se define como el cociente de la varianza genotípica (σ^2_G) entre la varianza fenotípica (σ^2_P), que representa la parte proporcional de la varianza fenotípica u observada atribuible a los efectos totales de los genes de una población y 2) heredabilidad en sentido estricto (h^2), como el cociente de la varianza fenotípica atribuible a los efectos aditivos de los genes de la población (σ^2_A/σ^2_P) (Molina, 1992; citado por Pérez *et al*., 2000).

De manera general los aceites esenciales pueden contener alrededor de 20 a 60 compuestos a muy diferentes concentraciones (Bakkali *et al*., 2008), los aceites se caracterizan por dos o tres componentes principales en concentraciones relativamente altas (20 a 70 %) en comparación con otros componentes presentes en cantidades traza; generalmente estos compuestos principales determinan las propiedades biológicas de los aceites esenciales. Los componentes incluyen dos grupos de distinto origen biosintético (Pichersky, *et al*., 2006). El principal grupo está compuesto de terpenos y terpenoides y el otro por compuestos aromáticos y constituyentes alifáticos, todos caracterizados por un bajo peso molecular. Los terpenos se forman a partir del isopreno (unidad de cinco átomos de carbono). La biosíntesis de los terpenos consiste en la síntesis de pirofosfato de isopentenilo (IPP) o isopreno activo, el IPP se isomeriza para formar dimetil alil pirofosfato, precursor de varias clases de terpenos, modificando el pirofosfato alílico por síntesis especificas del terpeno para formar el esqueleto del terpeno y finalmente, la modificación enzimática secundaria (reacción redox) del esqueleto para las propiedades funcionales del atributo para los diferentes terpenos. En lo que respecta a los compuestos aromáticos derivados de fenilpropano se dan con menor frecuencia que los terpenos. La vía biocinética relativa a los terpenos y derivados de fenilpropanos generalmente están separados en las plantas, pero pueden coexistir en algunas especies. Los compuestos

aromáticos constan de: Aldehído (cinamaldehído), Alcohol (alcohol cinámico), Fenoles (chavicol, eugenol), derivados methoxy (anetol, elemicine, estragol, metil eugenol) y Compuestos de metilendioxi (apiol, miristicina y safrol) (Bakkali *et al*., 2008) (Figura 1.3).

1.4.2 Distribución de los aceites esenciales en las plantas

Aproximadamente 3000 especies de plantas contienen aceites esenciales, de los cuales sólo 300 son de importancia comercial. Los aceites esenciales y algunos de sus componentes se utilizan no sólo en la industria farmacéutica por sus propiedades terapéuticas, sino también en la agricultura, como conservantes de alimentos y aditivos para uso humano o animal, en cosmética y perfumes, y otros campos industriales. Los aceites esenciales se extraen de diversas plantas aromáticas generalmente localizadas en países templados a cálidos como los países mediterráneos y tropicales donde representan una parte importante de la medicina tradicional (Bakkali *et al*., 2008).

Las familias botánicas más características en las que se encuentran especies con aceites esenciales son las Asteraceae, Libiatae, Umbeliferae, Mirtaceae, Turaceae y Lauraceae. Los aceites esenciales, se pueden encontrar localizados en distintos órganos de la planta; por ejemplo, en las raíces *Santulum album, Valeriana officinalis* L., *Vetiveria zizanioides* y *Zingiber officinale*. En cambio las especies *Pimpinela anisum, Foeniculum vulgare, Coriandrum sativum y Anethum graveolens* tienen alto contenido de aceite esencial en sus semillas y frutos. En las hojas, el aceite esencial es abundante en especies como *Mentha* spp., *Origanum* spp., *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis*, *Ocimun basilicum* y *Cymbopogon citratus*. En el leño, *Bulnesia sarmientoi* y en la corteza, *Cinamomun zeylanicum* tienen alto contenido de aceite esencial. Las especies *Lavandula*

spp., *Cananga odorata*, *Jasminum officinale* L., *J. grandiflorum* L. y *Rosa* spp. presentan mayor contenido de aceite esencial en las flores (Ringuelet, 2013).

Los componentes en mayor concentración que se pueden encontrar en el aceite esencial de algunas de las especies ya mencionadas son carvacrol (30 %) y timol (27 %) en *Origanum compactum;* linalol (68 %) en *Coriandrum sativum;* α- y β- Tujona (57 %) y alcanfor (24 %) en *Artemisia herba-alba;* 1,8- cineol (50 %) en *Cinnamomum camphora;* α- felandreno (36 %) y limoneno (31 %) de la hoja y carvona (58 %) y limoneno (37 %) en semillas de *Anethum graveolens* y el mentol (59 %) y mentona (19 %) en *Mentha piperita*. Generalmente, estos componentes principales determinan las propiedades biológicas de los aceites esenciales (Betts, 2001; Pichersky *et al*., 2006).

1.4.3 Aceites esenciales y su función

En la naturaleza, los aceites esenciales desempeñan un papel importante en la protección de las plantas como antibacterianos, antivirales, antifúngicos, insecticidas y también contra los herbívoros al reducir su apetito por tales plantas. También pueden atraer a algunos insectos para favorecer la dispersión de polen y semillas, o repeler otros indeseables (Bakkali *et al*., 2008). La compleja composición de los aceites esenciales y la variedad de estructuras químicas de sus componentes son responsables de una amplia gama de actividades biológicas, muchas de las cuales son de interés creciente en los campos de la salud humana y animal. Particularmente, muchos aceites esenciales y sus componentes se han utilizado tradicionalmente por su actividad antimicrobiana (Cheng *et al*., 2003) y por su actividad citotóxica que se debe principalmente a la presencia de fenoles, aldehídos y alcoholes (Bruni *et al*., 2004; Sacchetti *et al.,* 2005). Esta propiedad citotóxica es de gran importancia en las aplicaciones de aceites esenciales no sólo en

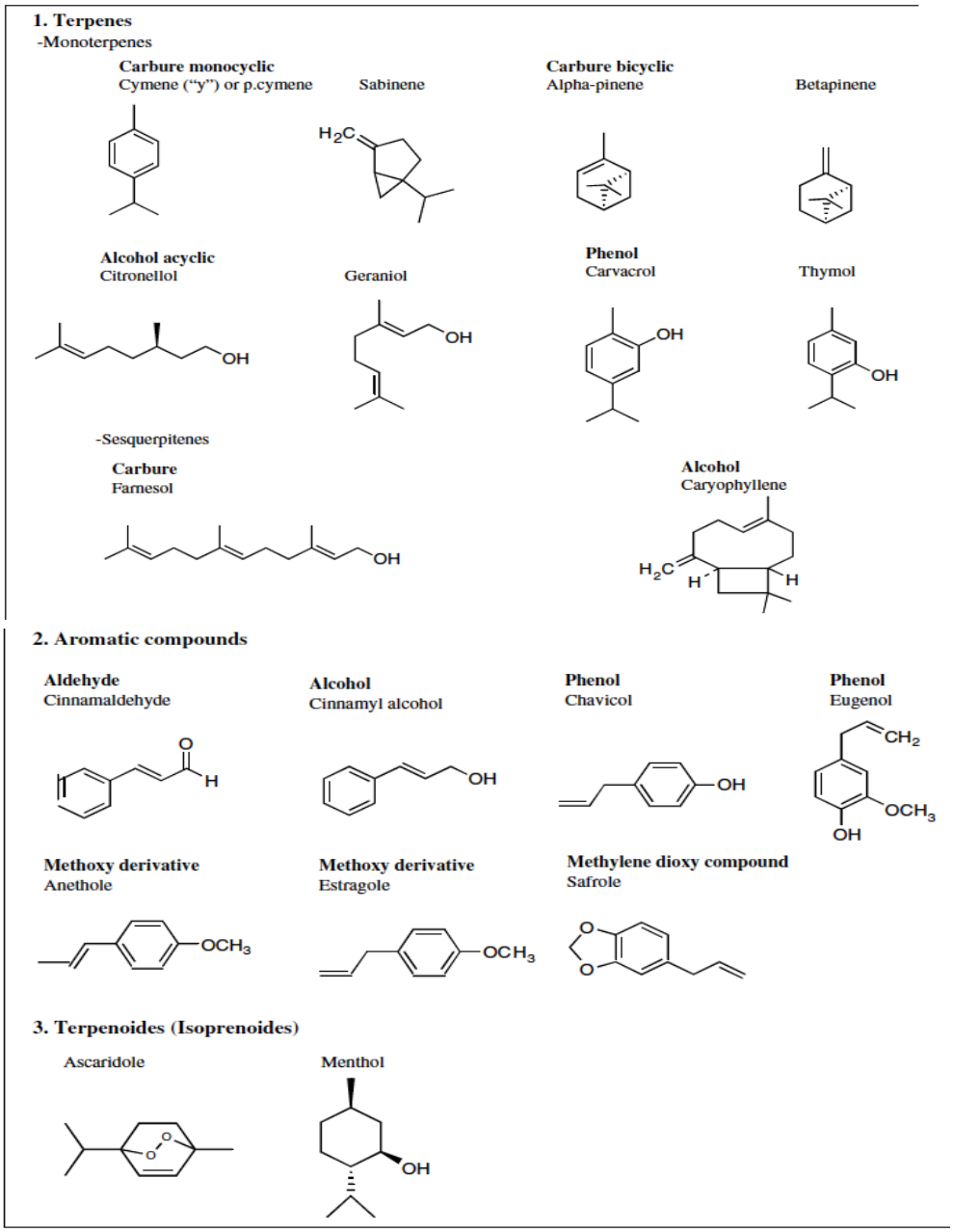
contra de algunos patógenos humanos, animales o parásitos sino también para la conservación de los productos agrícolas o marinos. Los aceites esenciales o algunos de sus componentes son realmente eficaces contra una gran variedad de organismos incluyendo bacterias (Holley y Patel, 2005; Basile *et al*., 2006; Schelz *et al*., 2006; Kurtulmus *et al*., 2009), hongos (Hammer *et al*., 2002; Velluti *et al*., 2003, 2004; Serrano *et al*., 2005; Calvaleiro *et al*., 2006; Pawar y Thaker, 2006; Soylu *et al*., 2006), protozoarios (Monzote *et al*., 2006), parásitos (Moon *et al*., 2006; Priestley *et al*., 2006), larvas (Hierro *et al*., 2004; Pavela, 2005; Morais *et al*., 2006), lombrices, insectos (lamiri *et al*., 2001; Sim *et al*., 2006; Park *et al*., 2006; Chaiyasit *et al*., 2006; Cheng *et al*., 2007) y nematodos (Piedra *et al*., 2008; Andrés *et al*., 2012; Ntalli y Caboni, 2012; Murga-Gutiérrez *et al*., 2012). En el Cuadro 1.3 se hace mención de la actividad biológica de los aceites esenciales de algunas especies de plantas contra diferentes organismos.

1.4.4 Ensayo Piloto

Montgomery (2004) sugiere que antes de llevar a cabo el experimento, es conveniente en muchas ocasiones realizar algunas pruebas piloto. Estas pruebas proporcionan información acerca de la consistencia del material experimental, una comprobación del sistema de medición, una idea aproximada del error experimental y la oportunidad de poner en práctica la técnica experimental global. Esto ofrece también una oportunidad para revisar, de ser necesario, las decisiones tomadas.

Para el caso de las destilaciones, un ensayo piloto se refiere al equipo que se utiliza y las condiciones de manejo durante la extracción del aceite esencial (Savedra *et al*., 2010), provee información necesaria para escalar los resultados experimentales a un nivel de

aplicación práctica, en especial para el desarrollo de bioplaguicidas (Zapata-Maldonado *et al*., 2015).



Figurara 1.3 Estructuras químicas de algunos componentes de aceites esenciales
Fuente: Bakkali *et al*. (2008)

Cuadro 1.3 Ejemplos de aplicaciones de los aceites esenciales en la medicina, medio ambiente, agricultura y alimentos.

Especies o componentes	Organismos patógenos	Concentraciones	Fuente
Sideritis italica	*Helicobacter pylori*	3.9–250 μg mL^{-1}	Basile *et al*. (2006)
	Pseudomonas aeruginosa *Proteus mirabilis* *Salmonella typhimurium* *Proteus vulgaris*		
Oregano	*Fusarium graminearum*	500,100 mg kg^{-1}	Velluti *et al*. (2004)
Cinnamon			
Lemongrass	Zearalenona, deoxinivalenol		
Clavo			
Palmarose	Producción (grano de maíz)		
Juniperus communis	*Aspergillus niger*	MIC (hoja) 0.08–10 μL mL^{-1}	Cavaleiro *et al*. (2006)
Juniperus oxycedrus	*Aspergillus fumigatus*	MIC (baya) 0.32–20 μL mL^{-1}	
Juniperus turbinata	*Aspergillus flavus*	MLC (hoja) 0.08–20 μL mL^{-1}	
	Candida albicans	MLC (baya) 0.32–20 μL mL^{-1}	
	Candida krusei *Candida tropicalis* *Candida glabrata* *Candida parapsilosis* *Microsporum canis* *Microsporum gypseum* *Trichophyton rubrum* *Trichophyton mentagrophytes* *Epidermophyton floccosum*		
Origanum syriacum	*Phytophthora infestans* (tomate, enfermedad tizón tardío)	0.4–2.0 μg mL^{-1} air 6.4, 12.8, 25.6, 51.2 μg mL^{-1} (fase de contacto)	Soylu *et al*. (2006)
Thymbra spicata, Lavandula stoechas Rosmarinus officinalis, Foeniculum vulgare, *Laurus nobilis*			

Continua…

Cuadro 1.3 Ejemplos de aplicaciones de los aceites esenciales en la medicina, medio ambiente, agricultura y alimentos.

Especies o componentes	Organismos patógenos	Concentraciones	Fuente
Chenopodium ambrosioides	*Leishmania amazonensis*	30 mg kg^{-1} ratones	Monzote *et al*. (2006)
Lavandula angustifolia	*Giardia duodenalis*	0.1%, 1%	Moon et al. (2006)
	Trichomonas vaginalis		
	Hexamita inflata		
Geraniol	*Anisakis simplex* (larvae)	3.12, 6.25, 12.50 μg mL^{-1}	Hierro *et al*. (2004)
Citral, Citronellol, Carvacrol, Eugenol, Cuminaldehyde			
Nepeta cataria**,**	*Spodoptera littoralis* (larvae)	LC50 10, 20 mL m^3 LD 0.05 μL $larvae^{-1}$	Pavela, 2005
*Thuja occidentalis***,** *Salvia sclarea***,** *Thymus mastichina***,** *Origanum majorana***,** *Pogostemon cablin***,** *Mentha pulegium***,** *Mentha citrata***,** *Origanum vulgare* *Origanum compactum* *Melissa officinalis* *Lavandula angustifolia,* etc.			
Croton nepetaefolius	*Aedes aegypti* (larvae)	LC50 84 ppm	Morais *et al*. (2006)
Croton argyrophyloides		LC50 102 ppm	
Croton sonderianus		LC50 104 ppm	
Croton zehntneri		LC50 28 ppm	
44 aceites esenciales	*Cadra cautella (Lepidoptera Pyralidae*)	2.4, 4.7 mg/cm^2 64.7 mg L^{-1} air	Sim et al. (2006)
Apium graveolens,	*Aedes aegypti* (adult)	5.44–8.83 μg mg^{-1}	Chaiyasit *et al*. (2006)
Carum carvi, *Curcuma zedoaria,* *Piper longum,* *Illicium verum*			
11 aceites esenciales de los árboles de coníferas	*Coptotermes formosanus* (termita)	10 mg/g LC50 2.6 mg g^{-1}	Cheng *et al*. (2007)

Continua…

Cuadro 1.3 Ejemplos de aplicaciones de los aceites esenciales en la medicina, medio ambiente, agricultura y alimentos.

Especies o componentes	Organismos patógenos	Concentraciones	Fuente
Eucalyptus globulus,	*Hessian fly* *Mayetiola destructor*	2, 4, 6, 10, 20 μL L $^{-1}$air	Lamiri *et al*. (2001)
M. communis *Pistacia lentiscus*, *I. graveolens*, *C. atlantica*, *Origanum compactum*, *Ammi visnaga*, *Citrus sinensis* *Tanacetum annuum*, *Mentha pulegium* *Rosmarinus officinalis*, *T. saturoides*, *Mentha viridis*, *Origanum majorana*, *L. officinalis*, *Artemisia arborescens*, *Artemisia herba-alba*			
40 aceites esenciales	*Lycoriella ingenua* (diptera)	10, 5 μL L^{-1} air 1.25, 0.625 μL $^{L-1air}$	Park *et al*. (2006)
Armoracia rusticana, *Pimpinella anisum* *Allium sativum,* *Chenopodium ambrosioides,* *Eucalyptus globulus,* *Eucalyptus smithii*			
Allyl isothiocyanate,		LC50 0.15, 0.20, 0.87, 1.47 μL L^{-1} air	
Trans-anetol Disfulfuro de dialilo, p-Anisaldehído			
M. arvensis,	J2 *Meloidogyne javanica*	1 mg ml^{-1}	Andrés *et al.* (2012)
M. rotundifolia, *M. spicata,* *Satureja* *Montana,* *Thymus mastichina,* *T. vulgaris,* *T. zygis*			
Stagmomantis montana		LC 50 0,041 mg ml^{-1} LC 90 0,087 mg ml^{-1}	

Continua…

Cuadro 1.3 Ejemplos de aplicaciones de los aceites esenciales en la medicina, medio ambiente, agricultura y alimentos

Especies o componentes	Organismos patógenos	Concentraciones	Fuente
Tagetes patula	*Meloidogyne arenaria* *M. hapla* *M. incognita* *M. Javanica*	Nodulación radicular	Piedra *et al*. (2008)
Aldehídos y cetonas Alcaloides Glucósidos Los glucosinolatos e isotiocianatos. Limonoides, quasinoides y saponinas. Ácidos orgánicos Compuestos fenólicos, flavonoides, y quinonas. Terpenos Piper amides. Poliacetilenos	*Meloidogyne sp.*	Metabolitos secundarios	Ntalli y Caboni (2012)
Tagetes minuta	*M. incognita*	Enmienda orgánica al 20, 35 y 50 % al suelo de cultivo de plantas de *C. annuum* limita la nodulación radicular.	Murga-Gutiérrez *et al.* (2012)

MIC: Mínima Concentración Inhibitoria, LC: Concentración Letal, LD: Dosis Letal, MLC: Concentración Letal Mínima.

1.5 Nematodos agalladores en jitomate

Los nematodos son los organismos multicelulares más numerosos presentes en los agroecosistemas donde se pueden encontrar en densidades superiores a 30 millones m^2 (Andrés, 2003); estos organismos tienen una estructura muy sencilla, comprenden especies parásitas de plantas que pueden causar problemas graves en los cultivos, pero también existen nematodos saprófagos que favorecen la descomposición de la materia orgánica, omnívoros e incluso depredadores, sin olvidar que hay nematodos parásitos de

animales, entre ellos los entomopatógenos que parasitan insectos, y pueden emplearse en la lucha biológica contra las plagas (Harris y Ferris, 1991).

Uno de los principales factores limitantes en la producción de tomate lo constituyen los nematodos fitoparásitos (Salazar-Antón y Guzmán-Hernández, 2013). Los nematodos fitoparásitos se caracterizan por poseer estilete, que es una especie de aguja hipodérmica, provista de un conducto interior, y una musculatura que permite que el órgano sea retráctil y se pueda introducir dentro de la raíz y los tejidos de las plantas, para su alimentación. Se dividen en ectoparásitos que se alimentan en los pelos radiculares y en las células epidérmicas de la raíz, con un estilete muy débil, y otros que se alimentan de células profundas de los tejidos, como los transmisores de virus, que poseen un estilete muy largo. Otros son endoparásitos, unos son sedentarios, principalmente los de forma esférica, y otros son móviles (Llácer *et al*., 1996).

A nivel mundial se reconocen más de 60 especies de nematodos relacionados con el cultivo del jitomate. Los más dañinos pertenecen a cuatro géneros; *Meloidogyne, Pratylenchus, Rotylenchulus y Nacobbus*. Las especies y razas más comunes a nivel mundial pertenecen a *M. incognita y M. javanica* (80 %) (CATIE, 1990).

1.5.1 *Nacobbus aberrans*

"Nacobbus aberrans es un fitoparásito con una alta capacidad reproductiva y amplia gama de hospedantes, lo que lo convierte en un patógeno importante y de difícil manejo. Presenta una gran variabilidad morfológica y patogénica, y se distribuye ampliamente en las regiones tropicales y templadas del continente Americano, parasitando a más de 84 especies cultivadas y no cultivadas pertenecientes a 18 familias botánicas" (Cabrera, 2014).

En México, *N. aberrans* o "nematodo falso agallador" se ha encontrado en los estados de Coahuila, Distrito Federal, Guanajuato, Hidalgo, Estado de México, Michoacán, Morelos, Puebla, Oaxaca, San Luis Potosí, Tlaxcala y Zacatecas; es uno de los nematodos más importantes por las pérdidas que causa en la producción de hortalizas tales como chile (*Capsicum annuum L.*), jitomate (*Solanum lycopersicum*) y frijol (*Phaseolus vulgaris L.*), siendo el jitomate uno de los hospedantes más afectados (Cid, 1986; Manzanilla-López *et al*., 2002).

1.5.2 Clasificación taxonómica y descripción morfológica de *N. aberrans*

Reino: Animalia

Filo: Nemata

Clase: Secernentea

Orden: Tylenchida

Familia: Pratylenchidae

Subfamilia: Nacobbinae

Genero: *Nacobbus*

Especie: *Nacobbus aberrans* (Thorne, 1935) Thorne & Allen, 1994 (Llácer et al., 1996).

El género *Nacobbus* se caracteriza por el marcado dimorfismo sexual (Figura 1.4) que presentan los estados adultos, pues el cuerpo de las hembras es sacular (tiene un solo ovario y vulva subterminal); los machos son vermiformes con una bolsa pequeña que envuelve a la punta de la cola; cutícula anillada; un par de espículas y alas caudales terminales; ambos sexos tienen estilete; en ambos sus glándulas esofágicas están sobrepuestas dorsalmente al intestino. El tamaño del nematodo macho es de 200 μc y de una hembra madura de 40 μc (Manzanilla-López *et al*., 2002) (Fig. 1.5).

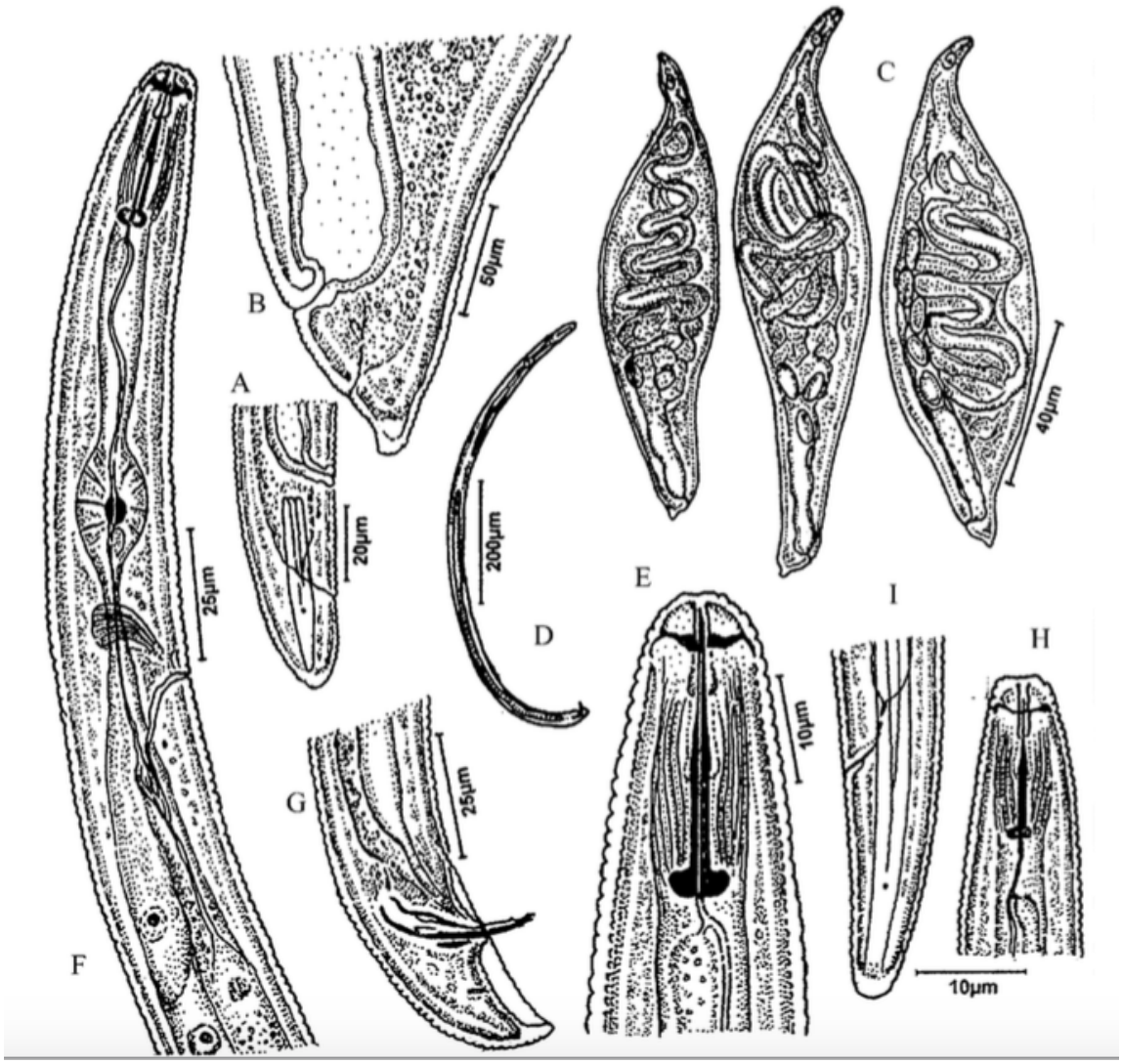


Figura 1.4 Anatomia de *Nacobbus aberrans*

A. Hembra inmadura; B. Región posterior de hembra madura; C. Hembras maduras; D. Macho; E. Región anterior del Macho; F. Esófago del macho; G. Región posterior del macho; H. Región anterior de la segunda etapa juvenil (J2); I. Posterior región de J2.

Fuente: Manzanilla-López *et al*. (2002).

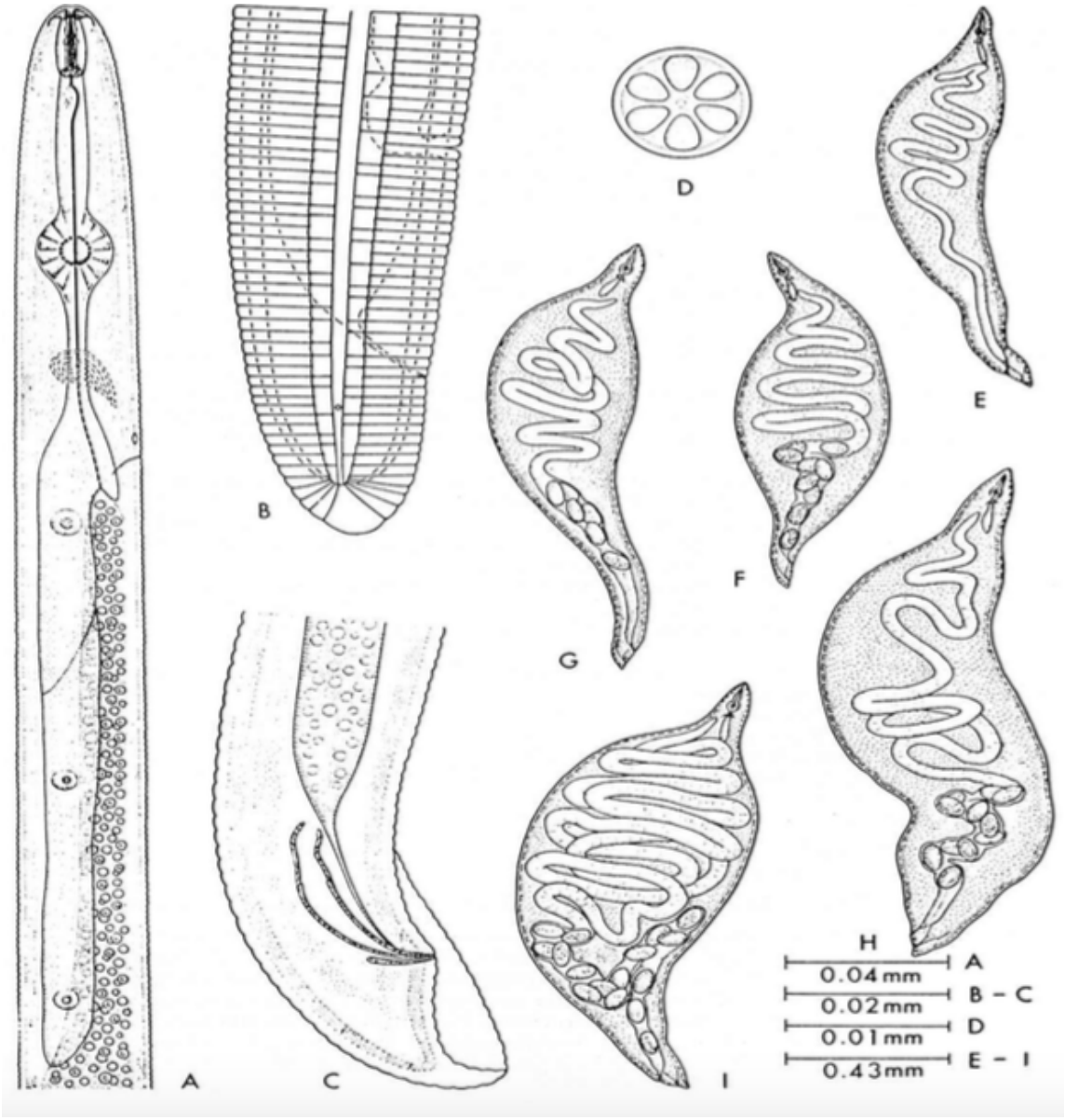


Figura 1.5 Diferenciación de una hembra y un macho del nematodo *N. aberrans.*
A. Región esofágica de una hembra inmadura. B. Cola de una hembra. C. Cola de un macho. D-I. Fase de desarrollo de una hembra madura
Fuente: Eisenback *et al*., 1981; citado por Sánchez (2010).

1.5.3 Ciclo de vida de *N. aberrans*

N. aberrans inicia su ciclo de vida cuando las hembras adultas secretan una masa gelatinosa sobre la superficie de la raíz para depositar sus huevos en diferentes fases de desarrollo que puede ser fase embrionaria o primer estadio juvenil J1. Este primer estadio muda dentro del huevo y eclosiona a segundo estadio (J2), penetrando las raíces de su hospedante para posteriormente moverse intracelularmente con el fin de alimentarse. El J2 muda dentro de la raíz o en ocasiones en el suelo, dando lugar al tercer estadio junvenil (J3), el cual es menos activo y generalmente se localiza enrollado en la corteza de la raíz. La muda hacia el cuarto estadio (J4) ocurre en la corteza y permanece ahí hasta que muda a una hembra o macho (Cid, 1985).

Los machos al ser vermiformes, suelen estar en constante movimiento, ya sea en el suelo o dentro del sistema radical en busca de hembras para fecundarlas.

Las hembras jóvenes o inmaduras, tienen la capacidad de moverse en la corteza de las raíces hacia el haz vascular donde posteriormente inducen y establecen un sitio especializado de alimentación llamado sincicio, mediante el cual se proveen de alimento a partir de la planta. Una vez que la hembra se ha establecido, su cuerpo se ensancha y luego de madurar sexualmente, es fecundada por el macho, iniciando nuevamente su ciclo (Manzanilla–López *et al.,* 2002) (Figura 1.6).

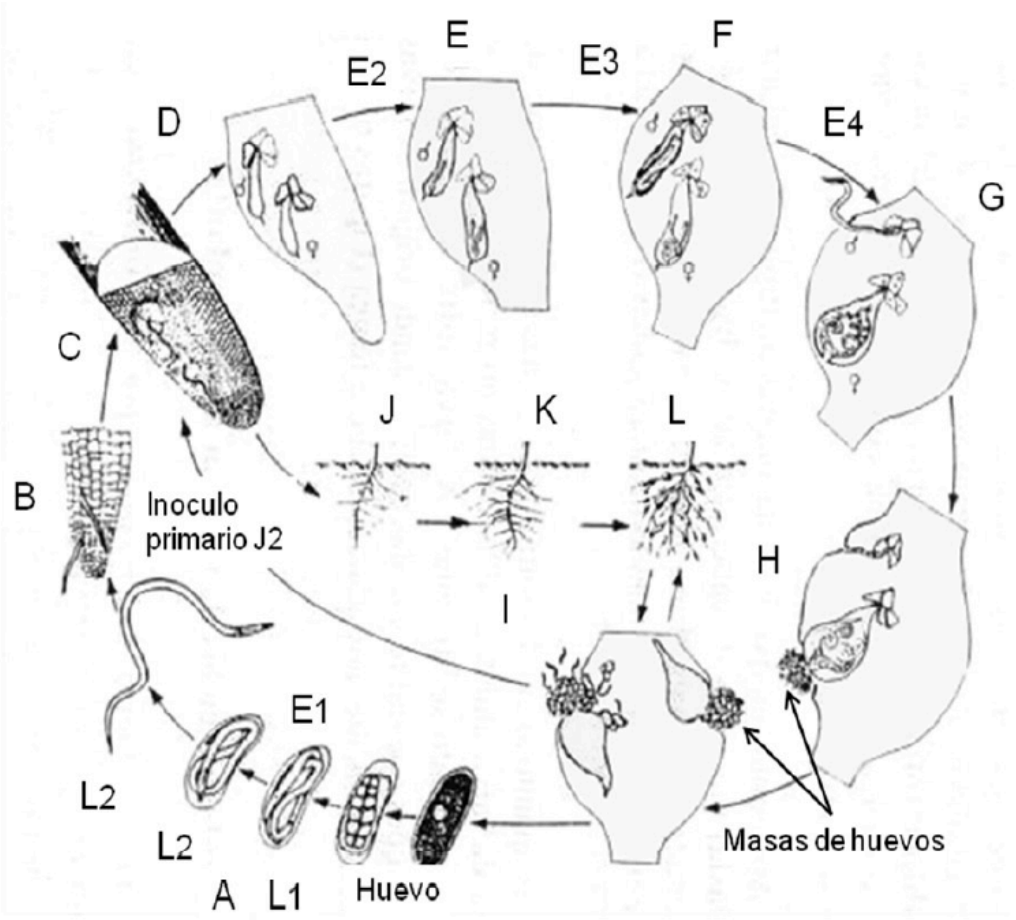


Figura 1.6 Ciclo biológico de *N. aberrans*
A) Etapa de embriogénesis, B) Segunda etapa larvaria ataca raíces, C) J_1, J_2, J_3 y hembras jóvenes invaden la raíz como inoculo primario, D) J_2 se alimenta de células puede salir y re infectar la raíz formando falsos nódulos, E) Tercera etapa larvaria, F) Cuarta etapa larvaria, G) Nemátodos adultos, el macho abandona la raíz, H) Hembra deposita huevos en ovisaco, I) Las agallas contienen hembras ovipositoras fuente de infecciones, J, K) Índice de agallamiento
Fuente: Agrios (1996)

1.5.4 Sintomatología inducida por *N. aberrans*

Uno de los síntomas más comunes es el crecimiento deficiente de los cultivos afectados, que incluyen una reducción del crecimiento apical (retraso del crecimiento), clorosis de hojas con márgenes enrollados, marchitez de hojas; en el tomate, la producción de frutos pequeños. En lo que se refiere a los síntomas subterráneos se nota la presencia de necrosis en la raíz y agallamiento que pueden soportar las raíces laterales, formando una

especie de rosario, síntoma que distingue la presencia del nematodo falso nodulador (*N. aberrans*). Las agallas en raíces de tomate y chile pimiento son más alargadas y contienen más de una hembra, mientras que las agallas en raíces de papa generalmente contienen sólo una. Los cambios celulares e histológicos sugieren que las raíces son afectadas debido a que los nematodos ocasionan una serie de cambios físicos, químicos y fisiológicos. La formación de agallas es considera que es ocasionada por la hipertrofia, que es estimulada por los juveniles; mientras que el sincicio, es inducido por las hembras inmaduras vermiformes y por los juveniles J4 (Manzanilla-López *et al*., 2002).

1.5.5 Importancia y distribución de *N. aberrans*

La importancia económica de los nematodos es muy grande, ya que su efecto sobre las plantas puede representar una reducción del 10-15 % de la producción, hasta la pérdida total de la cosecha (Llácer *et al*., 1996). Las pérdidas totales se estima que superan los US $ 100 mil millones por año en todo el mundo (Koenning *et al*., 1999). En México las principales hortalizas atacadas por *N. Aberrans,* como se mencionó, son: chile, frijol y tomate (Cid, 1986; Manzanilla-López *et al*., 2002), siendo esta última hortaliza en la que más se han enfocado los estudios, debido a que es considerada la más importante por su rentabilidad, demanda de mano de obra, rendimiento y relevancia como producto de exportación (Muñoz *et al*., 1995; Nieto y Velasco, 2006). La intensidad de daño del nematodo sobre el tomate puede ser de 50 hasta 100 % (Zamudio, 1987); en Tecamachalco, Puebla las pérdidas se han estimado en alrededor de 50 al 70 % (Cid *et al*., 1995).

El género *Nacobbus* es nativo de América del Sur y del Norte e incluye endoparásitos sedentarios que inducen agallas en las raíces del huésped (Lax *et al*., 2014). En

Norteamérica, se ha reportado en USA y México. En Estados Unidos ataca a la remolacha azucarera, otros cultivos hortícolas y diversas malezas hospederas, está localizado en los estado del Centro y Noreste, específicamente en Arkansas, Colorado, Kansas, Montana, Nebraska, Sur de Dakota, Utah y Wyoming (Caveness, 1959; citado por Robbins, 1982). En América del Sur se encuentra en Argentina, Bolivia, Ecuador, Péru y Chile y en Asia únicamente se reporta en la India (Manzanilla-López *et al*., 2002). En México se localiza en los estados de Coahuila, Distrito Federal, Guanajuato, Hidalgo, Estado de México, Michoacán, Morelos, Puebla, Oaxaca, San Luis Potosí, Tlaxcala y Zacatecas (Cid, 1986; Manzanilla-López *et al*., 2002).

1.5.6 Métodos de control

Los métodos de control para *N. aberrans* pueden ser cultural, biológico, químico y genético (Llácer *et al*., 1996), sin embargo una vez que el nematodo se ha establecido en un área agrícola es prácticamente imposible erradicarlo, debido a sus mecanismos de sobrevivencia y a su alta capacidad reproductiva, caracterizados por la producción de masas de huevos que se adhieren en los residuos radicales de sus hospedantes, las cuales entran en estado de anhidrobiosis que les permite soportar la desecación cuando las condiciones ambientales son adversas, pudiendo permanecer viables hasta 10 años (Canto, 1987; Ortuño *et al*., 2005).

Control cultural

La rotación de cultivos es uno de los métodos más usados. Consiste en sembrar plantas resistentes o no hospederas del cultivo principal y plantas susceptibles en secuencia por un periodo de 3 a 4 años (Román y Acosta, 1984). Otro método consiste en la

solarización del suelo, que se basa en cubrir el suelo húmedo con plástico transparente delgado, con el fin de incrementar las temperaturas y así se distribuya una gran cantidad de inóculo de fitopatógenos, estadios larvales de insectos y semillas de arvenses presentes en él. Sin embargo, un resultado satisfactorio dependerá de la duración del tratamiento, la intensidad de la radiación solar y la conductividad térmica del suelo. La solarización del suelo puede reducir las poblaciones de nematodos, aunque en mayor medida reduce las de hongos y arvenses, debido a que los nematodos son más tolerantes al calor y su control es menos efectivo a profundidades del suelo mayores de 30 cm (Ramírez, 1996).

Yañez (1997) al evaluar la influencia del plástico sobre *N. aberrans* y *P. capsici* en el cultivo del tomate, encontró que los suelos cubiertos con plástico transparente, alcanzaron mayor temperatura con respecto a los cubiertos con plástico negro; además en los primeros se redujo el nivel de inoculación del nematodo hasta un 68.9 % y el del hongo hasta 86. 3 %, con respecto al testigo sin plástico.

Entre otras prácticas culturales está el barbecho profundo en días calurosos, el mantener un terreno inundado con agua por varias semanas, el cambiar fechas de siembra y el aplicar enmiendas al suelo, mezclando compuestos orgánicos de origen vegetal o compuestos de origen animal (CATIE, 1990), pues la incorporación de materia orgánica al suelo provee de nutrimentos disponibles a las plantas e incrementa la actividad microbiana del suelo; además, puede ayudar a controlar problemas de fitopatógenos (González y Canto, 1993), a través de la liberación de amonio y compuestos azufrados mediante un proceso llamado biofumigación. A través de este proceso se liberan diferentes compuestos como isotiocianatos, sulfuros, disulfuros, trisulfuros y mercaptanos, estos compuestos han mostrado un efecto antagónico sobre nematodos

agalladores, sobresalen los residuos de crucíferas (Rosa y Rodríguez, 1999). Murga-Gutiérrez *et al*. (2012) encuentran que el follaje de *Tagetes minuta* influye en la formación de agallas ocasionada por *Meloidogyne incognita,* nematodo que parasita a *Capsicum annuum* cultivado en invernadero; en este caso se observó un menor número de nódulos de las plantas que en el testigo.

Control biológico

Se conocen organismos predadores, parásitos y patógenos que son enemigos naturales de los nematodos, y que reducen sus poblaciones. Entre los depredadores se incluyen, hongos que producen hifas adhesivas y anillos, nematodos depredadores, microartrópodos, etc.; entre los parásitos se incluyen virus, rickettsias, actinomicetos, bacterias como *Pasteuria penentrans* y protozoos (Llácer *et al*., 1996).

Flores *et al*. (2007) consignan que el hongo *Pochonia chlamydosporia* es capaz de colonizar raíces agalladas de jitomate (*S. lycopersicum*) y de frijol (*Phaseolus vulgaris*) por *N. aberrans* reduciendo el número de juveniles de segundo estadío del nematodo disponible como inóculo en el suelo, y reduciendo significativamente el número de agallas por el sistema radical. Lax *et al*. (2011) observan que la interacción entre los hongos microrrízicos arbusculares (*Glomus intraradices*) y el falso nematodo agallador (*N. aberrans*) en jitomate (*S. lycopersicum*) fue beneficioso al reportar un menor número de agallas (58 %) y al tener un efecto supresor sobre la reproducción del nematodo (63 %).

Control químico

El uso de productos químicos es el método más utilizado en cultivos de elevado valor como los hortícolas (Llácer *et al*., 1996). Existen trabajos en los que se ha documentado la eficiencia de estos productos para el control de nematodos. Específicamente para el control de *N. aberrans,* Marban y Zamudio (1982) señalan que los nematicidas Aldicarb (a 7 y 15 kg ha), Fenamifos (a 40 y 20 kg ha) y Carbofuran (a 40 y 20 Kg ha), controlaron a *N. aberrans* elevándose a su vez la producción de tomate en un 52 % a 79 %. Por su parte, Aparicio *et al.* (1989) estudian el efecto de la urea y el sulfato de amonio sobre J_2 de *N. aberrans* bajo condiciones de laboratorio, sus resultados demuestran que mientras más alta sea la dosis de urea, el número de J_2 muertos es mayor, principalmente a dosis de 120 kg ha^{-1}. Otro ejemplo es el estudio realizado por Franco y Main (2002), quienes evalúan el efecto de diferentes pesticidas (Fostiazato 90 %, Abamectin 18 % y Fenamifos 40 %) aplicados con una máquina de ultra bajo volumen (ULV) y en inmersión, para desinfectar tubérculos semilla de papa con *N. aberrans.* Todos los productos en inmersión disminuyeron significativamente la presencia del nematodo, a excepción del Fenamifos aplicado con máquina de ULV.

En general, el control químico ha sido el más utilizado para combatir nematodos, sin embargo, en la actualidad, no existe fumigante que aplicado al suelo sea eficaz contra nematodos. Respecto a los nematicidas más empleados se encuentran Cadusafos (Mocap), Fenamifos (Nemacur) y Oxamilo (Vydate). De estos tres productos, sólo el Vydate está autorizado para usarlo bajo un esquema de producción hortícola integrada, dado que su uso es compatible con la fauna auxiliar. Su efecto es letal para los estadios vermiformes del nematodo, ya que se aplica en el momento de la siembra, con ello se consigue reducir los niveles iniciales del nematodo, y por tanto, el número de individuos

que invaden las raíces. Esto reduce el daño causado a la planta, incrementa la producción (de 5 hasta 25 %) y el cultivo tiene mayor longevidad (Verdejo-Lucas, 2009).

Control genético

El uso de cultivares resistentes puede mantener bajas las poblaciones de nematodos, se han incorporado genes de resistencia a varias especies de papa, tomate, tabaco, soja, cereales, alfalfa, vid, cítricos, entre otros; sin embargo, también presenta limitaciones, ya que no hay variedades para todos los patógenos y el uso continuado de plantas resistentes puede dar lugar a la aparición de nuevas razas de patógenos que en muchos casos son mucho más agresivas (Llácer *et al*., 1996).

En México no existen materiales vegetales disponibles en el mercado con resistencia específica a *N. aberrans* (Hernández, 2001); además, los trabajos de investigación encaminados a la búsqueda de fuentes de resistencia no involucran la localización e incorporación de los genes que codifican para la síntesis de estructuras o compuestos químicos relacionados con mecanismos de defensa, básicamente se limitan a determinar si un hospedante es o no resistente al nematodo (Cabrera, 2014).

1.5.7 Impacto al ambiente y al humano por el uso de los nematicidas

El uso indiscriminado de los plaguicidas sintéticos han causado problemas o daños para la salud humana, la agricultura y el medio ecológico (Nava-Pérez *et al*., 2012); son productos químicos ajenos al ambiente que poseen el potencial de poder alterar una amplia gama de ecosistemas, comenzando con el suelo y sus microorganismos y llegando hasta los animales superiores. Este trastorno puede ser provocado por toxicidad

directa, pero a menudo los efectos son más sutiles: ruptura de las cadenas alimentarias, debilitamiento de los sistemas inmunológicos o confusión de las señales químicas por las que se comunican muchos organismos. Los residuos de plaguicidas se acumulan en los alimentos para la nutrición humana (Lampkin, 1998).

1.5.8 Metodologías para la evaluación de nematodos

Se pueden aplicar diferentes tipos de metodologías para la evaluación de nematodos, ya sea *in vitro* y/o *in vivo* que puede ser en invernadero o en campo. En un estudio realizado por Godinez *et al*. (2010) se compara la acumulación de la fitoalexina capsidiol en raíces de chile (*Capsicum annuum* L.) CM-334 no infectadas e infectadas con *N. aberrans* en invernadero, estableciendo 74 plantas, de las cuales 37 fueron trasplantadas en suelo naturalmente infestado con el nematodo y las 37 restantes en suelo esterilizado (plantas testigo). A los 0, 7, 14, 21 y 28 días después del trasplante se colectaron las raíces de siete plantas de cada tiempo. En el mismo estudio se determinó el efecto del capsidiol en juveniles del segundo estadio (J2) del nematodo (los juveniles infectivos J2 del nematodo se obtuvieron a partir de masas de huevos extraídas de raíces de jitomate agalladas por el nematodo) en condiciones *in vitro,* en este caso en cámaras de crecimiento con 80 plantas, de las cuales 40 se inocularon con 2000 juveniles del segundo estadio (J2) en la base del tallo de cada planta y las 40 restantes constituyeron los testigos no inoculados. A los 0, 2, 7, 14, y 21 días después de la inoculación se colectaron las raíces de ocho plantas de cada uno de los tiempos.

Por su parte Pérez-Rodríguez *et al*. (2011) evaluaron cuatro tácticas de control: (a) Carbofuran 8 %, haciendo dos aplicaciones a dosis de 4 L ha^{-1} cada una, b) incorporación de vermicomposta dosis de 15 T ha^{-1}, c) incorporación de fragmentos de

col (*Brassica oleracea* L.) dosis de 11.3 T ha^{-1} y d) inoculación de 15000 clamidosporas g^{-1} de suelo de un aislamiento mexicano del hongo nematófago *Pochonia chlamydosporia* var. *chlamydosporia*, y utilizando vermicomposta como vehículo de aplicación, por separado y en combinación contra *N. aberrans* en chile ancho (*Capsicum annuum* L.) en condiciones de invernadero y en campo, los tratamientos se distribuyeron en un diseño experimental completamente al azar; cada tratamiento constó de cinco repeticiones, teniendo un total de 70 unidades experimentales. El suelo utilizado provino de un predio naturalmente infestado con *N. aberrans.*

En otro estudio, se observaron los cambio químicos en raíces de dos cultivares de frijol (Azufrado y Negro Querétaro) inoculados con *N. aberrans* población Chapingo, donde las semillas de cada cultivar fueron sembradas en macetas con 2 kg de suelo esterilizado por calor, una planta por maceta. Nueve plantas de cada cultivar fueron inoculadas con 2000 juveniles de segundo estadío de *N. aberrans* obtenidos de raíces infestadas por él mismo de plantas de jitomate. La inoculación fue realizada a los 15 días después de la germinación de las semillas, las cuales se mantuvieron en condiciones de invernadero en una distribución completamente al azar. Cada cultivar con o sin inóculo conformaron un tratamiento. Tres plantas de cada tratamiento fueron desenraizadas a 15, 30 y 60 días después de la inoculación para su evaluación por cromatografía en cámaras verticales de vidrio (Martínez, 2007).

Cabrera (2014) evalúa el efecto del Fluensulfone (FSF) sobre juveniles (J2) de *N. aberrans* en condiciones *in vitro* e invernadero en los cultivos de jitomate y pepino. En el ensayo *in vitro* se evaluaron ocho concentraciones de FSF y una de Oxamil (OX), y se determinó el porcentaje de nematodos inmóviles a las 12 y 24 h después de la exposición en los productos. En bioensayo en invernadero se evaluaron el FSF (1 y 2 $L \cdot ha^{-1}$), OX (4

$L \cdot ha^{-1}$) y dicloropropeno más cloropicrina (DC+CP) (300 $L \cdot ha^{-1}$) en microparcelas de jitomate y pepino. Todos los tratamientos se distribuyeron bajo un diseño completamente al azar. A los 60 días después del trasplante, se evaluaron la densidad poblacional del nematodo, tasa de reproducción, invasión, agallamiento y cinco variables vegetativas.

Por resultar de importancia en este trabajo, en investigación sobre el control o inhibición del nematodo, específicamente para *N. aberrans* y en condiciones de invernadero, no esta bien explorada la secuencia de aplicación de tratamientos, ni hay antecedente en la aplicación de tratamientos en intervalos.

CAPÍTULO II.
COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL ACEITE ESENCIAL DE POBLACIONES DE *T. lucida* EN EL ESTADO DE MÉXICO

2.1 RESUMEN

La enorme riqueza de *T. lucida* como recurso natural en el Estado de México motiva la realización de estudios sobre la variabilidad en el contenido de aceite esencial de poblaciones de esta especie y su relación con el medio ecológico, información básica para el desarrollo de bioplaguicidas. En este estudio se determinó la composición química del aceite de catorce poblaciones de *T. lucida* de algunas zonas del Estado de México. El aceite de *T. lucida* se obtuvo por hidrodestilación y se analizaron por CG/EM identificando 44 compuestos químicos, 32 % en poblaciones del Norte de la entidad (9 a 13 compuestos) y 68 % en poblaciones del sur (16 a 23 compuestos). El rendimiento de aceite esencial fue de 1 a 7 % [mL $100g^{-1}$] en poblaciones del Norte y de 0.5 a 2 % [mL $100g^{-1}$] en las poblaciones del Sur en peso fresco y en peso seco de 0.01 a 0.05 % [mL 100 g^{-1}] en poblaciones del Sur. Los compuestos mayoritarios en poblaciones del Norte fueron fenilpropanos: metil eugenol (56.8 % población Acambay y 64.5 % población Atlacomulco), estragol (46.9 % población Jilotepec) y anetol (35.7 % población Jilotepec). En poblaciones del Sur fueron monoterpenos: acetato de geranilo (25.4 a 33.1 % Coatepec de Harinas; 12.87 a 27.5 % Villa Guerrero; 23.8 a 40.8 % Ixtapan de la Sal; 31.7 % Tonatico y 19.26 % Pilcaya) y β-Ocimeno (14.2 a 16.8 % Coatepec de Harinas; 15.8 a 22.5 % Villa Guerrero; 15.14 a 23.13 % Ixtapan de la Sal; 24.9 % Tonatico y 24 % Pilcaya). Los compuestos β-myrceno, β-Ocimeno y linalool fueron comunes en las poblaciones y la presencia acetato de geranilo por vez primera se reporta para *Tagetes*.

PALABRAS CLAVES: *Tagetes lucida*, fenilpropenos, monoterpenos, acetato de geranilo, rendimiento.

CHEMICAL COMPOSITION OF THE ESSENTIAL OIL OF *T. lucida* POPULATIONS IN THE STATE OF MEXICO

2.2 ABSTRACT

The great richness of *T. lucida* as a natural resource in the State of Mexico is the impetus for studies on the variability in essential oil content of populations of this species and its relationship with the ecological environment, providing basic information for biopesticide development. In this study the chemical composition of the oil from fourteen *T. lucida* populations in some areas of the State of Mexico was determined. The *T. lucida* oil was obtained by hydrodistillation and analyzed by GC/MS, identifying 44 chemical compounds, 32 % in populations from the north of the state (9 to 13 compounds) and 68 % in populations from the south (16 to 23 compounds). The efficiency of essential oil was 1 to 7 % [mL $100g^{-1}$] in northern populations and 0.5 to 2 % [mL $100g^{-1}$] in southern for fresh-weight and for dry-weight were 0.01 to 0.05 % [mL $100g^{-1}$] in southern. The major compounds in the northern populations were phenylpropenes: methyl eugenol (56.8% in the Acambay population and 64.5 % in the Atlacomulco population), estragole (46.9 % in the Jilotepec population) and anethole (35.7 % in the Jilotepec population). In the southern populations the major compounds were monoterpenes: geranyl acetate (25.4 to 33.1 % in Coatepec de Harinas; 12.87 to 27.5 % in Villa Guerrero; 23.8 to 40.8 % in Ixtapan de la Sal; 31.7 % in Tonatico and 19.26 % in Pilcaya) and β-Ocimene (14.2 to 16.8 % in Coatepec de Harinas; 15.8 to 22.5 % in Villa Guerrero; 15.14 to 23.13 % in Ixtapan de la Sal; 24.9 % in Tonatico and 24 % in Pilcaya). The compounds β-myrcene, β-Ocimene and linalool were common in the populations and the presence of geranyl acetate is reported for the first time for *Tagetes*.

KEYWORDS *Tagetes lucida*, phenylpropenes, monoterpenes, geranyl acetate, efficiency.

2.3 INTRODUCCIÓN

"La flora mexicana no sólo es notable por su riqueza de especies, sino también porque algunas familias de plantas alcanzan su máxima diversidad en el país, tanto en número de especies como en formas biológicas, y muchas de estas especies son endémicas; se calculan 3 573 especies de plantas vasculares endémicas, de este número poco más del 50 % corresponden a cinco familias: Asteraceae, Cactaceae, Bromeliaceae, Orchidaceae y Poaceae" (Toledo, 1988). En México se estima que existen unas 7 000 especies de plantas útiles, lo cual representa entre un tercio y un quito de la flora de plantas vasculares (Caballero, 1987).

Los productos de las plantas aromáticas y medicinales se han utilizado ampliamente desde tiempo atrás (Lahlou, 2004), siendo las familias Asteraceae, Apiaceae y Lamiaceae las más importantes desde el punto de vista de la producción de aceite esencial y su actividad biológica (Bernath, 2009). Para el caso de la familia Asteraceae representada por 1, 911 géneros y 32, 913 especies (The Plant List, 2014) se conoce que cuando menos, 400 de ellas pueden comportarse como arvenses o ruderales, sobre todo de los géneros *Simsia, Tithonia, Bidens, Viguiera, Tagetes, Eupatorium, Melampodium, Sclerocarpus, Tridax, Conyza, Ambrosia* y *Verbesina;* la actividad biológica de las plantas de esta familia botánica se debe a la presencia de compuestos activos característicos como alcaloides, monoterpenos, sesquiterpenos, lactonas, triterpenos, limonoides, aminas insaturadas, benzopiranos y terpenoides (Simmonds *et al*., 1992). Sin embargo, las investigaciones en México sobre arvenses y ruderales, que también pueden ser plantas aromáticas con importante actividad biológica, han sido escasas (Toledo 1988; Rzedowki, 2006), entendiendo que las plantas en general representan una

enorme reserva de compuestos biológicamente activos contra enfermedades (Balick y Cox, 1996) y plagas (Simmonds *et al*., 1992; Stoll, 2000).

Dentro de la familia Asteraceae, el género *Tagetes* se compone de alrededor de 55 especies distribuidas principalmente en el Continente Americano, la mayoría de las cuales se localizan en México (Turner 1996); gran parte de ellas son aromáticas debido a la presencia de aceites esenciales en toda la planta (Poli *et al*., 1995). La composición química del género *Tagetes* varía entre especies, diversidad química que está determinada genéticamente y modulada ambientalmente (Marotti *et al*., 2004), además de que cada tipo de compuestos se acumulan predominantemente en órganos específicos de la planta (Piccaglia *et al*., 1997), factor que contribuye en el contenido y cantidad de compuestos encontrados; otros factores como el hábitat de la planta (Karousou *et al.*, 2005), la etapa fenológica, la composición del suelo y la fertilización mineral influyen en el contenido de compuestos, aún entre plantas de la misma especie (Macías y Galindo, 2001). En los últimos años, muchas especies y quimiotipos del género *Tagetes* han sido reevaluados como fuentes de diferentes clases de metabolitos secundarios biológicamente activos (Green *et al*., 1993), numerosos trabajos hacen referencia a sus componentes fitoquímicos (Downum y Towers, 1983; Cáceres *et al*., 1992; Hernández *et al*., 2006) y recientemente en México varias especies de *Tagetes* han sido objeto de investigaciones sobre conservación, caracterización y aprovechamiento, especialmente para el desarrollo de bioplaguicidas (Serrato-Cruz *et al*., 2008; García y Mier, 2010; Nava-Pérez *et al*., 2012).

Las especies de *Tagetes* presentan una gran variabilidad química que no se ha estudiado ampliamente, se distribuyen en los lugares más diversos de la geografía de México, aspecto que tampoco se ha estudiado suficientemente (Serrato, 2014). Los trabajos que

han abordado la variabilidad de las especies aromáticas son pocos. Zygadlo *et al*. (1993) y Keïta *et al*. (2000) reportan variaciones en la composición de aceite esencial de *T. minuta* asociada con la diversidad de hábitats de origen de las muestras y se ha confirmado la existencia de quimiotipos (Gil *et al*., 2000). Serrato-Cruz *et al*. (2008) también reportan la existencia de quimiotipos en *T. filifolia*. Esta relación químico-ambiental se ha encontrado en otras especies como *Artemisia judaica* (Putievsky *et al*., 1992) y en *Mentha haplocalyx* (Chou y Zhou, 1998).

Tagetes lucida Cav. se distribuye en forma silvestre desde América Central y América del Sur (Turner, 1996; Lim, 2014). En México, la especie se localiza en elevaciones de 800 a 2,700 msnm (Turner, 1996; Villareal, 2003; Calderón y Rzedowski, 2010), en diferentes climas y suelos (Neher, 1965; Turner, 1996; Villareal, 2003), aunque a nivel de América se le ha encontrado en un rango de 1,500 hasta 4,100 msnm (Neher, 1965). En el Estado de México *T. lucida* se distribuye en 22 municipios (Discover Life, 2014) y la mayoría de las veces se encuentra en forma dispersa, limitando su aprovechamiento en un uso tradicional. Generalmente, *T. lucida* crece en lugares de clima templado (Perdomo y Mondragón, 2009) y en una gran variedad de suelos de tipo andosol, feozem, regosol, planosol, cambisol, acrisol, litosol, luvisol, fluvisol y gleysol (INEGI, 2001); en vegetación de pastizales, en bosques de *Quercus* y de coníferas y en selva baja caducifolia, preferentemente en condiciones de disturbio; también es muy común encontrarla en terrenos de cultivo abandonados o cerca de milpas (Calderón y Rzedowski, 2005; Perdomo y Mondragón, 2009; García *et a*l., 20112). Diversos estudios sobre la composición del aceite esencial de *T. lucida* sugieren que el origen geográfico de las poblaciones parece relacionarse con la variabilidad del contenido del aceite esencial, pues en una población de plantas de Guatemala se reporta la presencia de 53

compuestos químicos con alto porcentaje de estragol (33.9 %), metil eugenol (24.3 %) y anetol (23.8 %) (Bicchi *et al*., 1997); 40 compuestos en un material vegetal de Cuba con abundancia de estragol (96.8 %) (Regalado *et al*., 2011); 31 compuestos en un material de Costa Rica y alta cantidad de estragol (97.3 %) (Cicció, 2004); mientras que una población de México contó con metil eugenol (80 %) y estragol (12 %) como compuestos mayoritarios en el aceite esencial (Serrato *et al*., 2007). Esta variabilidad en la composición química del aceite esencial de *T. lucida* se puede deber a diferencias ambientales entre los lugares de origen (Neher, 1965); sin embargo, para esta especie aún no existe elemento científico sólido que muestre esta relación.

En el Estado de México donde se distribuye *T. lucida,* la variabilidad ambiental es notable además de su enorme abundancia como recurso natural. Lo anterior crea la necesidad de contar con estudios que aporten información sobre la relación que puede tener el medio ecológico donde se desarrollan poblaciones de *T. lucida* y su variabilidad en el contenido de aceite esencial; de manera general, tal variabilidad en el contenido del aceite puede deberse a diversos factores como: el método de extracción, la etapa fenológica de la planta, las condiciones ambientales, el origen del material vegetal, los quimiotipos y la variabilidad genética (Perry *et al.,* 1999; Marotti *et al*., 2004; Gonzaléz *et al.,* 2011). Sin embargo, no existen bases sólidas científicas que den cuenta de esta variabilidad en el contenido del aceite esencial de poblaciones de pericón en esta entidad. La importancia de conocer esta información está directamente relacionada con el desarrollo de nuevos productos en el área de la medicina y en agricultura sustentable mediante el uso de productos naturales para el control de plagas y enfermedades, entre otros. En el presente capítulo se planteó el objetivo de identificar los compuestos

químicos en el aceite esencial de algunas poblaciones de *T. lucida* del Estado de México, con la finalidad de contribuir al conocimiento de la fitoquímica de este recurso natural.

2.4 MATERIALES Y MÉTODOS

2.4.1 Procedencia de las poblaciones de *Tagetes* y extracción de aceite esencial

Tallos florares de ***Tagetes lucida*** **Cav**. se recolectaron de catorce sitios diferentes del Norte y Sur del Estado de México (Cuadro 2.1, Figura 2.1) ubicados en elevaciones de 1493 a 2660 msnm y con características fisiográficas diferentes. La colecta se realizó durante los meses de septiembre a octubre de 2014 y en septiembre de 2015. Los sitios de colecta fueron georeferenciados utilizando geoposicionador marca Garmin modelo Etrex Summit Hc expresando las coordenadas en UTM y convertidos a unidades del sistema geodésico mediante el software conversión de coordenadas entre las proyecciones TM y Geodésicas (TMCalc) del INEGI. Identificación de la especie o voucher de referencia (en proceso de ingreso al Herbario de …) e ingreso de semillas al Banco Nacional de Germoplasma Vegetal (BANGEV) ubicado en el Departamento de Fitotncia de la Universidad Autónoma Chapingo (número de accesión con la que se ingresó el material: JZE-*Tateges*-001; JZE-*Tagetes*-002; JZE-*Tateges*-003; JZE-*Tateges*-004 y JZE-*Tateges*-005).

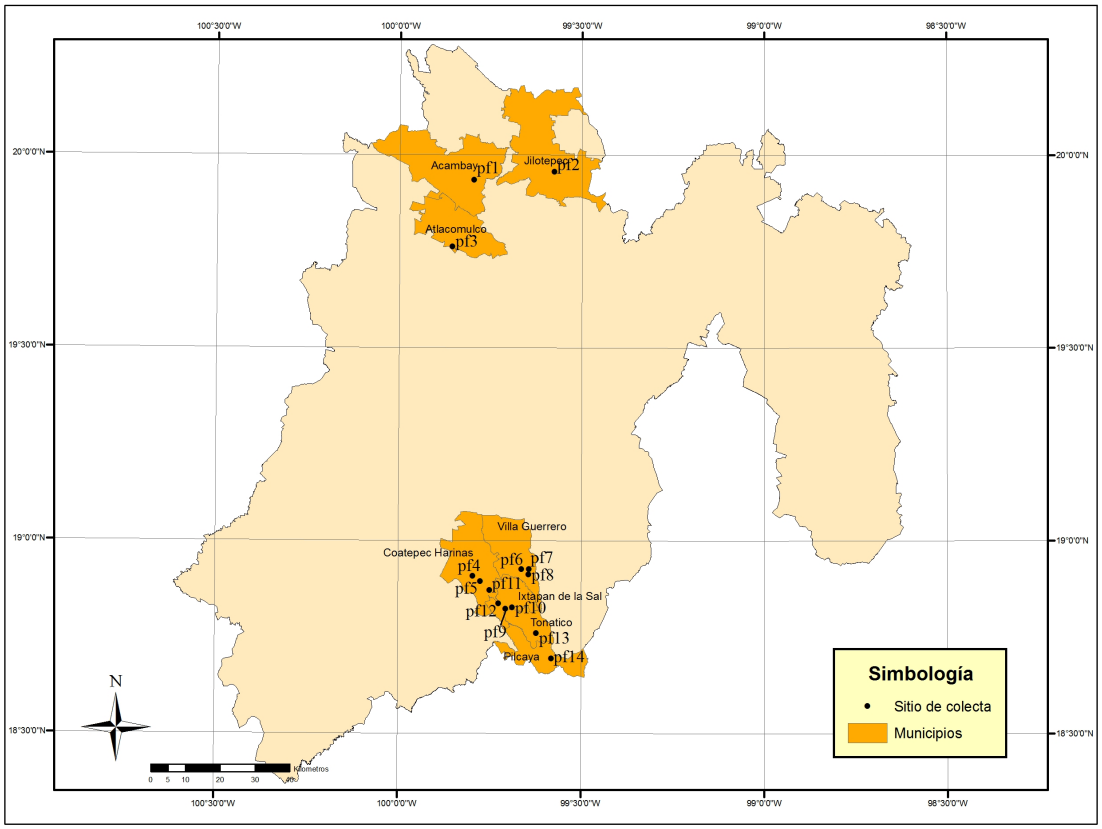


Figura 2.1 Ubicación geográfica de los sitios de colecta de *T. lucida* en el Estado de México. Fuente: Elaboración propia.

Cuadro 2.1 Sitios de recolección de poblaciones de *T. lucida* en el Estado de México.

No.	Estado	Municipio	Localidad	Coordenadas UTM		Coordenadas Geodésicas		Elevación (msnm)
				Latitud	Longitud	Latitud	Longitud	
p1	México	Acambay	La Venta	2204428	416672	19º 56´ 4”	99º 47´ 46”	2660
p2		Jilotepec	San Lorenzo Oteyuco	2206746	439700	19º 57´ 23”	99º 34´ 34”	2605
p3		Atlacomulco	Autopista Toluca-Atlacomulco (Rancho cotecito)	2185283	410457	19º 45´ 40”	99º 51´ 16”	2520
p4		Coatepec de Harinas	Acuitlapilco	2090795	416178	18º 54´ 27”	99º 47´ 45”	2208
p5		Coatepec de Harinas	Col. Guadalupe	2089186	418347	18º 53´ 35”	99º 46´ 31”	2081
p6		Villa Guerrero	San Felipe	2092676	430144	18º 55´ 31”	99º 39´ 48”	2045
p7		Villa Guerrero	San Felipe	2092752	432367	18º 55´ 33”	99º 38´ 32”	1960
p8		Villa Guerrero	San Felipe	2091104	432224	18º 54´ 39”	99º 38´ 37”	1955
p9		Ixtapan de la Sal	El Refugio	2081316	425580	18º 49´ 20”	99º 42´ 23”	1907
p10		Ixtapan de la Sal	Col. La Joya 3 de mayo Linda Vista	2081659	427455	18º 49´ 32”	99º 41´ 19”	1853
p11		Coatepec de Harinas	San Luis	2086722	420991	18º 52´ 16”	99º 45´ 0”	1849
p12		Ixtapan de la Sal	San Alejo	2082870	423581	18º 50´ 11”	99º 43´ 31”	1841
p13		Tonatico	La Puerta de Santiago	2074364	434445	18º 45´ 35”	99º 37´ 19”	1592
p14	Guerrero	Pilcaya	El Moyote	2067090	438738	18º 41´ 39”	99º 34´ 51”	1493

p- población de *T. lucida*
Fuente: Elaboración propia.

2.4.2 Extracción del aceite esencial

Para la extracción de aceite esencial se recolectaron 4 kilogramos de tallos en etapa de floración al 100 % y de altura de planta variable (50 a 90 cm). El traslado del punto de colecta de las plantas al área de trabajo (Laboratorio de la Fundación Salvador Sánchez Colín, CICTAMEX, S.C. Coatepec de Harinas, Estado de México) para la destilación del aceite esencial se realizó el mismo día.

La extracción del aceite se hizo mediante el método de hidrodestilación, siguiendo la metodología descrita por Parry (1921).

El material vegetal colectado fue cortado en trozos de 2 cm aproximadamente mediante una picadora de material vegetal y separando cuatro muestras cada una de 1 kg de tejido picado.

El material picado (1 kg) se colocó en un matraz de bola de 6,000 mL de capacidad con 1.5 L de agua. El matraz se colocó sobre una fuente de calor, así, el vapor generado arrastró los compuestos solubles e insolubles y una vez condensado al pasar por el sistema de refrigeración por donde circulaba agua fría (medio refrigerante) ocurrió un proceso de condensación y originó la precipitación de pequeñas gotas líquidas que caían en un embudo de separación, quedando el aceite en la parte superior y el residuo acuoso en la parte inferior, ambos productos fueron almacenados en frascos ámbar.

El proceso de destilación duró una 1 h a partir del primer goteo y se realizaron cuatro destilaciones (repeticiones) para cada población de pericón. El rendimiento de aceite esencial de cada población se obtuvo con la fórmula que utilizaron Yáñez *et al*. (2011).

Fórmula para determinar el rendimiento del aceite esencial de *T. lucida*

$$P = \frac{M_1}{M_2} X\ 100$$

Donde: P = Rendimiento; M_1 = Masa final de aceite esencial expresada en mL; M_2 = Masa inicial de material vegetal expresada en gramos (g). 100 = Factor matemático.

En el Cuadro 2.2 se indica el volumen de aceite esencial *T. lucida* que se obtuvo por hidrodestilación en 1 Kg de material vegetal fresco.

Cuadro 2.2. Volumen de aceite esencial de *T. lucida*.

Población	Aceite esencial (mL)
p1- Acambay	1
p2- Jilotepec	5
p3- Atlacomulco	7
p4- Coatepec de Harinas	0.5
p5- Coatepec de Harinas	1
p6- Villa Guerrero	1
p7- Villa Guerrero	1
p8- Villa Guerrero	0.5
p9- Ixtapan de la Sal	1.2
p10- Ixtapan de la Sal	2
p11- Coatepec de Harinas	0.8
p12- Ixtapan de la Sal	0.5
p13- Tonatico	0.7
p14- Pilcaya	1

p: población de *T. lucida*
Fuente: Elaboración propia.

2.4.3 Análisis cromatográfico de los aceites esenciales

La identificación de los componentes de las catorce poblaciones de *T. lucida* se hizo por cromatografía de gases con detector de masas (Adams, 2001), 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 se obtuvieron a partir del porcentaje de área de los picos cromatográficos. 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. Para calcular los índices de Kovats se usaron como referencias los compuestos *n*-Alcanos, *n*-octano (C_8 H_{18}) y *n*-octadecano (C_{18} H_{38}). Cuarenta y siete 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, 2001).

2.4.4 Caracterización del medio ecológico de los sitios de colecta de las poblaciones

Para la descripción del medio ecológico se elaboraron mapas de los puntos donde se colectaron las catorce poblaciones de *T. lucida*: El mapa edafológico se elaboró a partir del conjunto de datos vectorial edafológico escala 1: 250 000 (INEGI, 2001); el mapa vegetación y uso de suelo se elaboró a partir del conjunto de datos vectoriales sobre Ecorregiones Terrestres de México escala 1: 1 000 000 (INEGI *et al*., 2008) y el mapa de elevaciones a partir del Modelo Digital de Elevaciones con resolución a 60 m que proporciona el INEGI (2000). También se utilizó información de los datos vectoriales de provincias y subprovincias fisiográficas en escala 1: 1 000 000 (INEGI, 2001).

Además, se elaboraron climogramas con los datos de las temperaturas medias anuales y las precipitaciones medias anuales de las estaciones meteorológicas cercanas a los puntos de colecta de las poblaciones de *T. lucida* que proporciona CONAGUA (2012) a través de la Red de Estaciones Climatológicas importadas a Google Earth Pro (2013) para su visualización y acceso a la base de datos (Cuadro 2.3).

Los mapas y climogramas se pueden consultar en la sección de Anexos.

Cuadro 2.3 Estaciones meteorológicas consultadas para la elaboración de climogramas

Municipio de ubicación de la estación meteorológica	Clave de la Estación	Años registrados	Puntos de colecta
Acambay	15001	1958-2006	p1
	15361	1982-2011	
Jilotepec	15225	1976-2012	p2
	15024	1951-2011	
Timilpan	15333	1981-2008	
Atlacomulco	15251	1978-2008	p3
Jocotitlán	15390	1986-2010	
	15308	10980-2009	
Coatepec de Harinas	15016	1961-2010	
	115270	1980-2008	p4, p5 y p11
Ixtapan de la Sal	15255	1978-2008	
Villa Guerrero	15184	1972-2008	
	15305	1981-2008	p6, p7 y p8
Coatepec de Harinas	15134	1961-2008	
	15270	1980-2008	
Zacualpan	15272	1980-2008	
Ixtapan de la Sal	15034	1963-1988	p9, p10 y p12
	15180	1978-1991	
Tequisquiapan	15281	1981-1986	
Tonatico	15248	1978-2011	p13
Pilcaya	12209	1979-2010	p14

p-población de *T. lucida*

Fuente: Elaboración propia con base en las estaciones meteorológicas de la base de datos de CONAGUA.

2.5 RESULTADOS

2.5.1 Medio ecológico de *T. lucida* en el Estado de México

En el Cuadro 2.4 se sintetiza información relacionada con características ambientales donde se distribuyen las 14 poblaciones de *T. lucida*, destacando las siguientes: seis tipos de suelo (feozem, cambisol, planosol, luvisol y vertisol) y especialmente seis tipos climáticos: $Cw_2(w)i'g$, $Cw_1(w)ig$, $Cw_1(w)i'g$, $Cw_2(w)ig$, $(A)Cw_1(w)i'g$ y $(A)Cw_2(w)i'g$ los cuales presentan un claro gradiente térmico de menos a más temperatura como sigue. Las poblaciones del Norte del Estado de México (Atlacomulco, Jilotepec y Acambay), ubicadas a mayor elevación (2520-2660 msnm) (Cuadro 2.4) y de clima templado ($Cw_2(w)i'$ y $Cw_1(w)i$), se distinguen por desarrollarse en temperaturas bajas, por ejemplo las mínimas registradas en enero fueron de 10 a 12 ºC (2 ºC de diferencia), pero en los sitios de la región Sur del Estado de México, de climas templados ($Cw_2(w)i'g$) y semicálidos ($(A)Cw_1(w)i'$) situados en un intervalo de elevación de 1493 a 2208 msnm, las temperaturas mínimas de enero fluctuaron de 14.7 a 17.2 ºC (5 ºC de diferencia). La temperatura media anual en la zona Norte es de 13.1 a 15.4 ºC y en la zona Sur de 16.9 a 20 ºC.

2.5.2 Rendimiento del aceite esencial de *T. lucida*

Las poblaciones del Norte del Estado de México, de clima templado, tuvieron mayor rendimiento de aceite en peso fresco (1 a 7 % [mL $100g^{-1}$]) que las del Sur (0.5 a 2 % [mL $100g^{-1}$]), de clima semicálido (Cuadro 2.5).

Cuadro 2.5 Rendimiento del aceite esencial en 1 kg y 100 g de material vegetal fresco y seco de las catorce poblaciones de *T. lucida*.

	Material vegetal fresco				Material vegetal seco	
Población	mL 1000 g^{-1}	%	mL 100 g^{-1}	%	mL 100 g^{-1}	%
p1- Acambay	0.001	0.1	0.01	1	--	--
p2- Jilotepec	0.005	0.5	0.05	5	--	--
p3- Atlacomulco	0.007	0.7	0.07	7	--	--
p4- Coatepec de Harinas	0.0005	0.05	0.005	0.5	0.0001	0.01
p5- Coatepec de Harinas	0.001	0.1	0.01	1	0.0003	0.03
p6- Villa Guerrero	0.001	0.1	0.01	1	0.0002	0.02
p7- Villa Guerrero	0.001	0.1	0.01	1	0.0002	0.02
p8- Villa Guerrero	0.0005	0.05	0.005	0.5	0.0001	0.01
p9- Ixtapan de la Sal	0.0012	0.12	0.012	1.2	0.0003	0.03
p10- Ixtapan de la Sal	0.002	0.2	0.02	2	0.0005	0.05
p11- Coatepec de Harinas	0.0008	0.08	0.008	0.8	0.0002	0.02
p12- Ixtapan de la Sal	0.0005	0.05	0.005	0.5	0.0001	0.01
p13- Tonatico	0.0007	0.07	0.007	0.7	--	--
p14- Pilcaya	0.001	0.1	0.01	1	0.0002	0.02

(%)-Rendimiento porcentual
--sin datos
Fuente: Elaboración propia.

Cuadro 2.4 Relación de las moléculas mayoritarias con algunas características del medio ecológico de las 14 poblaciones de *T. lucida* en el Estado de México.

Población	Compuestos mayoritarios	Rendimiento (%) [mL $100g^{-1}$]		Elevación (msnm)	Temperatura promedio anual (ºC)	Precipitación promedio anual (mm)	Clima	Suelo	Provincia fisiográfica
		Fresco	Seco						
p1 Acambay	Metil eugenol (56.89 %) Anetol (9.93 %) Estragol (9.38 %) Isoeugenol metil éter (8.93 %) β-Ocimeno (6.27 %)	1	--	2660	13.8	68.8	$Cw_2(w)i'g$	Feozem	(a)
p2 Jilotepec	Estragol (46.92 %) Anetol (35.75 %)	5	--	2605	15.4	66	$Cw_1(w)ig$	Cambisol	
p3 Atlacomulco	Metil eugenol (64.59 %) Estragol (7.46 %) β-Ocimeno (6.32 %)	7	--	2520	13.1	58.5	$Cw_1(w)i'g$	Planosol	

Continua…

Cuadro 2.4 Relación de las moléculas mayoritarias con algunas características del Medio Ecológico de las 14 poblaciones de *T. lucida* en el Estado de México.

Población	Compuestos mayoritarios	Rendimiento (%) [mL 100g^{-1}]		Elevación (msnm)	Temperatura promedio anual (ºC)	Precipitación promedio anual (mm)	Clima	Suelo	Provincia fisiográfica
		Fresco	Seco						
p4 Coatepec de Harinas	Acetato de geranilo (33.11 %) β-Ocimeno (14.29 %) Nerolidol (7.68 %) β-Cubebeno (6.99 %) Cariofileno (6.11 %) β-Mirceno (5.59 %)	0.5	0.01	2208	16.9	86.8	$Cw_2(w)ig$	Luvisol	(a)
p5 Coatepec de Harinas	Acetato de geranilo (25.92 %) β-Ocimeno (16.89 %) Germacreno D (8.16 %) β-Mirceno (7.99 %) Nerolidol (7.93 %) Cariofileno (5.95 %) Elixeno (5.32 %)	1	0.03	2081					
p6 Villa Guerrero	Acetato de geranilo (27.53 %) β-Ocimeno (21.38 %) Nerolidol (7.87 %) β-Cubebene (7.40 %) Cariofileno (6.14 %)	1	0.02	2045	17.1	94.2	$Cw_2(w)ig$	Vertisol	(b)

Continua…

Cuadro 2.4 Relación de las moléculas mayoritarias con algunas características del Medio Ecológico de las 14 poblaciones de *T. lucida* en el Estado de México.

Población	Compuestos mayoritarios	Rendimiento (%) [mL 100g^{-1}]		Elevación (msnm)	Temperatura promedio anual (ºC)	Precipitación promedio anual (mm)	Clima	Suelo	Provincia fisiográfica
		Fresco	Seco						
p7 Villa Guerrero	Acetato de geranilo (20.52 %) β-Ocimeno (15.83 %) Nerolidol (11.63 %) Cariofileno (8.33 %) Germacreno D (7.62 %) Elixeno (5.14 %)	1	0.02	1970	17.1	94.2	$Cw_2(w)ig$	Vertisol	(a)
p8 Villa Guerrero	β-Ocimeno (22.52 %) Acetato de geranilo (12. 87 %) Cariofileno (10.95 %) Nerolidol (10.20 %) Germacreno D (7.78 %)	0.5	0.01	1955					(b)
p9 Ixtapan de la Sal	Acetato de geranilo (29.20 %) β-Ocimeno (23.13 %) β-Mirceno (7.11 %) Nerolidol (6.03 %) β-Cubebeno (5.71 %)	1.2	0.03	1907	17.9	74	$Cw_1(w)i'g$	Regosol	

Continua…

Cuadro 2.4 Relación de las moléculas mayoritarias con algunas características del Medio Ecológico de las 14 poblaciones de *T. lucida* en el Estado de México.

Población	Compuestos mayoritarios	Rendimiento (%) [mL 100g^{-1}]		Elevación (msnm)	Temperatura promedio anual (ºC)	Precipitación promedio anual (mm)	Clima	Suelo	Provincia fisiográfica
		Fresco	Seco						
p10 Ixtapan de la Sal	Acetato de geranilo (40.83 %) β-Ocimeno (15.14 %) Nerolidol (8.19 %) Cariofileno (5.29 %) β-Cubebeno (5.17 %)	2	0.05	1853	17.9	74	$Cw_1(w)i'g$	Vertisol	(b)
p11 Coatepec de Harinas	Acetato de geranilo (25.46 %) β-Ocimeno (16.47 %) Nerolidol (10.64 %) Cariofileno (6.74 %) β-Cubebeno (6.13 %)	0.8	0.02	1849	16.9	86.8	$Cw_2(w)ig$		(a)
p12 Ixtapan de la Sal	Acetato de geranilo (23.84 %) β-Ocimeno (19.57 %) Nerolidol (9.81 %) Cariofileno (7.88 %) β-Cubebeno (5.68 %) β-Mirceno (4.99 %)	0.5	0.01	1841	17.9	74	$Cw_1(w)i'g$		(b)

Continua…

Cuadro 2.4 Relación de las moléculas mayoritarias con algunas características del Medio Ecológico de las 14 poblaciones de *T. lucida* en el Estado de México.

Población	Compuestos mayoritarios	Rendimiento (%) [mL 100g^{-1}]		Elevación	Temperatura promedio anual	Precipitación promedio anual	Clima	Suelo	Provincia fisiográfica
		Fresco	Seco						
p13 Tonatico	Acetato de geranilo (31.72 %) β-Ocimeno (24.91 %) Nerolidol (8.65 %) Metil eugenol (6.27 %)	0.7	--	1592	20	79.4	(A)Cw_1(w)i´g	Vertisol	(b)
p14 Pilcaya	β-Ocimeno (24.03 %) Acetato de geranilo (19.26 %) Nerolidol (12.52 %) β-Cubebeno (7.32 %) Cariofileno (6.73 %)	1	0.02	1493		91.6	(A)Cw_2(w)i´g		

(a) Eje Neovolcánico
(b) Sierra Madre del Sur
Temperatura media anual
Precipitación media anual
Cw_2(w)i'g Clima templado subhúmedo, el más húmedo de los subhúmedos, con régimen de lluvias en verano, poco oscilante y con marcha anual de la temperatura tipo ganges.
Cw_1(w)ig Clima templado subhúmedo, el normal de los subhúmedos, con régimen de lluvias en verano, isotermal y con marcha anual de la teperatura tipo ganges.
Cw_1(w)i'g Clima templado subhúmedo, el normal de los subhúmedos, con régimen de lluvias en verano, poco oscilante y con marcha anual de la temperatura tipo ganges.
Cw_2(w)ig Clima templado subhúmedo, el más húmedo de los subhúmedos con régimen de lluvias en verano, isotermal y con marcha anual de la temperatura tipo ganges.
(A)Cw_1 (w)i'g Clima templado con tendencia a ser tropical, el normal de los subhúmedos, con régimen de lluvias en verano, poco oscilante y con marcha anual de la temperatura tipo ganges.
(A)Cw_2(w)i'g Clima templado con tendencia a ser tropical, el más húmedo de los subhúmedos, con régimen de lluvias en verano, poco oscilante y con marcha anual de la temperatura tipo ganges.
--Sin información
Fuente: Elaboración propia, con base en la información que proporciona INEGI y CONAGUA (fuentes mencionadas en materiales y métodos)

2.5.3 Composición química del aceite esencial de *T. lucida*

En las 14 poblaciones de *T. lucida* del Estado de México se identificaron: en la zona Norte, 9 (Acambay y Atlacomulco) y 13 (Jilotepec) compuestos en el aceite esencial, y en la zona Sur, 16 (Ixtapan de la Sal), 17 (Tonatico), 19 (Coatepec de Harinas, Ixtapan de la Sal y Pilcaya) y 23 (Villa Guerrero) compuestos, separados en tiempos de retención (Tr) de 3 hasta 12 min.

Los compuestos β-myrceno, β-ocimeno y linalool estuvieron presentes en todas las poblaciones de *T. lucida*. El compuesto β-myrceno fue mayoritario en Coatepec de Harinas y en Ixtapan de la Sal (4.9 a 7.9 %), pero como traza en el resto de las poblaciones; β-ocimeno fue mayoritario en gran parte de las poblaciones (6.27 a 24.91 %), pero fue un compuesto traza en Jilotepec; linalool fue un compuesto traza (0.84 a 3.69 %). El acetato de geranilo estuvo presente en 13 de las poblaciones, pero no en la de Acambay (de la zona Norte); de las 13 poblaciones, en 11 de ellas ubicadas en la zona Sur se presentó como compuesto mayoritario (12 a 40.8 %), pero en Jilotepec y Atlacomulco, que fueron poblaciones de la zona Norte, fue poco abundante (0.26 y 1.74 %, respectivamente) (Cuadro 2.6).

Por otra parte, los compuestos β-pineno y δ-cadineno estuvieron presentes en once poblaciones (excepto en poblaciones del Norte) y en poca abundancia.

Cariofileno y nerolidol se presentaron como compuestos traza en poblaciones de Jilotepec y Tonatico y en el resto de las poblaciones con porcentajes altos (4.6 a 10.9 % y 6 a 12.5 %, respectivamente).

Finalmente, los compuestos estragol, anetol y metil eugenol estuvieron presentes como mayoritarios únicamente en las poblaciones de la zona Norte (Acambay, Jilotepec y

Atlacomulco). (Ver en sección de anexos, Figura 6.1A Estructuras químicas de moléculas mayoritarias en el aceite esencial de *T. lucida*).

En general, otros compuestos traza en el aceite esencial de las catorce poblaciones de *T. lucida* variaron en presencia y abundancia (Cuadro 2.6). Para bosquejar el perfil de compuestos importantes por su abundancia a continuación se esboza una descripción básica.

p1 - Acambay

Los compuestos mayoritarios en el aceite esencial de *T. lucida* de la población Acambay fueron cinco: metil eugenol (56.89 %; Tr: 9.44 min), anetol (9.93 %; Tr: 7.88 min), estragol (9.38 %; Tr: 6.68 min), isoeugenol metil éter (8.93 %; Tr: 10.56 min) y β-ocimeno (6.27 %; Tr: 4.62 min) (Fig. 2.7, Cuadro 2.7).

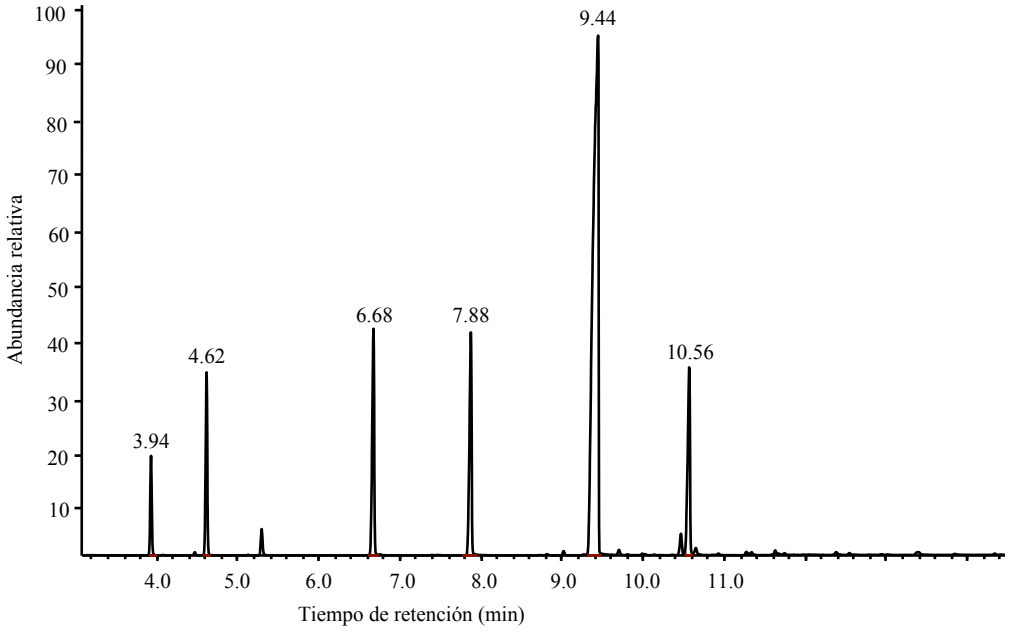


Figura 2.7 Cromatograma de los compuestos presentes en el aceite esencial de *T. lucida* de la población p1.

Cuadro 2.7 Composición química del aceite esencial de *T. lucida* de la población p1.

Pico	Compuesto	Rt	Área	Porcentaje
1	β-Mirceno	3.94	3153616	3.27
2	β-Ocimeno	4.62	6110325	**6.27**
3	Linalool	5.30	975684	0.99
4	Estragol	6.68	9215488	**9.38**
5	Anetol	7.88	9789002	**9.93**
6	Metil eugenol	9.44	56579507	**56.89**
7	β-Cubebeno	10.46	910621	0.91
8	Isoeugenol metil éter	10.56	8816604	**8.93**
9	Elixeno	10.65	335146	0.33

p2 - Jilotepec

Los compuestos mayoritarios encontrados en la p2 fueron dos: estragol (46.92 %; Tr: 6.73 min) y anetol (35.75 %; Tr: 7.93 min) (Fig. 2.8, Cuadro2.8).

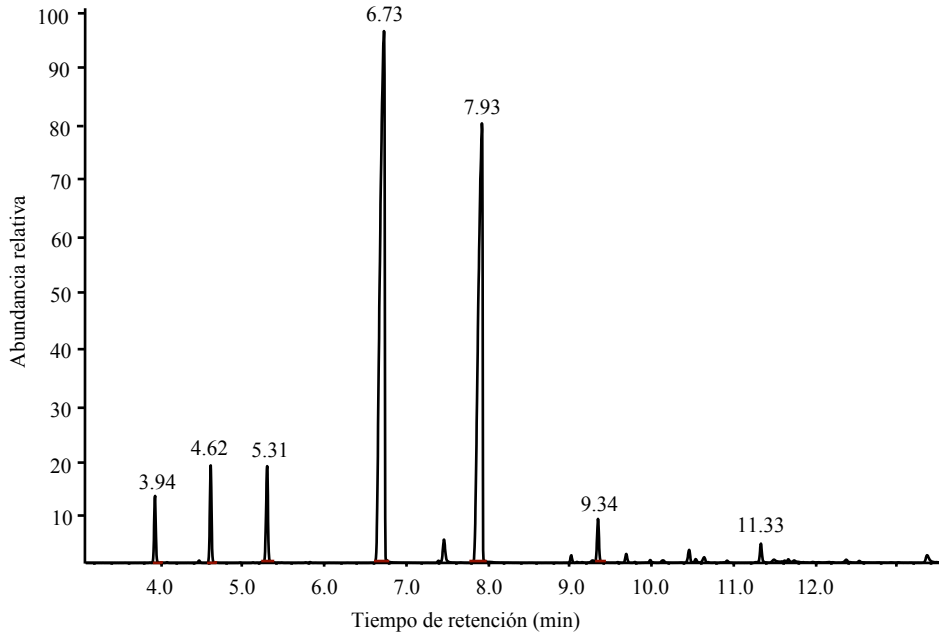


Figura 2.8 Cromatograma de los compuestos presentes en el aceite esencial de *T. lucida* de la población p2.

Cuadro 2.8 Composición química del aceite esencial de *T. lucida* de la población p2.

Pico	Compuesto	Tr	Área	Porcentaje
1	β-Mirceno	3.94	2372833	2.14
2	β-Ocimeno	4.62	3524932	3.21
3	Linalool	5.31	3995803	3.69
4	Estragol	6.73	51081129	**46.92**
5	Benzaldehido, 4-metoxi	7.46	1374702	1.27
6	Anetol	7.93	38924060	**35.75**
7	Acetato de geranilo	9.02	278273	0.26
8	Metil eugenol	9.34	1835894	1.67
9	Cariofileno	9.69	385090	0.35
10	Germacreno D	10.46	613282	0.56
11	Isoeugenol metil éter	10.53	164671	0.15
12	Elixeno	10.64	329491	0.30
13	Nerolidol	11.33	858411	0.79

p3 – Atlacomulco

Para la p3 se identificaron tres compuestos mayoritarios: metil eugenol (64.59 %; Tr: 9.49 min), estragol (7.46 %; Tr: 6.69 min) y β-ocimeno (6.32 %; Tr: 4.63 min) (Fig. 2.9, Cuadro 2.9).

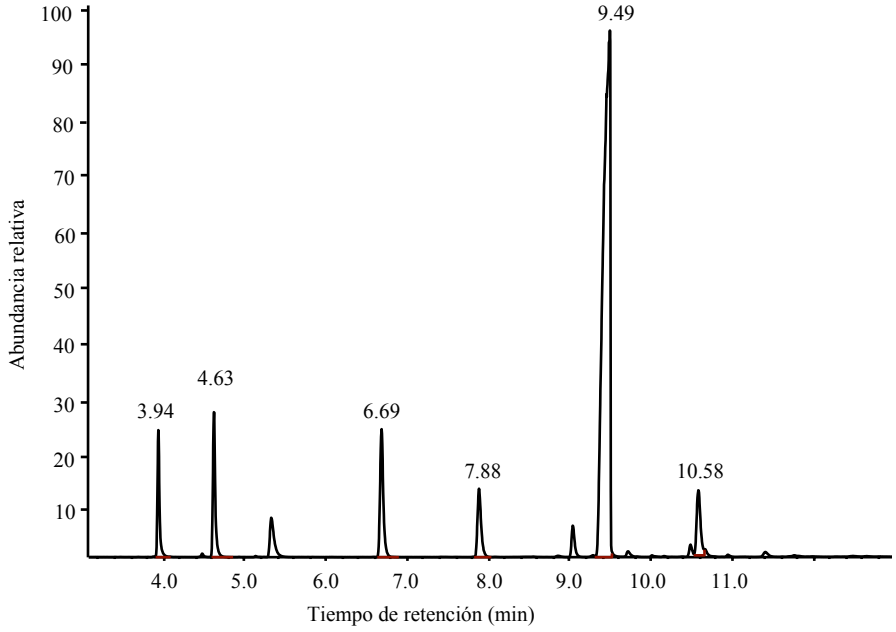


Figura 2.9 Cromatograma de los compuestos presentes en el aceite esencial de *T. lucida* de la población p3.

Cuadro 2.9 Composición química del aceite esencial de *Tagetes lucida* de la población p3.

Pico	Compuesto	Tr	Área	Porcentaje
1	β-Myrceno	3.94	5810754	4.84
2	β-Ocimeno	4.63	7301796	**6.32**
3	Linalool	5.34	3894081	3.09
4	Estragol	6.69	9075933	**7.46**
5	Anetol	7.88	5238648	4.48
6	Acetato de geranilo	9.05	2166255	1.74
7	Metil eugenol	9.49	76904305	**64.59**
8	β-Cubebeno	10.49	822234	0.66
9	Isoeugenol metil eter	10.59	5420393	4.36

p4 - Coatepec de Harinas

Los compuestos mayoritarios en la p4 fueron seis: acetato de geranilo (33.11 %; Tr: 9.05 min), β-ocimeno (14.29 %; Tr: 4.62 min), nerolidol (7.68 %; Tr: 11.33 min), β-cubebeno (6.99 %; Tr: 10.43 min), cariofileno (6.11 %, Tr: 9.67 min) y β-mirceno (5.59 %, Tr: 3.93 min) (Fig. 2.10, Cuadro 2.10).

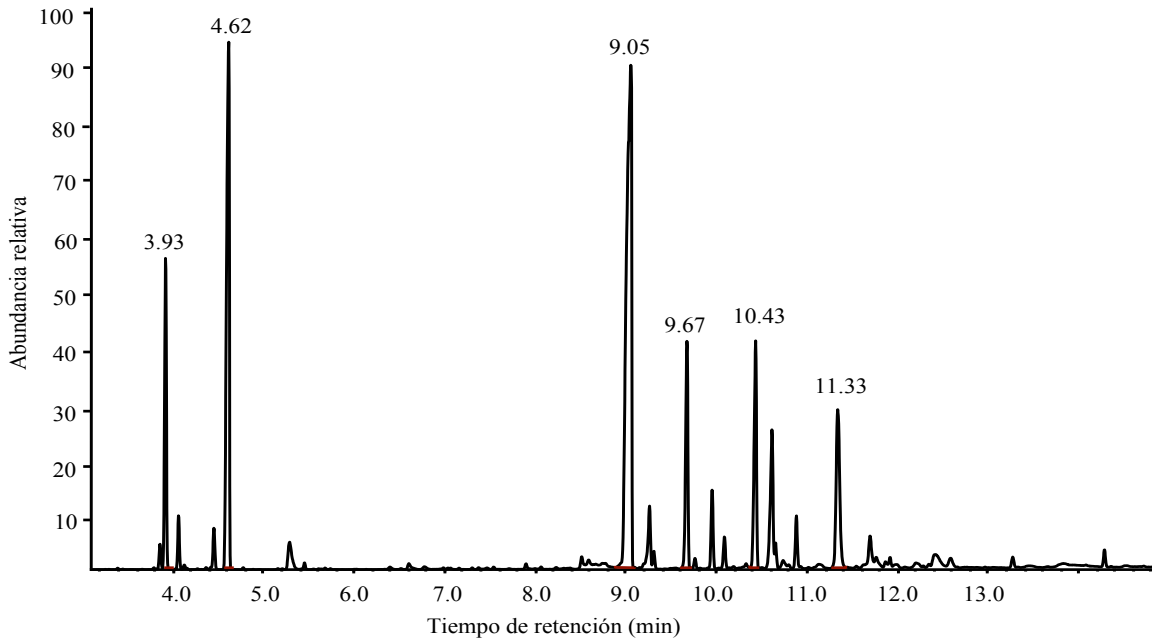


Figura 2.10 Cromatograma de los compuestos presentes en el aceite esencial de *T. lucida* de la población p4.

Cuadro 2.10 Composición química del aceite esencial de *T. lucida* de la población de p4.

Pico	Compuesto	Rt	Área	Porcentaje
1	β-Pineno	3.87	1449406	0.82
2	β-Mirceno	3.93	18977464	**5.59**
3	3-Hexeno-1-ol, acetato, (Z)-	4.07	3021544	1.04
4	(E)-Ocimeno	4.46	2704866	0.79
5	β-Ocimeno	4.62	48305475	**14.29**
6	Linalool	5.29	3476250	1.16
7	Acetato de geranilo	9.05	86682865	**33.11**
8	Humulen-(v1)	9.26	5639204	2.14
9	Metil eugenol	9.31	1177990	0.68
10	Cariofileno	9.67	17533345	**6.11**
11	Copaeno	9.76	684192	0.27
12	1,6,10-Dodecatrieno, 7,11-dimetil-3-metileno-, (E)-	9.95	5259137	1.94
13	1,4,7,-Ciclododecatrieno, 1,5,9,9-tetrametil-, Z,Z,Z-	10.08	2148862	0.77
14	β-Cubebeno	10.43	18010175	**6.99**
15	Elixeno	10.61	12511685	4.56
16	δ-Cadineno	10.88	3490114	1.35
17	Nerolidol	11.33	19144205	**7.68**
18	(-)-Spathulenol	11.69	3397648	1.41
19	Cubenol	12.34	272835	1.39

p5 - Coatepec de Harinas

En la p5 se identificaron siete compuestos mayoritarios: acetato de geranilo (25.92 %; Tr: 9.02 min), β-ocimeno (16.89 %; Tr: 4.61 min), germacreno D (8.16 %; Tr: 10.41 min), β-mirceno (7.99 %; Tr: 3.92 min), nerolidol (7.93 %; Tr: 11.32 min), cariofileno (5.95 %; Tr: 9.65 min) y elixene (5.32 %; Tr: 10.60 min) (Fig. 2.11, Cuadro 2.11).

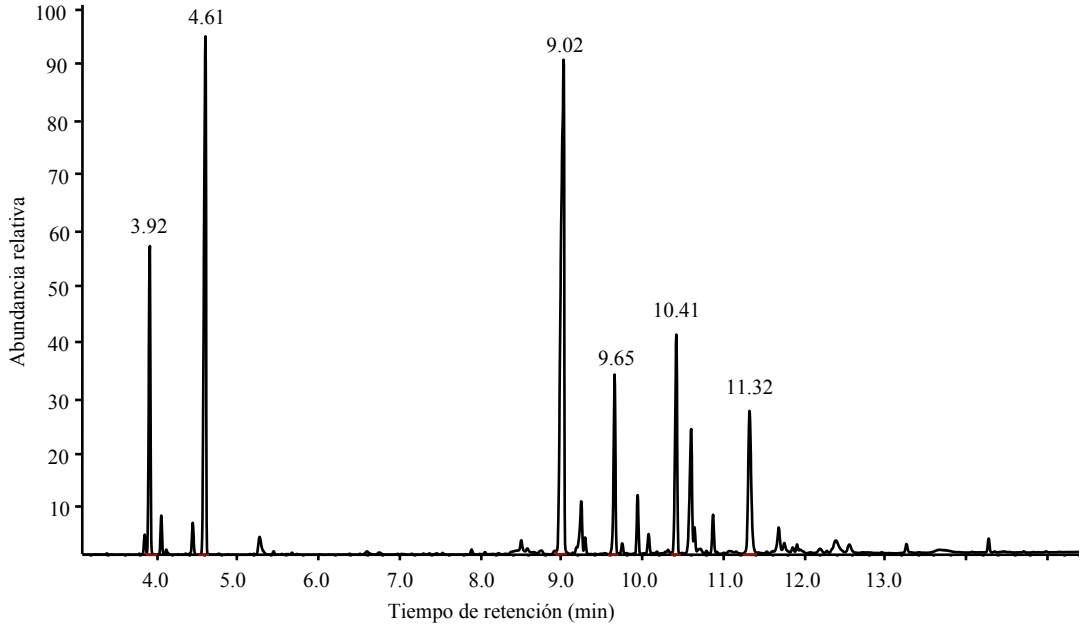


Figura 2.11 Cromatograma de los compuestos presentes en el aceite esencial de *T. lucida* de la población p5.

Cuadro 2.11 Composición química del aceite esencial de *T. lucida* de la población p5.

Pico	Compuesto	Tr	Área	Porcentaje
1	β-Pineno	3.86	1371117	0.59
2	β-Mirceno	3.92	20953491	**7.99**
3	3-Hexeno-1-ol, acetato, (Z)-	4.06	2466364	1.01
4	(E)-Ocimeno	4.45	2246839	0.88
5	β-Ocimeno	4.61	44141716	**16.89**
6	Linalool	5.28	2355887	1.19
7	Acetato de geranilo	9.02	65259402	**25.92**
8	Humulen-(v1)	9.24	5547703	2.37
9	Metil eugenol	9.29	1139777	0.57
10	Cariofileno	9.65	13379187	**5.95**
11	Copaeno	9.75	770408	0.38
12	1,6,10-Dodecatrieno, 7,11-dimetil-3-metileno-, (E)-	9.94	4056638	1.99
13	α- Cariofileno	10.07	1483679	0.64
14	Germacreno D	10.41	18003886	**8.16**
15	Elixeno	10.60	12134179	**5.32**
16	Ciclohexeno, 1-metil-4-(5-methyl-1-metileno-4-hexenilo)-, (S)-	10.64	1598581	0.83
17	δ-Cadineno	10.87	2849624	1.25
18	Nerolidol	11.32	17186119	**7.93**
19	(-)-Spathulenol	11.68	2559605	1.39
20	tau.-Cadinol	12.38	2892193	1.37

p6 – Villa Guerrero

Para la p6 se identificaron cinco compuestos mayoritarios: acetato de geranilo (27.53 %; Tr: 9.05 min), β-ocimeno (21.38 %; Tr: 4.63 min), nerolidol (7.87 %; Tr: 11.34 min), β-cubebeno (7.40 %; Tr: 10.43 min) y cariofileno (6.14 %; Tr: 9.67 min) (Fig. 2.12, Cuadro 2.12).

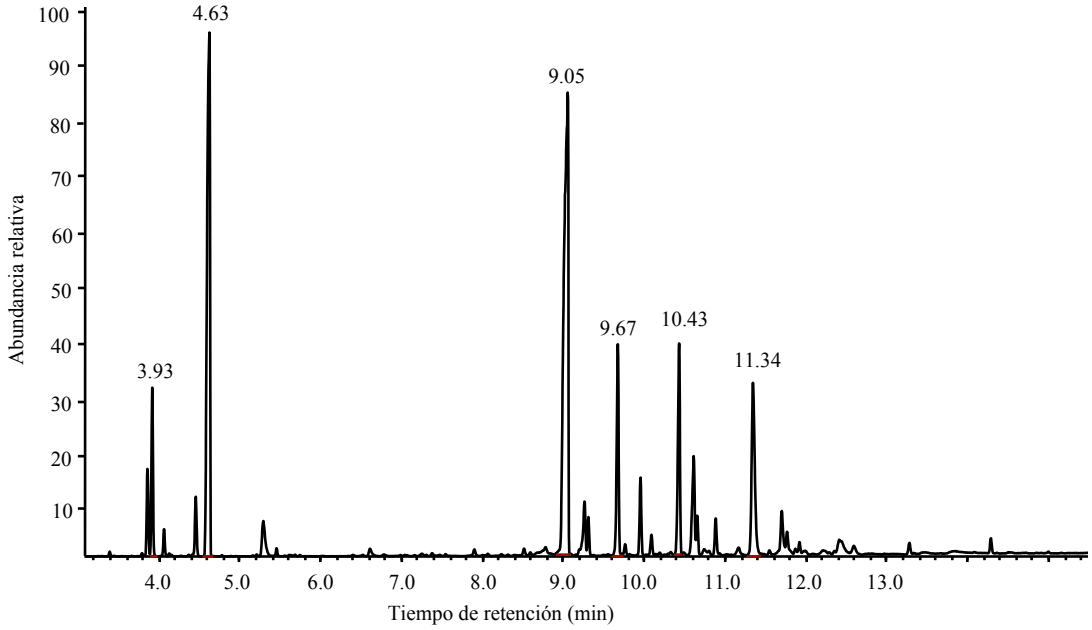


Figura 2.12 Cromatograma de los compuestos presentes en el aceite esencial de *T. lucida* de la población p6.

p7- Villa Guerrero

Los compuestos mayoritarios encontrados en la p7 fueron seis: acetato de geranilo (20.52 %; Tr: 9.02 min), β-ocimeno (15.83 %; Tr: 4.61 min), nerolidol (11.63 %; Tr: 11.33 min), cariofileno (8.33 %; Tr: 9.67 min), germacreno D (7.62 %; Tr: 10.42 min) y elixeno (5.14 %; Tr: 10.60 min) (Fig. 2.13, Cuadro 2.13).

Cuadro 2.12 Composición química del aceite esencial de *T. lucida* de la población p6.

Pico	Compuesto	Tr	Área	Porcentaje
1	β-Pineno	3.87	6031701	1.42
2	β-Mirceno	3.93	11310431	3.08
3	3-Hexeno-1-ol, acetato, (Z)-	4.07	1770279	0.66
4	(E)-Ocimeno	4.46	4576906	1.39
5	β-Ocimeno	4.63	66041606	**21.38**
6	Linalool	5.30	4900794	1.47
7	Cyclohexano, 2-etenil-1,1-dimetil-3-metileno-	5.46	536142	0.17
8	Acetato de geranilo	9.05	86143751	**27.53**
9	Humulen-(v1)	9.26	5652825	2.04
10	Metil eugenol	9.31	2770732	0.88
11	Cariofileno	9.67	17936685	**6.14**
12	Copaeno	9.76	866550	0.29
13	1,6,10-Dodecatrieno, 7,11-dimetill-3-metileno-, (E)-	9.95	5948347	2.09
14	α-Cariofileno	10.09	1620316	0.58
15	β-Cubebeno	10.43	18536361	**7.40**
16	γ-Elemene	10.61	10765163	4.20
17	Ciclohexeno,1-metil-4-(5-metil-1-metileno-4-hexenil)-, (S)-	10.65	2843833	1.02
18	δ-Cadineno	10.88	2902125	1.07
19	8-Acetil-5,5-dimetil-nona-2,3,8-trienoico ácido, éster de metilo	11.16	1152059	0.19
20	Nerolidol	11.34	23496572	**7.87**
21	Óxido de cariofileno	11.70	4607116	1.27
22	Acetato nerolidol	11.76	2254893	0.64
23	.tau.-Cadinol	12.41	3862506	1.30

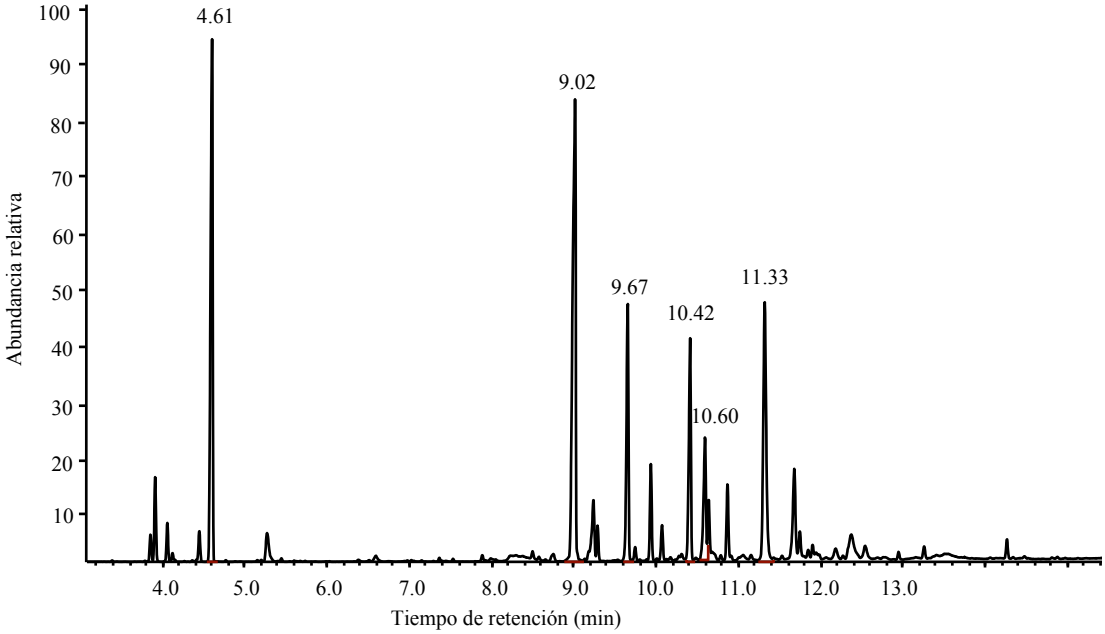


Figura 2.13 Cromatograma de los compuestos presentes en el aceite esencial de *T. lucida* de población p7.

Cuadro 2.13 Composición química del aceite esencial de *T. lucida* de la población p7.

Pico	Compuesto	Tr	Área	Porcentaje
1	β-Pineno	3.86	1779524	0.65
2	β-Mirceno	3.92	5228231	2.16
3	3-Hexeno-1-ol, acetato, (E)-	4.07	2384759	0.88
4	Ácido acético, éster de hexilo	4.13	641848	0.22
5	(E)-Ocimeno	4.46	2123935	0.84
6	β-Ocimeno	4.61	40855630	**15.83**
7	Linalool	5.28	3458010	1.33
8	Acetato de geranilo	9.02	53126324	**20.52**
9	Humulen-(v1)	9.25	5897041	2.55
10	Metil eugenol	9.30	2185828	0.88
11	Cariofileno	9.67	19498174	**8.33**
12	β-Cubebeno	9.76	931072	0.36
13	(Z)-β-Farneseno	9.95	6297706	2.49
14	α-Cariofileno	10.08	2439959	1.08
15	Germacreno D	10.42	16861132	**7.62**
16	Elixeno	10.60	11034150	**5.14**
17	Cyclohexeno,1-metil-4-(5-metil-1-metileno-4-hexenil)-, (S)-	10.65	3300438	1.26
18	δ-Cadineno	10.88	5319506	2.27
19	Nerolidol	11.33	28058438	**11.63**
20	Óxido de cariofileno	11.69	8876982	2.76
21	Acetato nerolidol	11.76	1829120	0.91
22	Cubenol	12.20	1317646	0.55
23	.tau.-Cadinol	12.38	5122212	2.01

p8- Villa Guerrero

Los compuestos mayoritarios de la p8 fueron cinco: β-ocimeno (22.52 %; Tr:4.62 min), acetato de geranilo (12. 87 %; Tr: 9.01 min), cariofileno (10.95 %; Tr: 9.66 min), nerolidol (10.20 %; Tr: 11.33 min) y germacreno D (7.78 %; Tr: 10.42 min) (Fig. 2.14, Cuadro 2.14).

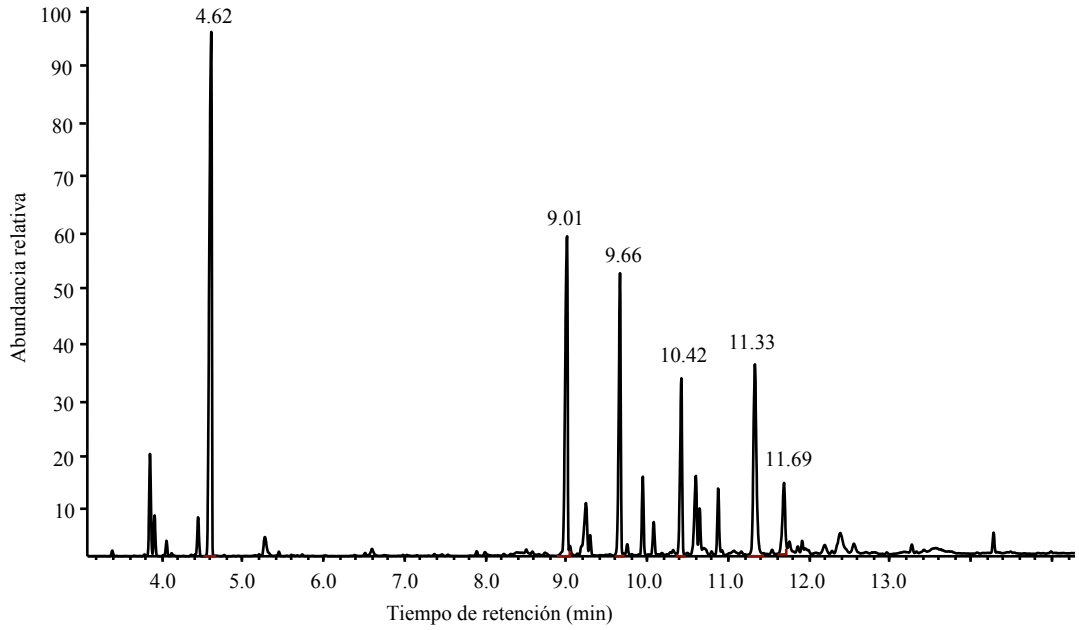


Figura 2.14 Cromatograma de los compuestos presentes en el aceite esencial de *T. lucida* de la población p8.

Cuadro 2.14 Composición química del aceite esencial de *T. lucida* de la población p8.

Pico	Compuesto	Tr	Área	Porcentaje
1	β-Pineno	3.86	7782575	2.88
2	β-Mirceno	3.92	2927008	1.07
3	3-Hexeno-1-ol, acetato, (Z)-	4.06	1082825	0.51
4	(E)-Ocimeno	4.45	3114181	1.27
5	β-Ocimeno	4.62	57117296	**22.52**
6	Linalool	5.28	2631987	1.07
7	Acetato de geranilo	9.01	35072029	**12.87**
8	Copaeno	9.04	774938	0.24
9	Humulen-(v1)	9.24	7476486	3.19
10	3-Metil-2-pent-2-enil-ciclopent-2-enona	9.29	1506342	0.62
11	Cariofileno	9.66	24819086	**10.95**
12	β-Cubebeno	9.75	874783	0.37
13	(Z)-β-Farneseno	9.94	5949585	2.66
14	α-Cariofileno	10.08	2622550	1.10
15	Germacreno D	10.42	15693572	**7.78**
16	γ-Elemene	10.60	8490686	4.25
17	Cyclohexeno,1-metil-4-(5-metil-1-metileno-4-hexenil)-, (S)-	10.64	2954356	1.44
18	δ-Cadineno	10.87	5319124	2.09
19	Nerolidol	11.33	25017038	**10.20**
20	Óxido de cariofileno	11.69	8634415	2.74
21	Cubenol	12.19	1346972	0.53
22	2-Metil-4-(2,6,6-trimetilciclohex-1-enil)but-2-en-1-ol	12.28	235976	0.11
23	.tau.-Cadinol	12.38	5001826	1.83

p9 - Ixtapan de la Sal

Los compuestos mayoritarios encontrados en la p9 fueron cinco: acetato de geranilo (29.20 %; Tr: 9.04 min), β-ocimeno (23.13 %; Tr: 4.62 min), β-mirceno (7.11 %; 3.93 min), nerolidol (6.03 %; 11.33 min) y β-cubebeno (5.71 %; Tr: 10.42 min) (Fig. 2.15, Cuadro 2.15).

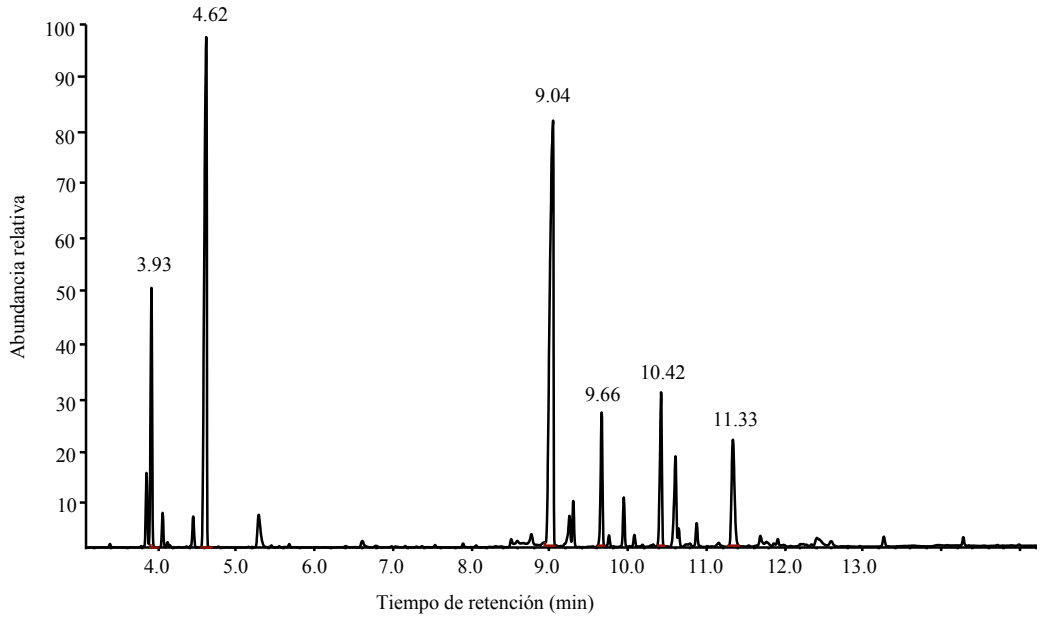


Figura 2.15 Cromatograma de los compuestos presentes en el aceite esencial de *T. lucida* de la población p9.

p10 - Ixtapan de la Sal

Los compuestos mayoritarios para la p10 fueron cinco: acetato de geranilo (40.83 %; Tr: 9.07 min), β-ocimeno (15.14 %; Tr: 4.62 min), nerolidol (8.19 %; Tr: 11.36 min), cariofileno (5.29 %; Tr: 9.68 min) y β-cubebeno (5.17 %; 10.44 min) (Fig. 2.16, Cuadro 2.16).

Cuadro 2.15 Composición química del aceite esencial de *T. lucida* de la población p9.

Pico	Compuesto	Tr	Área	Porcentaje
1	α-Pineno	3.40	126913	0.09
2	β-Pineno	3.86	2904702	2.05
3	β-Mirceno	3.93	9767289	**7.11**
4	3-Hexeno-1-ol, acetato, (E)-	4.07	1254299	0.90
5	(E)-Ocimeno	4.46	1316748	0.99
6	β-Ocimeno	4.62	30214519	**23.13**
7	Linalool	5.29	2446176	1.84
8	Acetato de geranilo	9.04	37197690	**29.20**
9	Humulen-(v1)	9.25	1832573	1.45
10	Metil eugenol	9.30	1809332	1.42
11	Cariofileno	9.66	5985434	4.67
12	1,6,10-Dodecatrieno, 7,11-dimetil-3-metileno-, (E)-	9.94	1995648	1.55
13	β-Cubebeno	10.42	7321020	**5.71**
14	Elixeno	10.60	4973821	3.88
15	δ-Cadineno	10.87	1011477	0.79
16	Nerolidol	11.33	7703799	**6.03**

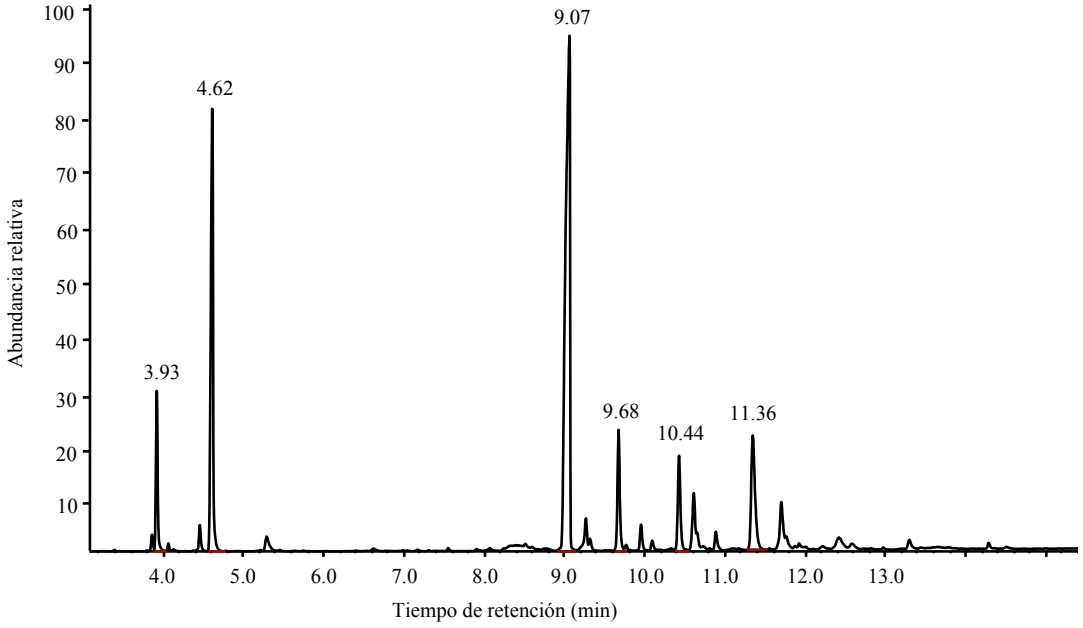


Figura 2.16 Cromatograma de los compuestos presentes en el aceite esencial de *T. lucida* de la población p10.

Cuadro 2.16 Composición química del aceite esencial de *T. lucida* de la población p10.

Pico	Compuesto	Tr	Área	Porcentaje
1	β-Pineno	3.87	1225630	0.55
2	β-Mirceno	3.93	11923332	4.79
3	3-Hexeno-1-ol, acetato, (Z)-	4.07	556487	0.29
4	Biciclo[3.1.1]hept-2-eno, 3,6,6-trimetil-	4.47	2270961	0.88
5	β-Ocimeno	4.62	41693860	**15.14**
6	Linalool	5.30	2222315	1.23
7	Acetato de geranilo	9.07	92446673	**40.83**
8	Humulen-(v1)	9.28	3692376	1.57
9	Biciclo[4.3.0]nonan-2-one, 8-isopropilideno-	9.33	1165226	0.55
10	Cariofileno	9.68	11650343	**5.29**
11	Copaeno	9.78	473212	0.21
12	1,6,10-Dodecatrieno, 7,11-dimetill-3-metileno-, (E)-	9.97	2449168	1.27
13	α-Cariofileno	10.10	1011519	0.45
14	β-Cubebeno	10.44	10046965	**5.17**
15	γ-Elemeno	10.62	6598214	3.97
16	δ-Cadineno	10.89	2055984	0.86
17	Nerolidol	11.36	18323420	**8.19**
18	Óxido de cariofileno	11.71	6250778	1.68
19	tau-Cadinol	12.43	2935784	1.19

p11- Coatepec de Harinas

Los compuestos mayoritarios en el aceite esencial de la p11 fueron cinco: acetato de geranilo (25.46 %; Tr: 9.03 min), β-ocimeno (16.47 %; Tr: 4.61 min), nerolidol (10.64 %; Tr: 11.32 min), cariofileno (6.74 %; Tr: 9.66 min) y β-cubebeno (6.13 %; Tr: 10.41 min) (Fig. 2.17, Cuadro 2.17).

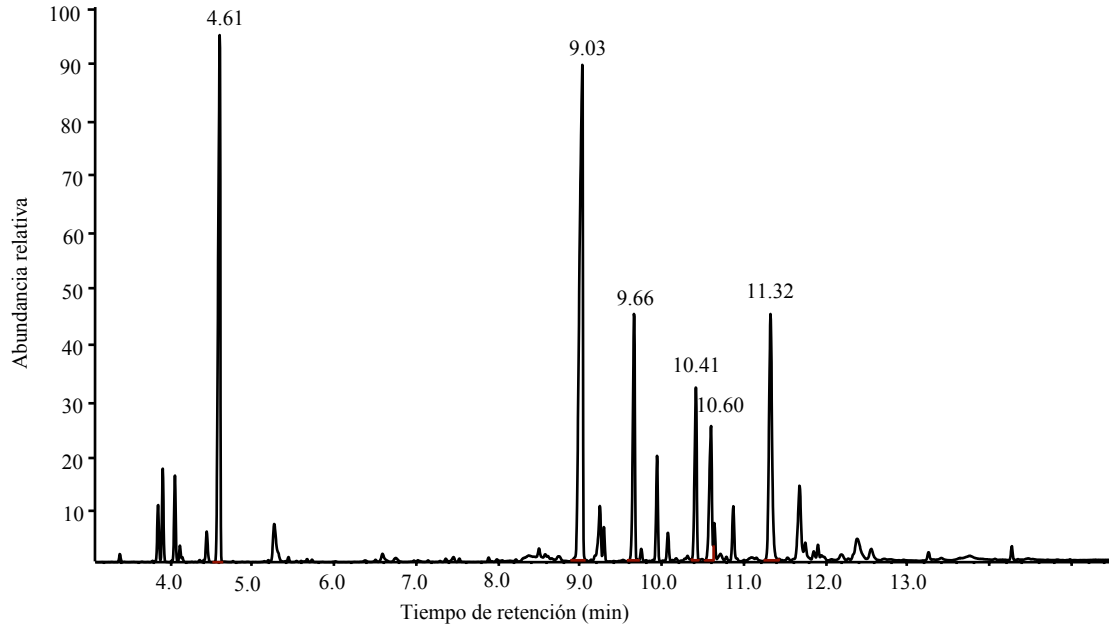


Figura 2.17 Cromatograma de los compuestos presentes en el aceite esencial de *T. lucida* de la población p11.

Cuadro 2.17 Composición química del aceite esencial de *T. lucida* de la población p11.

Pico	Compuesto	Tr	Área	Porcentaje
1	Biciclo[3.1.1]hept-2-eno, 3,6,6-trimetil-	3.39	263867	0.18
2	β-Pineno	3.86	1883306	1.39
3	β-Mirceno	3.91	2964986	2.25
4	3-Hexeno-1-ol, acetato, (Z)-	4.06	2758730	1.36
5	Acido acetico, hexil éster	4.12	495938	0.25
6	α-Pineno	4.45	1236931	0.83
7	β-Ocimeno	4.61	23293368	**16.47**
8	Linalool	5.27	2652943	1.59
9	Acetato de geranilo	9.03	34478143	**25.46**
10	Humulen-(v1)	9.24	3082532	2.16
11	Metil eugenol	9.29	1184132	0.68
12	Cariofileno	9.66	10683769	**6.74**
13	Copaeno	9.75	465424	0.29
14	(Z)- β-Farneseno	9.94	3750868	2.54
15	α-Cariofileno	10.07	1133876	0.71
16	β-Cubebeno	10.41	7673013	**6.13**
17	γ-Elemene	10.60	7172027	4.93
18	Ciclohexeno, 1-metil-4-(5-metil-1-metileno-4-hexenil)-, (S)-	10.64	1340290	0.79
19	δ-Cadineno	10.87	2345223	1.58
20	Nerolidol	11.32	15157555	**10.64**
21	(-)-Spathulenol	11.67	4860738	2.33
22	tau.-Cadinol	12.38	2422242	1.58

p12 - Ixtapan de la Sal

Los compuestos mayoritarios encontrados en el aceite esencial de la p12 fueron seis: acetato de geranilo (23.84 %; Tr: 9.03 min), β-ocimeno (19.57 %; Tr: 4.62 min), nerolidol (9.81 %; Tr: 11.32 min), cariofileno (7.88 %; Tr: 9.67 min), β-cubebeno (5.68 %; Tr: 10.42 min) y β-mirceno (4.99 %; Tr: 3.92 min) (Fig. 2.18, Cuadro 2.18).

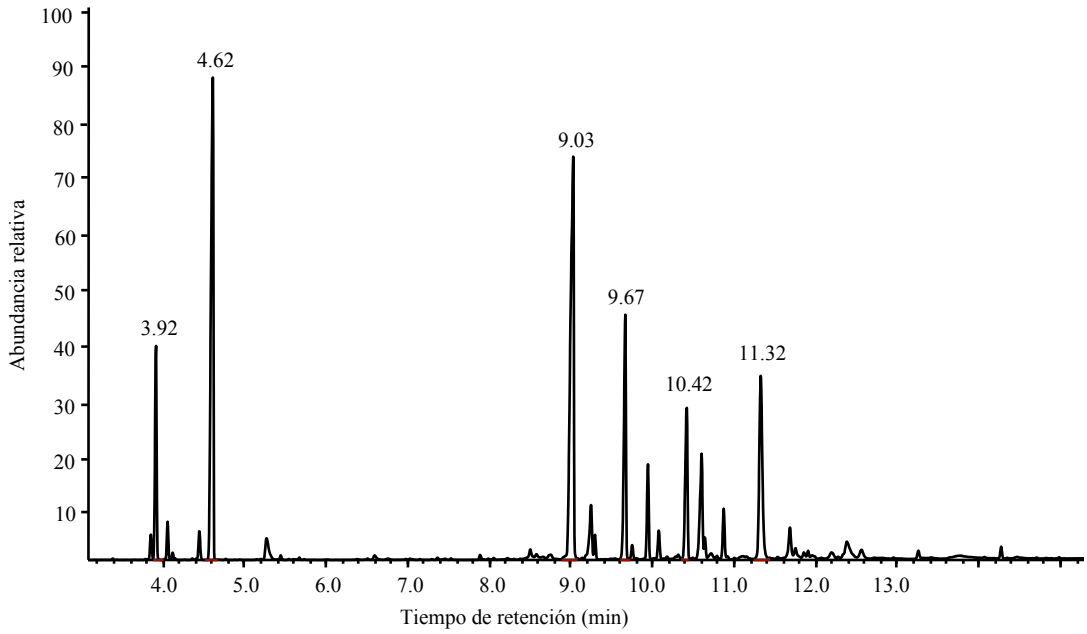


Figura 2.18 Cromatograma de los compuestos presentes en el aceite esencial de *T. lucida* de la población p12.

p13 - Tonatico

Para la p13 se identificaron cuatro compuestos mayoritarios: acetato de geranilo (31.72 %; Tr: 9.07 min), β-ocimeno (24.91 %; Tr: 4.64 min), nerolidol (8.65 %; Tr: 11.34 min) y metil eugenol (6.27 %; Tr: 9.34 min) (Fig. 2.19, Cuadro 2.19).

Cuadro 2.18 Composición química del aceite esencial de *T. lucida* de la población p12.

Pico	Compuesto	Rt	Área	Porcentaje
1	β-Pineno	3.86	1029816	0.65
2	β-Mirceno	3.92	8642981	**4.99**
3	3-Hexeno-1-ol, acetato, (Z)-	4.06	1439932	1.03
4	(E)-Ocimeno	4.45	1310935	0.86
5	β-Ocimeno	4.62	29450729	**19.57**
6	Linalool	5.28	1935471	1.47
7	Acetato de geranilo	9.03	33577816	**23.84**
8	Humulen-(v1)	9.25	3616642	2.47
9	Metil eugenol	9.29	1017635	0.80
10	Cariofileno	9.67	12425061	**7.88**
11	Ylangeno	9.75	622462	0.40
12	1,6,10-Dodecatrieno, 7,11-dimetil-3-metileno-, (E)-	9.94	4170418	2.61
13	α-Cariofileno	10.07	1315691	0.82
14	β-Cubebeno	10.42	8542978	**5.68**
15	Elixeno	10.60	6559581	4.82
16	δ-Cadineno	10.87	2344325	1.45
17	Nerolidol	11.32	14022739	**9.81**
18	Óxido de cariofileno	11.68	1857624	1.27
19	.tau.-Cadinol	12.38	2260054	1.44

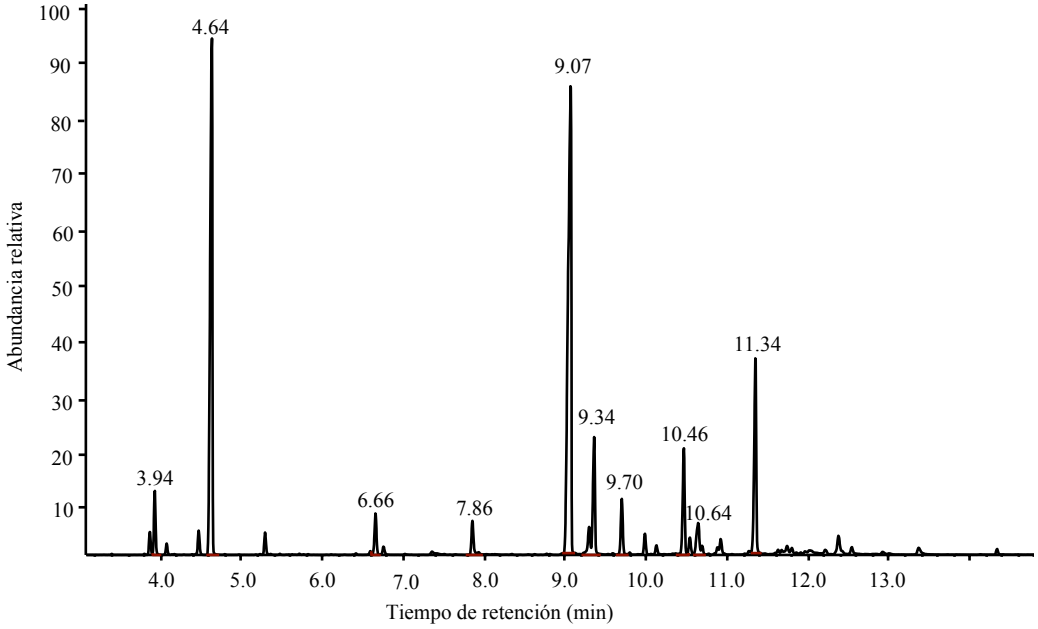


Figura 2.19 Cromatograma de los compuestos presentes en el aceite esencial de *T. lucida* de la población p13.

Cuadro 2.19 Composición química del aceite esencial de *T. lucida* de la población p13.

Pico	Compuesto	Tr	Área	Porcentaje
1	β-Pineno	3.87	713332	0.85
2	β-Mirceno	3.94	1962054	2.31
3	3-Hexeno-1-ol, acetato, (E)-	4.08	330578	0.38
4	(E)-Ocimeno	4.48	838063	0.98
5	β-Ocimeno	4.64	21566309	**24.91**
6	Linalool	5.30	755528	0.84
7	Estragol	6.66	1565386	1.80
8	Anetol	7.85	1457147	1.53
9	Acetato de geranilo	9.07	28002791	**31.72**
10	Metil eugenol	9.34	5665809	**6.27**
11	Cariofileno	9.70	2064130	2.55
12	(Z)-β-Farneseno	9.98	693535	0.88
13	α-Cariofileno	10.13	336023	0.41
14	Germacreno D	10.46	3870228	4.80
15	γ-Elemene	10.64	1985843	2.40
16	δ-Cadineno	10.92	949499	1.14
17	Nerolidol	11.34	7543183	**8.65**

P14 - Pilcaya

En la p14 se identificaron cinco compuestos mayoritarios: β-ocimeno (24.03 %; Tr: 4.63 min), acetato de geranilo (19.26 %; Tr: 9.02 min), nerolidol (12.52 %; Tr: 11.33 min), β-cubebene (7.32 %; 10.42 min) y cariofileno (6.73 %; Tr: 9.67 min) (Fig. 2.20, Cuadro 2.20).

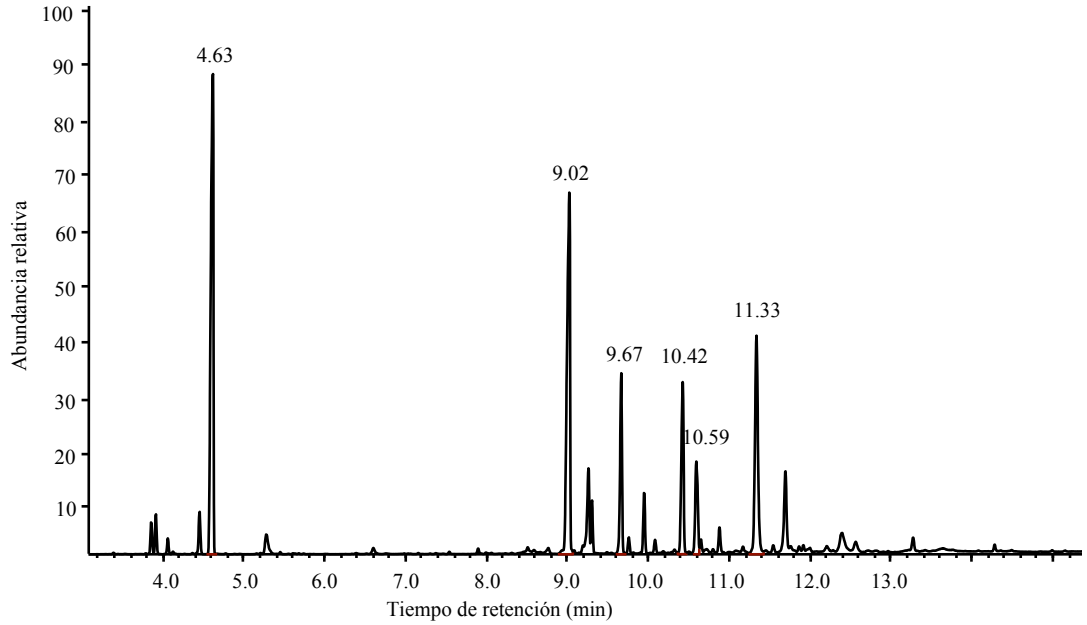


Figura 2.20 Cromatograma de los compuestos presentes en el aceite esencial de *T. lucida* de la población p14.

Cuadro 2.20 Composición química del aceite esencial de *T. lucida* de la población p14.

Pico	Compuesto	Tr	Área	Porcentaje
1	β-Pineno	3.86	2729778	1.10
2	β-Mirceno	3.92	3152417	1.29
3	3-Hexeno-1-ol, acetato, (Z)-	4.07	1285022	0.36
4	(E)-Ocimeno	4.46	3893436	1.48
5	β-Ocimeno	4.63	64047449	**24.03**
6	Linalool	5.28	3288115	0.95
7	Acetato de geranilo	9.02	55551981	**19.26**
8	Biciclo[3.1.1]hept-3-eno, 2-formilmetil-4,6,6-trimetil-	9.26	9969063	3.59
9	Metil eugenol	9.31	4206446	1.35
10	Cariofileno	9.67	17503312	**6.73**
11	Ylangene	9.76	1420175	0.48
12	1,6,10-Dodecatrieno, 7,11-dimetil-3-metileno-, (E)-	9.95	5420591	1.70
13	α- Cariofileno	10.08	1274671	0.52
14	β-Cubebeno	10.42	19595198	**7.32**
15	α-Farneseno	10.59	11837392	4.39
16	δ-Cadineno	10.88	2691517	0.97
17	Nerolidol	11.33	32710530	**12.52**
18	Óxido de cariofileno	11.69	10346908	2.64
19	.tau.-Cadinol	12.39	4684371	1.71

Cuadro 2.6 Composición química (%) del aceite esencial de las catorce poblaciones de *T. lucida* del Norte y Sur del Estado de México.

Compuesto	p1	p2	p3	p4	p5	p6	p7	p8	p9	p10	p11	p12	p13	p14
Biciclo[3.1.1]hept-2-eno, 3,6,6-trimetil-											0.18			
α-Pineno									0.09		0.83			
β-Pineno				0.82	0.59	1.42	0.65	2.88	2.05	0.55	1.39	0.65	0.85	1.10
β-Myrceno	3.27	2.14	4.84	**5.59**	**7.99**	3.08	2.16	1.07	**7.11**	4.79	2.25	**4.99**	2.31	1.29
3-Hexeno-1-ol, acetato, (E)-							0.88		0.90				0.38	
3-Hexeno-1-ol, acetato, (Z)-				1.04	1.01	0.66		0.51		0.29	1.36	1.03		0.36
(E)-Ocimeno				0.79	0.88	1.39	0.84	1.27	0.99			0.86	0.98	1.48
β-Ocimeno	**6.27**	3.21	**6.32**	**14.29**	**16.89**	**21.38**	**15.83**	**22.52**	**23.13**	**15.14**	**16.47**	**19.57**	**24.91**	**24.03**
Linalool	0.99	3.69	3.09	1.16	1.19	1.47	1.33	1.07	1.84	1.23	1.59	1.47	0.84	0.95
Acetato de geranilo		0.26	1.74	**33.11**	**25.92**	**27.53**	**20.52**	**12.87**	**29.20**	**40.83**	**25.46**	**23.84**	**31.72**	**19.26**
2-Metil-4-(2,6,6-trimetilciclohex-1-enil)but-2-en-1-ol								0.11						
Biciclo[3.1.1]hept-3-eno, 2-formilmetil-4,6,6-trimetil-														3.59
Biciclo[3.1.1]hept-2-eno, 3,6,6-trimetil-										0.88				
Biciclo[4.3.0]nonan-2-one, 8-isopropilidene-										0.55				
Ácido acetico, hexil éster							0.22				0.25			
Estragol	**9.38**	**46.92**	**7.46**										1.80	
Humulen-(v1)				2.14	2.37	2.04	2.55	3.19	1.45	1.57	2.16	2.47		
3-Metil-2-pent-2-enil-ciclopent-2-enone								0.62						
Metil eugenol	**56.89**	1.67	**64.59**	0.68	0.57	0.88	0.88		1.42		0.68	0.80	**6.27**	1.35
Anetol	**9.93**	**35.75**	4.48										1.53	
Isoeugenol metil eter	**8.93**	0.15	4.36											
Benzaldehido, 4-metoxi-		1.27												
cariofileno		0.35		**6.11**	**5.95**	**6.14**	**8.33**	**10.95**	4.67	**5.29**	**6.74**	**7.88**	2.55	**6.73**

Continua…

Cuadro 2.6 Composición química (%) del aceite esencial de las catorce poblaciones de *T. lucida* del Norte y Sur del Estado de México.

Compuesto	p1	p2	p3	p4	p5	p6	p7	p8	p9	p10	p11	p12	p13	p14
α- cariofileno					0.64	0.58	1.08	1.10		0.45	0.71	0.82	0.41	0.52
Óxido de cariofileno						1.27	2.76	2.74		1.68		1.27		2.64
Copaeno				0.27	0.38	0.29		0.24		0.21	0.29			
Ylangeno												0.40		0.48
γ-Elemene						4.20		4.25		3.97	4.93		2.40	
Cubenol				1.39			0.55	0.53						
1,6,10-Dodecatriene, 7,11-dimethyl-3-methylene-, (E)-				1.94	1.99	2.09			1.55	1.27		2.61		1.70
(Z)-β-Farneseno							2.49	2.66			2.54		0.88	
Nerolidol		0.79		**7.68**	**7.93**	**7.87**	**11.63**	**10.20**	**6.03**	**8.19**	**10.64**	**9.81**	**8.65**	**12.52**
Germacreno D		0.56			**8.16**		**7.62**	**7.78**					4.80	
1,4,7,-Cicloundecatriene, 1,5,9,9-tetrametil-, Z,Z,Z-				0.77										
β-Cubebeno	0.91		0.66	**6.99**		**7.40**	0.36	0.37	**5.71**	**5.17**	**6.13**	**5.68**		**7.32**
α- Farneseno														4.39
Elixeno	0.33	0.3		4.56	**5.32**		**5.14**		3.88			4.82		
Ciclohexano, 2-etenil-1,1-dimetil-3-metilene-						0.17								
Ciclohexeno, 1-metil-4-(5-metil-1-metileno-4-hexenil)-, (S)-					0.83	1.02	1.26	1.44			0.79			
δ-Cadineno				1.35	1.25	1.07	2.27	2.09	0.79	0.86	1.58	1.45	1.14	0.97
8-Acetil-5,5-dimetil-nona-2,3,8-trienoic acid, metil éster						0.19								
Acetato nerolidol						0.64	0.91							
tau.-Cadinol					1.37	1.30	2.01	1.83		1.19	1.58	1.44		1.71
(-)-Spathulenol				1.41	1.39						2.33			

p: población de pericón; Tr: Tiempo de retención.

2.6 DISCUSIÓN

El género *Tagetes* actualmente es reconocido como una fuente de aceites esenciales y componentes químicos biológicamente activos, con presencia de acetilenos, alcaloides, carotenoides, ácidos cítricos y málicos, flavonoides, terpenos, sesquiterpenos y tiofenos (Vasudevan *et al*., 1997; Faizi y Naz, 2002; Saleem *et al*., 2004; Faizi *et al*., 2008; Szarka *et al*., 2008). Los compuestos mayoritarios identificados en el aceite esencial de *T. lucida* de las catorce poblaciones del Estado de México corresponden al grupo químico de los monoterpenos, sesquiterpenos y fenilpropenos (Franz y Novak, 2010; Maffei, 2010; Huang *et al*., 2012; Polo *et al*., 2013; Lange y Ahkami, 2013). Algunos metabolitos secundarios que se encontraron en las catorce poblaciones ya se habían identificado como compuestos mayoritarios en materiales de *T. lucida* de procedencia geográfica distinta; en el estudio de Bicchi *et al*. (1997) reportan la presencia de estragol (33.9 %), anetol (23.8 %) y metil eugenol (56.89 %) como compuestos mayoritarios, mientras que Cicció (2004) y Regalado *et al*. (2011) consignan estragol (97.3 % y 96.8 %) como único compuesto mayoritario. Sin embargo, los compuestos β-ocimeno, β-cubebeno, β-myrceno, germacreno D, cariofileno y nerolidol que tuvieron una concentración alta en algunas poblaciones analizadas del presente trabajo (Cuadro 2.6) no se habian reportado como compuestos mayoritarios en estudios previos, pero sí su presencia como elementos traza (0.2 a 2.3 %) (Bicchi *et al*., 1997; Cicció, 2004; Céspedes *et al*., 2006; Regalado *et al*., 2011).

El acetato de geranilo (12.87 a 40.83 %) como compuesto mayoritario en casi todas las poblaciones de *T. lucida* no se había reportado para esta especie (Bicchi *et al*., 1997; Céspedes *et al*., 2006; Regalado *et al*., 2011; Cicció, 2004); inclusive, sobre esta

molécula no se había consignado su presencia en el género *Tagetes* (Tucker y Maciarello, 1996; De Feo *et al*., 1998; Marotti *et al*., 2004; Chamorro *et al*., 2008; Segovia *et al*., 2010; López *et al*., 2011; Faizi *et al*., 2011; Díaz y Serrato, 2011; Prakash *et al*., 2012; Díaz-Cedillo *et al*., 2013; Kyarimpa *et al*., 2014). Como compuesto mayoritario, el acetato de geranilo se ha identificado en especies como *Thymus zygis* subsp. *sylvestris* (20.8 %) (Goncalves *et al*., 2010), *Dracocephalum moldavica* L (24.93 %) (El-Baky y El Baroty, 2008), *Thymus villosus* subsp. *lusitanicus* (25 %) (Pinto *et al*., 2013), *Daucus carota* subsp. (37 %) (Valente *et al*., 2015) y *Thapsia minor* (82.3 %) (Goncalves *et al*., 2012) y como compuesto traza en otras especies (Belousov *et al*., 1995; Mahboubi y Bidgoli, 2009; Chang *et al*., 2011). En estos estudios donde el acetato de geranilo es un metabolito mayoritario del total de compuestos contenidos en el aceite esencial esta composición química tiene propiedades bacterianas, antifúngicas y citotóxicas contra levaduras, dermatofitos y cepas de *Aspergillus* y contra cepas de hongos *Aspergillus niger*, *Penicillium notatum, Mucora heimalis*, *Fusarium oxysporum*, *Cryptococcus neoformans* y Candida (El-Baky y El Baroty, 2008; Goncalves *et al*., 2010; Goncalves *et al*., 2012; Pinto *et al*., 2013; Valente *et al*., 2015).

El rendimiento de aceite esencial calculado en peso fresco varió entre 0.5 a 7 % difiriendo de los resultados de Ismail *et al*. (2013) quienes reportan un rendimiento mucho menor de 0.4 a 0.6 % en *T. lucida*; este rendimiento no está muy lejos de lo que se reporta para otras especies de *Tagetes* como *T. minuta* (0.7 %), *T. rupestris* (0.8 %) *T. terniflora* (0.7 %) y *T. filifolia* (0.2 % y 0.4 % a 1.6 %) (Muñoz *et al*., 2007; Gil et al., 2000; López *et al*., 2011). Cabe resaltar que los mayores rendimientos de aceite se dieron en poblaciones del Norte del Estado de México; sin embargo, el rendimiento se considera bajo al comparlo con otras especies de las cuales se extrae mayor cantidad de

aceite esencial, como el hinojo *Foeniculum vulgare* con rendimientos de 2.2 a 6.14 % (Moradi *et al*., 2011). En cuanto a los resultados de peso seco de las poblaciones de *T. lucida* se reporta en un rango de 0.01 a 0.05 % solo para las poblaciones del Sur del Estado de México, este intervalo constituye la primera referencia para esta especie en relación con el rendimiento estimado, de tanto que para *T. terniflora* se reporta de 1.18 a 4.11 %; lo obtenido en las poblaciones de *T. lucida* esta por arriba de ese rendimiento, diferencias claramente atribuibles a características morfológicas de la planta como la biomasa generada: *T. terniflora* tiene 1. 50 m de altura y *T. lucida* de hasta 2 m de altura. La variación en concentración, número de moléculas y rendimiento de aceite esencial de las catorce poblaciones de *T. lucida* y de otras, posiblemente se deba al origen geográfico de las plantas, a la existencia de quimiotipos o razas químicas resultantes de la adaptación al ambiente, a la fenología de la planta, a la heredabilidad, la temporada de colecta, a la parte de la planta utilizada y/o a la calidad del equipo para extracción o destilación utilizado (De Feo *et al.,* 1998; Perry *et al*., 1999; Marotti *et al*., 2004; González *et al*., 2011; Panwar *et al*., 2013). En relación con la heredabilidad se dispone de pocos estudios realizados en *Tagetes*, particularmente considerando características morfológicas entre las que destacan algunas como el diámetro de la flor, rendimiento, peso seco y fresco de la flor en *T. erecta* y *T. patula,* características de alta heredabilidad (Panwar *et al*., 2013; Anuja y Jahnavi, 2012); existen otros estudios que enfocan el esutdio de la heredabilidad para carcaterísticas químicas como el contenido de antioxidantes en la que se destaca un importante efecto del fenotipo mas que el del efecto ambiental (Singh *et al*., 2011). Para descartar si la variabilidad en la composición química de los aceites esenciales de las poblaciones de *T. lucida* distribuidadas en tres estratos ambientales diferentes se debe a factores genéticos o ambientales convendría

estudiar su heredabilidad, tanto para saber si las poblaciones corresponden a ecotipos como resultado de procesos adaptativos como para valorar el impacto de su posible mejoramiento genético.

En este sentido, se plantea que los grandes contrastes que hubo entre los compuestos identificados, principalmente en las moléculas estragol, anetol, cariofileno, acetato de geranilo y nerolidol se encuentran asociadas con factores ambientales como la elevación y el clima, ya que resulta evidente que las moléculas estragol y anetol se presentaron como compuestos mayoritarios en las poblaciones del Norte del Estado de México, a elevaciones de 2520 a 2660 msnm y a temperaturas y precipitaciones medias anuales de 10 a 17 ºC y de 7 a 175 mm, respectivamente, mientras que las moléculas acetato de geranilo, nerolidol y cariofileno fueron compuestos mayoritarios de poblaciones del Sur del Estado de México a elevaciones menores (1493 a 2208 mnm) y temperaturas altas (14º a 23 ºC) respecto a las primeras, con precipitaciones medias anuales de 1.6 a 250 mm. Además, el 68 % de los compuestos identificados no estuvieron presentes en poblaciones del Norte del Estado de México (Cuadro 2.6), lo que sugiere que estas variaciones podrían atribuirse a la influencia de factores como la ubicación geográfica, elevación y las propiedades del suelo (Figueiredo *et al*., 2008; Milka *et al*., 2012; Yazdanpanah *et al*., 2014; Bajalan y Pirbalouti, 2015; Hadipanah *et al*., 2015; Riahi *et a*l., 2015; Formisiano, *et al*., 2015; Djerrad *et al*., 2015; Carvajal *et al*., 2016; Méndez-Tovar *et al.,* 2016). Otros factores meteorológicos también influyen en la presencia de compuestos mayoritarios y en el rendimiento de aceite esencial, no sólo a nivel de especies diferentes sino también a nivel de diferentes quimiotipos dentro de la misma especie (Vaiciulyte y Loziene, 2015). Gil *et al*. (2000) señalan que los factores ambientales contribuyen a las diferencias en el rendimiento de aceite esencial. Asociado

con esto, la actividad biológica, la actividad antioxidante y otras propiedades de los aceites esenciales también se ven influenciadas por la procedencia geográfica y las condiciones de crecimiento de especies aromáticas, afectando significativamente la composición de los aceites esenciales y sus propiedades (Djerrad *et al.,* 2015; Vaiciulyte y Loziene, 2015).

La actividad biológica de algunos de los compuestos mayoritarios de las catorce poblaciones de *T. lucida* está documentada. Por ejemplo, el β-ocimeno tiene propiedades anti-inflamatorias, anti-bióticas, anti-oxidantes, induce resistencia a patógenos y juega un papel importante en la protección de plantas aromáticas contra insectos plaga (Koul *et al*., 2008; Adorjan y Buchbauer, 2010). El acetato de geranilo y el nerolidol tienen actividad tóxica contra larvas de *Aedes aegypti* (Muñoz *et al*., 2014). Los compuestos cariofileno y β-mirceno se les atribuye efecto insecticida contra larvas de mosquitos y efecto fungicida (Jaenson *et al*., 2006; Duke, 2009). El compuesto estragol presenta actividad biológica anti-fúngica contra *Trichophyton* sp. (Shin, 2004) y Candida (Shin and Pyun, 2004), también tiene efecto nematicida (Duke, 2009); el metil eugenol y anetol tienen actividad antimicrobiana y antifungica (Senatore *et al*., 2013; Koeduka *et al*., 2013). El germacreno D es un compuesto conocido por sus propiedades antimicrobianas e insecticidas (Røstelien *et al*., 2000).

Se sabe que tanto los extractos como el aceite esencial de *T. lucida* tienen propiedades antioxidantes, antimicrobianas, insecticidas y nematiciadas (Vasudevan *et al*., 1997;Omer *et al.,* 2015), por lo que estas propiedades no sólo se atribuyen a los compuestos mayoritarios sino a toda su composición química.

Los aceites esenciales contienen varias moléculas, algunas de ellas registran actividad biológica contra patógenos, tales como las mencionadas en este estudio; los aceites

esenciales podrían ser una alternativa al uso de productos químicos utilizados actualmente en la agricultura para el control de plagas y enfermedades, generando productos naturales como bioplaguicidas, bionematicias, bioinsecticidas y otros que podrían tener un menor impacto en la salud humana al ser biodegradables (Isman, 2000) toda vez que en México existan suficientes recursos naturales que se puedan manejar y aprovechar para mejorar prácticas y tecnologías agrícolas que no son sustentables.

En el estudio de las plantas aromáticas no solo se debe considerar la composición química de la planta, sino también su evaluación toxicológica, ya que ambos elementos se ven influenciados por factores ambientales (Méndez-Tovar *et al*., 2016) y deben ser tomados en cuenta.

2.7 CONCLUSIONES

En total se identificaron 9 a 23 compuestos presentes en las catorce poblaciones de *T. lucida* distribuidas al Norte y Sur del Estado de México de los cuales se encontraron tres compuestos mayoritarios en las poblaciones del Norte del Estado de México y ocho en las poblaciones del Sur del Estado de México. De los compuestos mayoritarios sobresalen los fenilpropenos estragol, anetol y metil eugenol para las tres primeras poblaciones que corresponden al Norte del Estado de México; β-ocimeno, cariofileno y nerolidol son monoterpenos correspondientes a las poblaciones del Sur del Estado de México; mientras que β-myrceno, β-ocimeno y linalool también monoterpenos, estuvieron presentes en las catorce poblaciones. El acetato de geranilo fue un compuesto monoterpeno presente como mayoritario exclusivamente en las poblaciones del Sur del

Estado de México y no ha sido reportado en el aceite esencial de *T. lucida* ni en ninguna otra especie del género *Tagetes*.

El rendimiento del aceite esencial varió entre las poblaciones de *T. lucida* ubicas en diferentes zonas del Estado de México.

CAPÍTULO III

EVALUACIÓN TOXICOLÓGICA DEL ACEITE ESENCIAL DE *T. lucida* EN LA FORMACIÓN DE AGALLAS POR *N. aberrans* EN JITOMATE

3.1 RESUMEN

La poca información sobre la actividad del aceite de *T. lucida* contra nematodos y la abundancia de esta especie en el Estado de México resultan condiciones favorables para derivar insumos vegetales inocuos que posibiliten enfrentar problemas de agallamiento de la raíz ocasionados por *N. aberrans* en la producción de jitomate. El objetivo fue evaluar el aceite esencial de la población Ixtapan de *T. lucida* del Estado de México en la formación de agallas por *N. aberrans* en plántulas de jitomate en invernadero. El aceite esencial se extrajo por hidrodestilación a nivel piloto con rendimiento en peso seco de 4.2 % mL 100 g^{-1}y se analizó por CG/EM identificando los componentes mayoritarios: acetato de geranilo (40.8 %), β-ocimeno (15.1 %), nerolidol (8.1 %), β-cubebeno (5.1 %) y cariofileno (5.2 %). Para determinar el efecto tóxico del aceite se inoculó *N. aberrans* en plántula de jitomate y se ensayaron concentraciones de aceite desde 0.01 hasta 10 mg mL^{-1}, en forma preventiva (tratamiento-inóculo) y de control (inóculo-tratamiento) en intervalos de aplicación de aceite de 1, 2 y 3 semanas. En el tratamiento preventivo se obtuvo mayor inhibición de agallas en la concentración de 10 mg mL^{-1} y en el tratamiento de control a las concentraciones de 3.5 a 10 mg mL^{-1}, en ambos experimentos no hubo efecto del intervalo de aplicación ($P \leq 0.05$), pero numéricamente aplicar más veces (el óptimo dos intervalos) disminuyó el agallamiento; la interacción concentración de 3.5 y 10 mg mL^{-1} de aceite y dos intervalos de aplicación produjo los mejores resultados (1.54 a 4.80), aunque hubo gradientes de daño por fitotoxicidad sin significancia estadística. En el experimento de control (inóculo-tratamiento) so obtuvo la CL_{50} de 0.06 mg mL^{-1} para los intervalos 1 y 2, y CL_{50}=0.13 mg mL^{-1} para el intervalo 3. En el experimento preventivo no se obtuvo CL_{50} confiable.

PALABRAS CLAVES: Actividad biológica, secuencia de aplicación, Intervalos de aplicación, Concentración de aceite, inhibición.

TOXICOLOGICAL EVALUATION OF *T. lucida* ESSENTIAL OIL ON GALL FORMATION BY *N. aberrans* IN TOMATO PLANTS

3.2 ABSTRACT

The little information about the activity of *T. lucida* oil against nematodes and the abundance of this species in the State of Mexico provide favorable conditions for deriving innocuous plant inputs to confront root galling problems produced by *N. aberrans* in tomato production. The aim was to evaluate essential oil from the Ixtapan de la Sal, State of Mexico population of *T. lucida* on the formation of galls by *N. aberrans* in tomato seedlings established in a greenhouse. The essential oil was extracted by hydrodistillation at pilot level with 4.2 % efficiency and was analyzed by GC/MS, identifying the major compounds as: geranyl acetate (40.8 %), β-ocimene (15.1 %), nerolidol (8.1 %), β-cubebene (5.1 %) and caryophyllene (5.2 %). To determine the toxic effect of the oil, *N. aberrans* was inoculated in tomato seedlings and oil concentrations from 0.01 to 10 mg mL^{-1} were assayed in preventative (treatment-inoculum) and control (inoculum-treatment) treatments at oil application intervals of 1, 2 and 3 weeks. The preventative treatment obtained greater gall inhibition at the concentration of 10 mg mL^{-1} and the control treatment at concentrations of 3.5 to 10 mg mL^{-1}; both experiments had not application interval effect ($P \leq 0.05$), but applying more times (the optimal two intervals) reduced galling; the interaction of the 3.5 and 10 mg mL^{-1} oil concentrations and two application intervals produce the best results (1.54 to 4.80), although there were damage gradients due to phytotoxicity without statistical significance. In the control experiment (inoculum-treatment), LC_{50} of 0.06 mg mL^{-1} was obtained for intervals 1 and 2, and LC_{50}=0.13 mg mL^{-1} for interval 3. In the preventative experiment a reliable LC_{50} was not obtained.

KEYWORDS: Biological activity, application sequence, application intervals, oil concentration, inhibition.

3.3 INTRODUCCIÓN

El jitomate es uno de los hospedantes más afectados por *Nacobbus aberrans* (Cid *et al*., 1995; Manzanilla-López *et al*., 2002) en el que se reportan pérdidas de rendimiento de 36 a 55 % en condiciones de invernadero (Manzanilla-López *et al*., 2002) y de 50 al 100 % en campo (Zamudio, 1987; Mendoza, 1999). El jitomate es una de las principales hortalizas que genera divisas para México y tan sólo en el año 2014 aportó a la economía del país más de $15 millones de pesos, ocupando el primer lugar entre los cultivos de exportación, con una superficie total sembrada de 53 mil ha, de las cuales, alrededor de 20 mil ha están destinadas para la agricultura protegida (12 mil ha de invernadero y 8 mil ha de malla sombra y macrotunel, entre otras estructuras) (SIAP, 2014). Dada la importancia económica de esta hortaliza, es necesario explorar alternativas de control para este nematodo, por ejemplo: el control biológico, la resistencia genética y/o el uso de sustancias vegetales, porque hasta ahora, el control químico es el método más empleado contra *N. aberrans,* el cual ha ocasionado el desarrollo de resistencia del nematodo y la eliminación de enemigos naturales (Gutiérrez *et al*., 2013). Además de que los nematicidas son costosos y poco accesibles para los pequeños productores, en las últimas décadas se ha reducido la disponibilidad de productos comerciales eficientes (Nyczepir y Thomas, 2009; Sorribas y Ornat, 2011). Esta situación ha motivado al uso de insumos biológicos por las ventajas en los ámbitos económico y del ecosistema (Guzmán *et al*., 2013).

El control biológico mediante el empleo de hongos ha sido una estrategia de relativo éxito para controlar a *N. aberrans*; por ejemplo, *Arthrobotrys* spp. tienen un control significativo de los juveniles de segundo estadío (J2), destruyéndolos completamente

(Mendoza-de Gives *et al.,* 1994). En el caso del género *Paecilomyces*, algunas especies se han evaluado en condiciones de invernadero, pero el control no ha sido satisfactorio (Gómez *et al*., 1987). Otros hongos, como *Pochonia chlamydosporia* son agentes potenciales en el control biológico de nematodos agalladores como *Meloidogyne* spp. (Flores *et al*., 2007).

El cultivo de variedades resistentes a nematodos puede jugar un papel muy importante en el control de nematodos agalladores, ya que por una parte inhiben considerablemente la reproducción del nematodo, y por otra, son tolerantes al mismo (Roberts y May, 1986; Verdejo-Lucas *et al*., 1994). Actualmente, un gran número de cultivares comerciales de jitomate tienen incorporado el gen *Mi* (*M. incognita*) que confiere resistencia a *M. incognita*, *M. arenaria* y *M. javanica* (Hadisoeganda y Sasser, 1982; Ammati *et al*., 1985; Roberts y Thomason, 1986), pero permiten cierta reproducción del nematodo (Sorribas y Verdejo-Lucas, 1999) y el uso continuo de plantas resistentes puede dar lugar a la aparición de nuevas razas de patógenos mucho más agresivos (Llácer *et al*., 1996). En México no existen materiales vegetales disponibles en el mercado con resistencia específica a *N. aberrans* (Hernández, 2001); además, los trabajos de investigación encaminados a la búsqueda de fuentes de resistencia no involucran la localización e incorporación de los genes que codifican para la síntesis de estructuras o compuestos químicos relacionados con mecanismos de defensa, básicamente se limitan a determinar si un hospedante es o no resistente al nematodo (Cabrera, 2014).

El empleo de sustancias vegetales (extractos acuosos y aceites esenciales) como herramientas de manejo de plagas y enfermedades está estrechamente alineado con principios de sostenibilidad de la producción agrícola. Estos productos poseen la ventaja de ser de amplio espectro debido a la presencia de varios principios activos, lo que les

permite ejercer su citoxicidad a través de diferentes modos de acción (Isman, 2000). Por ejemplo, esta propiedad citotóxica es de gran importancia en las aplicaciones de aceites esenciales contra una gran variedad de organismos incluyendo bacterias (Holley y Patel, 2005; Basile *et al*., 2006; Schelz *et al*., 2006; Kurtulmus *et al*., 2009), hongos (Hammer *et al*., 2002; Velluti *et al*., 2003, 2004; Serrano *et al*., 2005; Calvaleiro *et al*., 2006; Pawar y Thaker, 2006; Soylu *et al*., 2006), protozoarios (Monzote *et al*., 2006), parásitos (Moon *et al*., 2006; Priestley *et al*., 2006), larvas (Hierro *et al*., 2004; Pavela, 2005; Morais *et al*., 2006), lombrices, insectos (Lamiri *et al*., 2001; Sim *et al*., 2006; Park *et al*., 2006; Chaiyasit *et al*., 2006; Cheng *et al*., 2007) y nematodos (Piedra *et al*., 2008; Andrés *et al*., 2012; Ntalli y Caboni, 2012; Murga-Gutiérrez *et al*., 2012).

Específicamente, algunos trabajos destacan por los resultados encontrados mediante la aplicación de sustancias vegetales contra nematodos. En el caso de extractos acuosos, Reina *et al*. (2002) en evaluaciones *in vitro* del extracto acuoso de hojas de *Calotropis procera* (2, 4, 8, 16, 32 y 64 %) contra juveniles de segundo estadio de *M. incognita*, *M. exigua* y *Tylenchus semipenetrans*, y también contra hembras jóvenes de *Rotylenchulus reniformis*, encuentran que la mortalidad de los nematodos se incrementa con el aumento de la concentración del extracto y el tiempo de exposición; estos autores registran, a nivel de CL_{50}, mortalidades máximas de 33 a 68 % en tiempos de exposición de 39 a 69 h. En otras evaluaciones *in vitro* con extractos acuosos obtenidos de hojas, inflorescencias, espigas, bulbos, semillas y frutos de varias especies aplicados en concentraciones de 2, 4, 8, 16, 32, 64 y 100 % contra J2 *M. incognita* (20 J2 por tratamiento), consignan que durante intervalos de observación de 3, 6, 9, 12, 24, 48 y 72 h, los extractos de fruto verde de *Ricinus communis*, y de tejidos de *Schoenocaulon officinale* en concentraciones de 32 a 100 % inducen 98 a 100 % de mortalidad, entre 48

y 72 h (Vinueza *et al*., 2006).

En cuanto a experiencias sobre evaluación de aceites esenciales contra nematodos, de Vuelta-Lorenzo y Font-Rodríguez (2007) realizando ensayos con aceite de neem (50 g m^2 y de 100 g m^2) contra nematodos presentes en plantas de jitomate con un nivel de infestación de 5 a 45 días del trasplante, logran reducir el grado de infestación a 3 ó 4. En otro estudio, el aceite de *Chrysantemum coronarium* (a 2, 4, 8 y 16 µl/ml) redujo significativamente la eclosión de los huevos, la supervivencia de J2 y la tasa de reproducción de *M. artiella.* (Pérez *et al*., 2003). Andrés *et al*. (2012) también reportan que el aceite esencial de *Mentha arvensis* indujo 100 % de mortalidad de J2 de *M. javanica* a 1 mg mL^{-1} después de 12, 48 y 72 h de exposición obteniendo una CL_{50} de 0.291 mg mL^{-1} (0.284-0.298 mg.mL^{-1}) y una CL_{90} de 0.409 mg mL^{-1} (0.396-0.425 mg mL^{-1}).

Los aceites esenciales de plantas y sus componentes tienen un gran potencial en el control de nematodos, ya que pueden ser desarrollados para su uso como nematicidas o pueden servir como compuestos modelo para el desarrollo de derivados con actividad mejorada (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 más conocidas por la presencia de aceites esenciales son: Lamiaceae, Asteraceae, Rutaceae, Libiateae, Umbeliferae, Myrtaceae, Turaceae, Lauraceae y Poaceae (Ándres *et al*., 2012; Ringuelet, 2013), pero Asteraceae es la más estudiada y reconocida como fuente promisoria de compuestos con propiedades plaguicidas (Schmutterer y Hellpap, 1988; Serrato y Quijano, 1993; 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* (tribu y subtribu: Tageteae) por su potencial alelopático contra los nematodos parásitos de plantas, documentado desde hace más de 50 años (Steiner, 1941); Tayler (1938) informa que 29 especies de *Tagetes* no son atacadas por nematodos agalladores de *Meloidogyne* spp. Esta información corresponde a las propiedades químicas de las excreciones de la raíz contra la incidencia de poblaciones de nematodos en el suelo; especialmente, la síntesis de tertienilos-tiofenos son las responsables de los efectos biológicos. Una implicación práctica de este fenómeno de alelopatía es el empleo de cultivos intercalados, imbricados, asociados o en rotación para protección de cultivos de importancia económica contra nematodos, la mayoría de veces como parte de sistemas de producción agrícola tradicionales. Un concepto relativamente novedoso, es el posible aprovechamiento de los aceites esenciales de *Tagetes* contra nematodos, como insumo aplicable. Al respecto, se tienen varias referencias del efecto del aceite esencial de *Tagetes* en nematodos, como el de Adekunle *et al*. (2007) quienes reportan al aceite esencial de *Tagetes minuta* como un potencial producto botánico para el control de huevos y juveniles de *Meloidogyne incognita*. Macedo *et al*. (2013), reportan que *Tagetes erecta* tiene efecto tóxico contra poblaciones de huevos de nematodos de *Haemonchus contortus*.

En particular, *T. lucida* o pericón es una especie que se encuentra ampliamente distribuida en México, principalmente en terrenos agrícolas en elevaciones de 800 a 2,700 msnm (Villareal, 2003). El pericón se puede utilizar como insecticida de larvas *Aedes aegypti* L. (Vera *et al*., 2014), coleópteros como *Sitophilus zemais* (Nerio *et al*., 2009) y adultos de *Tribolium castaneum* (Olivero-Verbel *et al*., 2013); también posee efecto contra agentes bacterianos causantes de infecciones respiratorias (Caceres *et al*.,

1991) y gastrointestinales (Céspedes *et al*., 2006); contra ácaros como la araña roja (*Tetranychus urticae*) (Camarillo *et al*., 2008) y contra nematodos (Siddiqui y Alam, 1988; Omer *et al*., 2015). Estas últimas dos referencia son las únicas de las que se disponen y son exploradas con poblaciones de *Meloidogyne incognita, Rotylenchulus reniformis, Tylenchorhynchus brassicae, Hoploimus indicus, Helicotylenchus indicus y Tylenchus filiformis* y en Juveniles (J_2) y huevos de *M. incognita*, respectivamente.

La composición química del aceite esencial de *T. lucida* se registra desde 1938, el estragol, también conocido como alilanisol o como metil cavicol, es el compuesto primeramente referido en el aceite de *T. lucida* (Anonymous 1938; citado por Visbal *et al*., 2010). Este mismo componente lo han identificado diferentes autores, entre ellos Bicchi *et al.* (1997) en el aceite de plantas de Guatemala, con presencia de estragol (33.9 %), anetol (23.8 %) y metil eugenol (24.3 %); Regalado *et al*. (2011) identifican la presencia de estragol (96.8 %) como único en el aceite de hojas de *T. lucida* colectadas en Cuba y Cicció (2004), en material de Costa Rica, encuentra estragol (97.3 %) en el aceite extraído de la parte aérea de la planta. En el Capítulo II del presente trabajo en el que se analizaron por su composición química los aceites de diversas poblaciones de *T. lucida* del Norte-Sur del Estado de México, se reconoció que mientras una población contiene estragol como componente mayoritario (46.92 %), este compuesto no se encuentra presente en otras poblaciones, en las que el compuesto mayoritario ahora es el metil eugenol (56.89 a 64.59 %); en otras poblaciones, los compuestos mayoritarios son el acetato de geranilo (12 a 40.83 %) y el β-Ocimene (14 a 24.91 %). En poblaciones de clima templado, como la de Atlacomulco, la composición de moléculas corresponde al grupo de fenilpropenos, pero poblaciones de clima semicalido como la de Villa Guerrero, las moléculas son del grupo de monoterpenos (Capítulo II). Al parecer, la

variabilidad de compuestos en el aceite del pericón de la zona Norte-Sur del Estado de México está asociada con la procedencia geográfica (temperatura) de las poblaciones que se han estudiado (Marotti *et al*., 2004; Cicció, 2004; Regalado *et al*., 2011; Capítulo II). La variabilidad de compuestos en el aceite esencial de poblaciones de una especie y su asociación con efectos biológicos no es un tema lo suficientemente estudiado, aspecto importante de cuidar si se desea llevar a un nivel práctico el uso de este recurso natural para controlar plagas-enfermedades dentro de una estrategia de manejo integrado.

En el Estado de México las poblaciones vegetales de *T. lucida*, también conocida como pericón, están presentes en 22 municipios (Discover Life, 2014); aunque la mayoría de las veces estas poblaciones se encuentran en forma dispersa, hay localidades como Coatepec Harinas donde las poblaciones son abundantes y hasta ahora el aprovechamiento de este recurso natural se limita a un uso tradicional. Considerando que hasta antes del presente trabajo no se disponía de antecedentes sobre la actividad del aceite de *T. lucida* contra nematodos y que la abundancia de este tipo de plantas es una fortaleza para derivar insumos vegetales inocuos para enfrentar problemas ocasionados por *N. aberrans* en el agallamiento y muerte de plantas de jitomate, se planteó el objetivo de evaluar la actividad tóxica del aceite esencial de una población de *T. lucida* del Estado de México, en la formación de agallas por *N. aberrans* en invernadero con la finalidad de valorar si este recurso local, en dosis específica, por un lado afecte el proceso de agallamiento del nematodo y no sea fitotóxico al jitomate, además de precisar la secuencia en la que este insumo vegetal se debe aplicar, aspecto metodológico poco precisado en evaluaciones toxicológicas de este tipo.

3.4 MATERIALES Y MÉTODOS

3.4.1 Material vegetal

Tagetes lucida **Cav.** En la colonia La Joya 3 de Mayo Linda Vista del municipio Ixtapan de la Sal, Estado de México, se recolectaron tallos florales de plantas situadas en las coordenadas UTM 2081659 N y 427455 E (18º 49'31'' N y 99º 41' 18'') a una elevación de 1853 msnm y clima Cw_1(w)i'g (Clima templado subhúmedo, el normal de los subhúmedos, con régimen de lluvias en verano, poco oscilante y con marcha anual de la temperatura tipo ganges) (Figura 3.1). La fecha de corte fue el 11 de octubre de 2014.

Para la extracción de aceite esencial se recolectaron 50 kilogramos de tallos en floración de 90 cm de altura. El traslado del punto de colecta de la planta al área de trabajo (Bodega de la Fundación Salvador Sánchez Colín, CICTAMEX, S. C. Coatepec de Harinas, Estado de México) para la destilación del aceite esencial a nivel piloto se realizó el mismo día.

Durante la colecta del material vegetal también se cosecharon semillas para ingresarlas al Banco Nacional de Germoplasma Vegetal de la Universidad Autónoma Chapingo, Departamento de Fitotecnia, Chapingo, Estado de México (número de accesión con la que se ingresó el material: JZE-Tateges-001; JZE-Tagetes-002; JZE-Tateges-003; JZE-Tateges-004 y JZE-Tateges-005).

Jitomate (*Solanum lycopersicum* L.). Para los ensayos correspondientes se utilizó la variedad Río Grande de la marca Edena ® con 99 % de pureza y 90 % de germinación; esta variedad es susceptible a nematodos; en charolas de unicel de 200 cavidades, cada cavidad de 2.5 x 2.5 cm y profundidad de 6.5 cm, se sembró utilizando como sustrato peat moss; por cavidad se sembró una semilla el 7 de mayo de 2015 y 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, Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo (Figura 3.2).

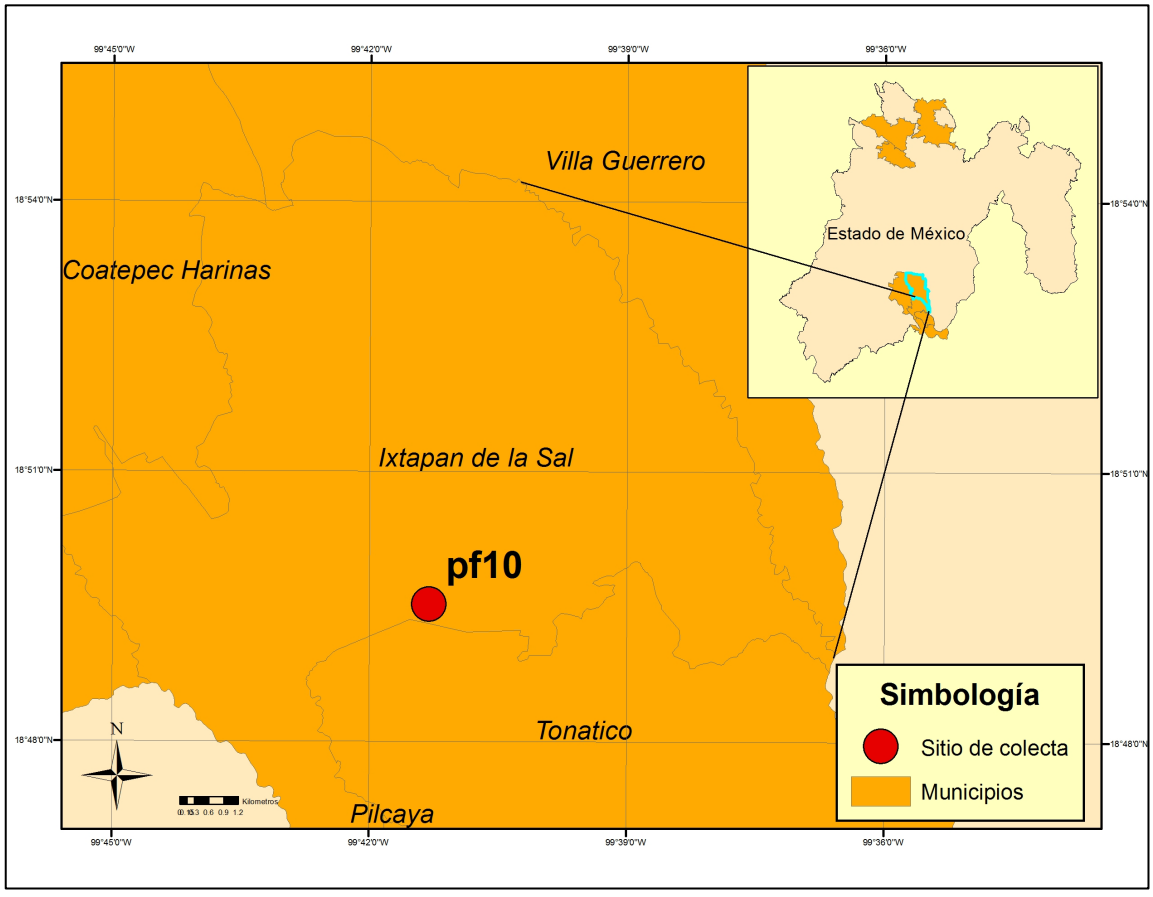


Figura 3.1 Localización geográfica del sitio de colecta de *T. lucida*.
Fuente: Elaboración propia.



Figura 3.2. **A)** Germinación y emergencia de jitomate en charolas de unicel; **B)** Trasplante del jitomate en macetas de 1 L.

3.4.2 Inóculo del nematodo

De plantas de jitomate en invernaderos de la unidad de producción Tlapeaxco, Departamento de Irrigación de la Universidad Autónoma Chapingo se seleccionaron las infestadas por *Nacobbus aberrans*, para extracción de agallas de las cuales se obtuvo inóculo mediante el procedimiento siguiente.

Las raíces se lavaron con agua corriente para eliminar los restos de sustrato (tezontle), se cortaron a 3 cm aproximadamente, se introdujeron a la licuadora con un poco de agua corriente para licuar a cinco pulsaciones; la mezcla resultante se filtró en tamices con malla de 40, 60, 100, 200, 325 y 400 μ sucesivamente, siendo el último tamiz el que retuvo los huevecillos del nematodo. El mismo proceso se realizó con el sustrato de las raíces. Este proceso se llevó a cabo en el Laboratorio de Fitonematología en el Departamento de Parasitología de la Universidad Autónoma Chapingo.

Una vez que se obtuvo la muestra del inóculo, se centrifugó en el Laboratorio de Biología Molecular del Departamento de Parasitología de la Universidad Autónoma Chapingo, se prepararon 23 tubos de un volumen de 50 mL^{-1} de capacidad con la

muestra del inóculo los cuales se llevaron a centrifugación, para ello, a cada tubo se les agregó 1 g de Caolín en polvo, se agitó cada tubo y se colectaron en una centrifuga SOLBAT C-40 con rotor oscilante de cuatro plazas durante 5 min a 3500 rpm. Posteriormente se desechó el líquido de los tubos, conservando únicamente la pasta sólida, y luego se le agregó una solución azucarada y se volvió a centrifugar a 3, 500 rpm durante 3 min. (Castaño, 1998), con modificaciones realizadas por Carrillo (Comunicación personal, mayo de 2015, M. C. Calixto Carrillo Fuentes, Departamento de Parasitología Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo).

La muestra final pasó por un tamiz de 400 μ, que se colectó en un frasco de vidrio; con esta muestra se inició el conteo de huevecillos de nematodos de *N. aberrans* y se corroboró la especie del mismo, para ello se utilizó un microscopio Olympus modelo CX31RBSA. El número de conteos fue de tres y se generó la referencia promedio de 3, 922 huevos de nematodos en 1 mL de muestra; la muestra total tuvo un volumen de 500 mL y contenido de 1, 961, 000 huevos del nematodo.

Con este volumen se hicieron las inoculaciones correspondientes a las plantas de jitomate en maceta de la manera siguiente. Una jeringa de 10 mL se utilizó para inyectar el inóculo directo al cepellón de la plántula, utilizando 1 mL del inóculo y 9 mL de agua corriente, aplicando 10 mL Kg^{-1} de sustrato (Figura 3.3). El inóculo se aplicó 4 días después del trasplante (escenario preventivo) y también se aplicó 5 días (escenario de control, 24 h después de la aplicación de aceite esencial de *T. lucida*) después.



Figura 3.3 **A)** Raíz de *S. lycopersicum* infestada con *N. aberrans*. **B)** Inoculación de *N. aberrans* a plantas de jitomate.

3.4.3 Extracción del aceite esencial

La extracción de aceite se hizo a nivel piloto colectando 50 kg de planta, masa vegetal que se cortó en trozos de 2 cm aproximadamente mediante una picadora de material vegetal; el material picado se llevó a un destilador de acero inoxidable con capacidad de 60 kg (Figura 3.4).

El destilador constó de una olla en cuyo fondo tenía una coladera de acero inoxidable para dividir la parte basal de la olla (que contiene 60 L de agua) y en la parte superior dos puertas para recibir la descarga de la masa de tejido vegetal.

En la parte basal externa de la olla se aplicó calor mediante un quemador conectado a un cilindro de gas LP de 20 kg, de tal manera que el vapor que se fue generando durante el calentamiento del agua pudiera difundirse y generar la presión de vapor necesaria para arrastrar las esencias contenidas en el tejido verde.

Otra parte del destilador es la tapa o chimenea por donde sale el vapor; esta pieza se une a un cilindro de doble fondo mediante tornillos. El cilindro de doble fondo es un condensador de vapor; al salir el vapor de la chimenea entra a un tubo de diámetro corto que tiene forma de serpentín que recorre el interior del cilindro de doble fondo; la parte

externa del serpentín es una cámara donde circula el agua para generar un frente frío, de tal manera que el cilindro condensador tiene una entrada de agua fría y un tubo de salida que saca el agua tibia a un tanque de almacenamiento, mismo de donde se bombea el agua al condensador. La condensación ocurre en el tubo de serpentín, de cuyo extremo de salida salen las gotas de extractos: aceitoso y acuoso. A partir de las primeras gotas que precipitaron o que salieron del 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.

Posteriormente se separó el aceite esencial del residuo acuoso para almacenarlos en frascos ámbar.

3.4.4 Análisis cromatográfico de los aceites esenciales

La identificación de los componentes de las catorce poblaciones de *T. lucida* se hizo por cromatografía de gases con detector de masas (Adams, 2001), 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 se obtuvieron a partir del porcentaje de área de los picos cromatográficos. 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. Para calcular los índices de Kovats se usaron como referencias los compuestos *n*-Alcanos, *n*-octano (C_8 H_{18}) y *n*-octadecano (C_{18} H_{38}). Cuarenta y siete 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, 2001).

3.4.5 Preparación y aplicación de las concentraciones del aceite esencial

A partir del aceite esencial se elaboraron concentraciones desde 0.001 % a 1 (0.01 a 10 mg mL^{-1}) por medio de diluciones subsecuente (Cuadro 3.1), como lo sugiere González (2014). Para facilitar las diluciones del aceite en agua se añadió Tween ® 20 al 0.1 %, agitándolo fuertemente de manera manual y generando así una emulsión. En el caso del testigo, que correspondió al de 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 $plántula^{-1}$.

Cuadro 3.1 Diluciones porcentuales de aceite esencial (Tratamientos) de *T. lucida* para su aplicación en plántulas de jitomate.

Tratamiento	Concentración (%)	($mg.mL^{-1}$)	Cantidad aplicada
1	1	10	50 ml
2	0.35	3.5	
3	0.1	1	
4	0.035	0.35	
5	0.01	0.1	
6	0.0035	0.035	
7	0.001	0.01	
Testigo	---	---	



Figura 3.4 **A)** Pesado de *T. lucida*; **B)** Molido del material vegetal; **C)** Destilador donde se llevó a cabo la destilación del ensayo piloto; **D)** Rendimiento del aceite esencial. La destilación piloto se llevó a cabo en la bodega de la Fundación Sánchez Colín, Coatepec de Harinas, Estado de México.

3.4.6 Diseño experimental

La aplicación de los tratamientos se realizó en dos escenarios: preventivo (tratamiento-inóculo) y de control (inóculo-tratamiento). Para el primero, las concentraciones se aplicaron a 96 h antes de la inoculación y para el segundo a 96 h después de la inoculación. En cada uno de estos escenarios, que en realidad correspondieron a dos experimentos, se implementaron tres diferentes intervalos de aplicación, a una, dos y tres semanas (Cuadro 3.2, Figura 3.5). Para cada intervalo de aplicación los tratamientos de aceite esencial y el testigo fueron los mismos. En resumen, se trata de dos experimentos (secuencia de aplicación) con los mismos tratamientos (intervalo y concentraciones), en donde los factores de estudio fueron tres: secuencia de aplicación, intervalo de aplicación y concentraciones, en los niveles de dos, tres y siete respectivamente. Para el establecimiento de los tratamientos se siguió el diseño de parcelas divididas en donde: parcela grande correspondió a los intervalos y parcela chica a las concentraciones (Cuadro 3.3).

El Testigo (agua destilada con Tween ® 20), siete tratamientos y cinco repeticiones con una unidad experimental correspondiente a una maceta.

Cuadro 3.3 Distribución de los tratamientos de aplicación porcentual de aceite esencial de *T. lucida* en jitomate (*S. lycopersicum*) establecidos bajo condiciones de invernadero e infestación *ex situ* de *N. aberrans*.

	Experimento 1 (tratamiento-inóculo)						**Experimento 2 (inóculo-tratamiento)**				
	Fuente 1						**Fuente 1**				
	R1	**R2**	**R3**	**R4**	**R5**		**R1**	**R2**	**R3**	**R4**	**R5**
	1	4	7	2	5		7	2	5	T4	3
	2	5	T1	3	6		T4	3	6	1	4
Intervalo 1	3	6	1	4	7	Intervalo 1	1	4	7	2	5
	4	7	2	5	T1		2	5	T4	3	6
	5	T1	3	6	1		3	6	1	4	7
	6	1	4	7	2		4	7	2	5	T4
	7	2	5	T1	3		5	T4	3	6	1
	T1	3	6	1	4		6	1	4	7	2
	2	5	T2	3	6		T5	3	6	1	4
	3	6	1	4	7		1	4	7	2	5
Intervalo 2	4	7	2	5	T2	Intervalo 2	2	5	T5	3	6
	5	T2	3	6	1		3	6	1	4	7
	6	1	4	7	2		4	7	2	5	T5
	7	2	5	T2	3		5	T5	3	6	1
	T2	3	6	1	4		6	1	4	7	2
	1	4	7	2	5		7	2	5	T5	3
	3	6	1	4	7		1	4	7	2	5
	4	7	2	5	T3		2	5	T6	3	6
Intervalo 3	5	T3	3	6	1	Intervalo 3	3	6	1	4	7
	6	1	4	7	2		4	7	2	5	T6
	7	2	5	T3	3		5	T6	3	6	1
	T3	3	6	1	4		6	1	4	7	2
	1	4	7	2	5		7	2	5	T6	3
	2	5	T3	3	6		T6	3	6	1	4

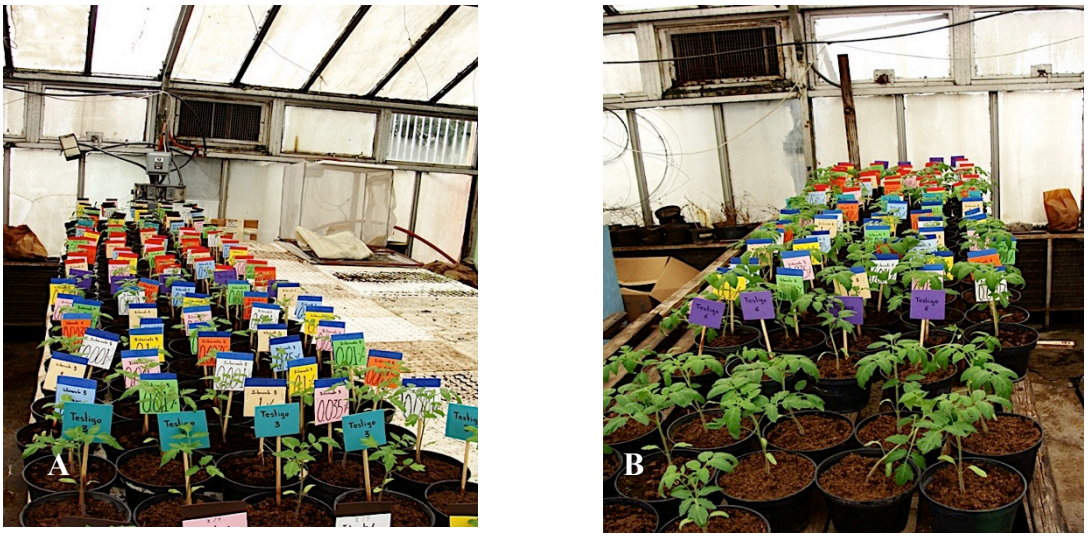


Figura 3.5 **A)** Distribución del tratamiento preventivo. **B)** Distribución del tratamiento de control.

Cuadro 3.2 Cronograma de aplicación de tratamientos en la unidad experimental

Experimento	Fecha	Registro de Actividad	Intervalo
1	7 de Junio	Aplicación de tratamientos	1, 2 y 3
	8 de junio	Aplicación de inóculo	1, 2 y 3
	14 de junio	Aplicación de tratamientos	2 y 3
	21 de junio	Aplicación de tratamientos	3
2	7 de junio	Aplicación de inóculo	1, 2 y 3
	13 de junio	Aplicación de tratamientos	1, 2 y 3
	20 de junio	Aplicación de tratamientos	2 y 3
	27 de junio	Aplicación de tratamientos	3

3.4.7 Manejo de plantas y registro de variables

Una vez establecidos los experimentos, el manejo del riego mediante agua corriente en volumen de 300 mL para cada maceta se aplicó siguiendo el criterio de que tanto el sustrato como la planta no mostraran un aspecto inconveniente (sequedad del suelo o marchitamiento de la planta) por lo que en todo tiempo el bioensayo se mantuvo en observación.

A los 56 días posteriores al trasplante, o bien, a 52 días de la aplicación de tratamientos, se tomaron muestras no destructivas de la planta completa para registrar las variables siguientes: altura de la planta AP (se midió con un metro a partir del cuello de la planta a la punta de la última hoja), número de hojas NH (se contaron visualmente, únicamente las hojas primordiales), diámetro del cuello de la planta DCP (se utilizó un calibrador vernier tipo CM con dos escalas), longitud de la raíz LR (se midió con un metro a partir del cuello de la planta), número de agallas NA (la raíz se sumergió en agua para retirar el sustrato y posteriormente se colocó sobre una hoja blanca para facilitar el conteo visual de las agallas), peso fresco de la raíz PR (se utilizó una báscula digital modelo Scout Pro SP401, con capacidad máxima de 400 g) y finalmente el volumen de la raíz VR (se determinó sumergiendo la raíz en una probeta graduada de 100 mL con 30 mL de agua, donde se restó el volumen inicial de agua menos el volumen final).

Para establecer el registro de fitotoxicidad se elaboró una escala de vigorosidad visual de la planta de 0 a 5, donde 0= planta muerta; 1= planta con daños en las hojas (necrosis) del 50 al 75 % de las hojas y pudrición aparente; 2= Planta con daños regulares, del 25 al 50 % de las hojas están amarillas y muestra pudrición aparente; 3= plantas con hojas amarillas en las puntas de las hojas; 4= plantas sanas, pero con bajo crecimiento; 5= Plantas sanas (Figura 3.6). Estos datos, junto con el Análisis de Varianza que se realizó para cada una de las variables mencionadas anteriormente, arrojaron el porcentaje de fitotoxicidad que se presentó en cada uno de los experimentos.



Figura 3.6 Escala de vigorosidad visual
0= planta muerta
1=planta con daños en las hojas (necrosis) del 50 al 75 % de las hojas y pudrición aparente
2= planta con daños regulares del 25 al 50 %
3= planta con hojas amarillas de las puntas
4=plantas sanas, pero con bajo crecimiento
5= plantas sanas

3.4.8 Análisis estadístico

Los valores de las variables se analizaron mediante un análisis de varianza, en este caso como un análisis factorial 3 (intervalos) x 7 (concentraciones). Todos los análisis se realizaron mediante el paquete software SAS versión 9.0 (SAS Institute, 1999). Los efectos de los tratamientos en la mortalidad de *N. aberrans* se analizaron mediante la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$). Asimismo, los datos obtenidos en cada uno de los intervalos de aplicación se analizaron mediante el análisis Probit (SAS Institute, 1999) para determinar las líneas de respuesta log dosis-probit, y con ello los valores de la Concentración Letal Media (CL_{50}).

3.5 RESULTADOS

3.5.1 Composición química del aceite esencial de *T. lucida*

En el aceite esencial de la población Ixtapan (p10) de *T. lucida* se identificaron diecinueve compuestos, seis de ellos mayoritarios y el resto como compuestos traza.

Entre los compuestos mayoritarios se encontraron: Acetato de geranilo (40.83 %; Tr: 9.07 min), β-Ocimeno (15.14 %; Tr: 4.62 min), Nerolidol (8.19 %; Tr: 11.36 min), Cariofileno (9.68 %; Tr: 5.29 min), β-Cubebeno (5.17 %; Tr: 10.44 min) y β-Mirceno (4.79 %; Tr: 3.93 min). (Figura 3.7, Cuadro 3.4).

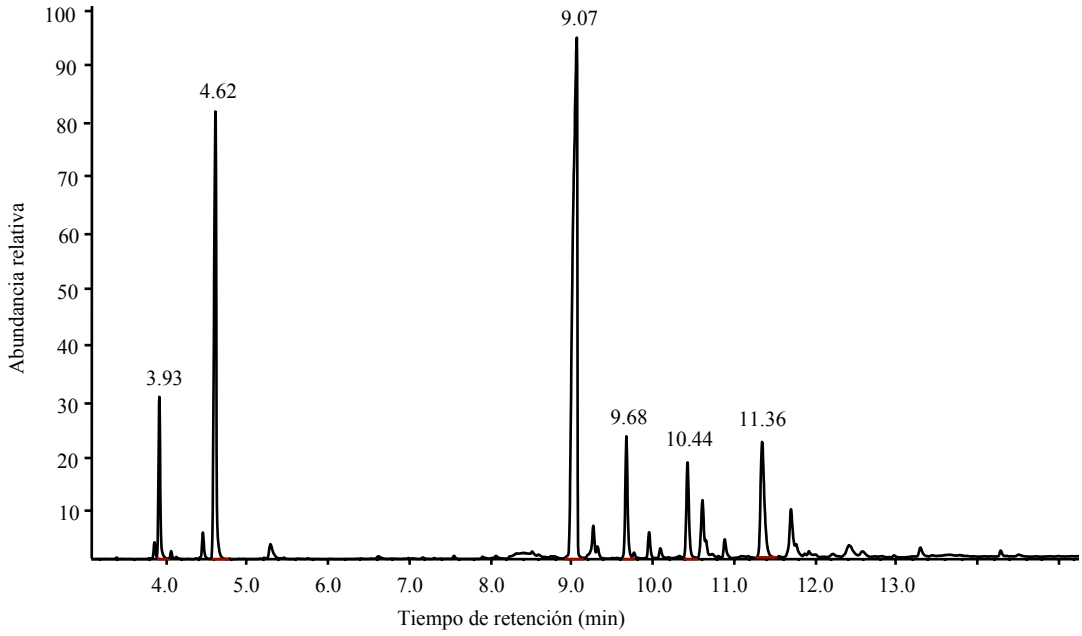


Figura 3.7 Cromatograma de los componentes del aceite esencial de la población Ixtapan (p10) de *T. lucida*.

Cuadro 3.4 Composición química del aceite esencial de la población Ixtapan (p10) de *T. lucida.*

Pico	Compuesto	Tr	Área	Porcentaje
1	β-Pineno	3.87	1225630	0.55
2	β-Mirceno	3.93	11923332	**4.79**
3	3-Hexeno-1-ol, acetato, (Z)-	4.07	556487	0.29
4	Biciclo[3.1.1]hept-2-eno, 3,6,6-trimetil-	4.47	2270961	0.88
5	β-Ocimeno	4.62	41693860	**15.14**
6	Linalool	5.30	2222315	1.23
7	Acetato de geranilo	9.07	92446673	**40.83**
8	Humuleno-(v1)	9.28	3692376	1.57
9	Biciclo[4.3.0]nonan-2-eno, 8-isopropylideno-	9.33	1165226	0.55
10	Cariofileno	9.68	11650343	**5.29**
11	Copaeno	9.78	473212	0.21
12	1,6,10-Dodecatrieno, 7,11-dimetil-3-metileno-, (E)-	9.97	2449168	1.27
13	α-Cariofileno	10.10	1011519	0.45
14	β-Cubebeno	10.44	10046965	**5.17**
15	γ-Elemeno	10.62	6598214	3.97
16	δ-Cadineno	10.89	2055984	0.86
17	Nerolidol	11.36	18323420	**8.19**
18	Óxido de cariofileno	11.71	6250778	1.68
19	tau-Cadinol	12.43	2935784	1.19

3.5.2 Efecto en el agallamiento

En el experimento 1 (tratamiento-inóculo) el agallamiento observado en las concentraciones de aceite de 0.01 a 3.5 mg mL^{-1} fue el mismo que el obtenido en el testigo, pero en la concentración de 10 mg mL^{-1} se muestra una significativa reducción en el agallamiento con respecto al testigo.

En cuanto al factor intervalo se observó que el agallamiento fue el mismo en cualquiera de los tres intervalos, sin embargo, numéricamente hubo disminución en el agallamiento a medida que el número de aplicaciones fue mayor.

En cuanto al efecto de interacción se encontró que con la aplicación de 10 mg mL^{-1} de aceite se tuvieron los mejores resultados (Cuadro 3.5).

En el experimento 2 (inóculo-tratamiento) se notó que el agallamiento en todas las concentraciones de aceite (0.01 a 10 mg mL^{-1}) tuvo una reducción significativa a lo obtenido en el testigo y que a partir de las concentraciones de aceite de 3.5 a 10 mg mL^{-1} el agallamiento disminuyó significativamente con respecto a las concentraciones de aceite de 0.01 a 1 mg mL^{-1}, por lo que, fue notorio que a mayor concentración de aceite menor efecto de agallamiento.

El efecto de los intervalos se comportó de igual manera que en el experimento 1, no hubo efecto de intervalo, pero numéricamente hubo disminución en el agallameinto a medida que el número de aplicaciones fue mayor. Por lo tanto, a medida que se aplica mayor número de veces (intervalos) el agallameinto disminuye, así que numéricamente lo mejor es aplicar dos o tres veces, resultado arrojado en ambos experimentos.

Con respecto al efecto de interacción, se encontró que la aplicación de 3.5 y 10 mg mL^{-1} de aceite se tuvieron los mejores resultados (Cuadro 3.6).

Cuadro 3.5 Respuestas promedio de tratamientos (concentraciones del aceite esencial de *T. lucida*) con intervalos (secuencia de aplicación de tratamientos) en el agallamiento de raíz de *S. lycopersicum* por *N. aberrans* en el experimento 1 (tratamiento-inóculo).

Concentraciones ($mg \cdot mL^{-1}$) (Factor A)	Intervalos (Factor B)			Promedio (A) DMSH= 12.11
	1	2	3	
10	18 a	6 b	3 b	8.70 b
3.5	16.2 a	16.75 ab	11 ab	14.50 ab
1	14 a	18.6 ab	19.4 ab	17.33 ab
0.35	20.8 a	26.8 ab	23.6 a	23.73 a
0.1	19 a	19.2 ab	18.4 ab	18.87 ab
0.035	25.6 a	18.2 ab	19.2 ab	21 a
0.01	20 a	17.4 ab	21.2 a	19.53 ab
Testigo	34.8 a	33.4 a	9.4 ab	25.87 a
Promedio (B) DMSH= 5.81	21.21 a	19.97 a	16.32 a	
DMSH (A x B)	23.53	24.64	17.76	

Medias con la misma letra no difieren estadísticamente entre si ($p \leq 0.05$), DMSH= Diferencia Mínima Significativa Honesta.

Cuadro 3.6 Respuestas promedio de tratamientos (concentraciones del aceite esencial de *T. lucida*) con intervalos (secuencia de aplicación de tratamientos) en el agallamiento de raíz de *S. lycopersicum* por *N. aberrans* en el experimento 2 (inóculo-tratamiento).

Concentraciones ($mg\ mL^{-1}$) (Factro A)	Intervalos (Factor B)			Promedio (A) DMSH= 3.80
	1	2	3	
10	1.6 d	1.5 e	1.5 d	1.54 f
3.5	6 cd	3.2 e	5.2 cd	4.80 ef
1	9.4 bcd	4.8 de	8.2 bcd	7.47 de
0.35	9.8 bcd	8.6 d	11.8 bc	10.07 cd
0.1	12.4 bc	9.8 cd	13.6 b	11.93 bc
0.035	14.4 b	14.8 bc	14 b	14.40 b
0.01	16.6 b	17.2 b	13.6 b	15.73 b
Testigo	26.8 a	25.2 a	22.4 a	24.80 a
Promedio (B) DMSH= 1.85	12.13 a	10.87 a	11.51 a	
DMSH (A x B)	8.26	5.00	7.05	

Medias con la misma letra no difieren estadísticamente entre si ($p \leq 0.05$), D. M. S. H.= Diferencia Mínima Significativa Honesta.

3.5.3 Expresión morfológica

En el análisis de varianza que se realizó de las variables morfologías: AP, NH, DCP, LR, PR y VR, la prueba de F indicó que no hubo ningún efecto en los factores de estudio (concentración-intervalo), sin embargo, para estas variables se apreció numéricamente que a medida que las concentraciones e intervalos fueron mayores, los valores de las variables disminuían; por ejemplo, se observó una disminución importante en la AP a medida que las concentraciones y aplicaciones aumentaban.

3.5.4 Efecto de fitotoxicidad

De acuerdo con la escala de vigorosidad visual de la planta de jitomate que va de 0 a 5 y que reflejó la condición de vigor y el efecto de fitotoxicidad de la planta, se observó que en ambos experimentos la mayor fitotoxicidad se registó en concentraciones de 10 y 3.5 mg mL^{-1}, lo cual representó el 3.28 % y 0.41 % de las plantas muertas, respectivamente; este efecto no fue significativo considerando los resultados obtenidos en el efecto de agallamiento y en la expresión morfológica de la planta (Cuadro 3.7 y Cuadro 3.8).

Cuadro 3.7 Efecto de fitotoxicidad en las plantas de jitomate (*S. lycopersicum*) con base en una escala visual de 0 a 5 para el experimento 1 (tratamiento-inóculo).

Tratamiento	Concentración (mg mL^{-1})	Intervalos					
		1	Escala	2	Escala	3	Escala
		%		%		%	
1	10	40	0	20	0	40	0
		20	2	20	1	20	3
		20	3	20	2	40	4
		20	4	20	4		
				20	5		
2	3.5	40	3	20	0	20	3
		60	5	40	3	20	4
				20	4	60	5
				20	5		
3	1	100	5	100	5	100	5
4	0.35	100	5	100	5	100	5
5	0.1	100	5	100	5	100	5
6	0.035	100	5	100	5	100	5
7	0.01	100	5	100	5	100	5
Testigo	---	100	5	100	5	100	5

% macetas que representan dicha escala para cada intervalo y concentración, --- Escala**: 0**= planta muerta, **1**= planta con daños en las hojas (necrosis) del 50 al 75 % de las hojas y pudrición aparente, **2**= planta con daños regulares del 25 al 50 %, **3**= planta con hojas amarillas de las puntas, **4**=plantas sanas, pero con bajo crecimiento y **5**= plantas sanas.

Cuadro 3.8 Efecto de fitotoxicidad en las plantas de jitomate (*S. lycopersicum*) con base en una escala visual de 0 a 5 para el experimento 2 (inóculo-tratamiento).

Tratamiento	Concentración (mg mL^{-1})	Intervalos					
		1	Escala	2	Escala	3	Escala
		%		%		%	
1	10	40	0	20	0	40	0
		20	2	20	1	40	3
		20	3	20	2	20	4
		20	4	20	4		
				20	5		
2	3.5	40	3	20	0	20	3
		60	5	40	3	20	4
				20	4	60	5
				20	5		
3	1	100	5	100	5	100	5
4	0.35	100	5	100	5	100	5
5	0.1	100	5	100	5	100	5
6	0.035	100	5	100	5	100	5
7	0.01	100	5	100	5	100	5

% macetas que representan dicha escala para cada intervalo y concentración, --- Escala: **0=** planta muerta, **1**= planta con daños en las hojas (necrosis) del 50 al 75 % de las hojas y pudrición aparente, **2**= planta con daños regulares del 25 al 50 %, **3**= planta con hojas amarillas de las puntas, **4**=plantas sanas, pero con bajo crecimiento y **5**= plantas sanas.

3.5.5 Concentración Letal (CL_{50})

En general, en la condición de manejo inóculo-tratamiento, la tendencia de inhibición del agallamiento por *N. aberrans* en plántulas de jitomate en invernadero en los tres intervalos de aplicación fue en aumento a medida que la concentración de aceite de *T. lucida* se incrementaba. Las CL_{50} en los intervalos de aplicación de 1 y de 2, fue la misma (0.06 mg mL^{-1}) y casi el doble (0.13 mg mL^{-1}) para la tercera aplicación; llama la atención que en esta última, con la concentración de 0.01 mg mL^{-1} de aceite se haya logrado una mayor inhibición del agallamiento que la producida a las concentraciones de 0.035 o de 0.1 mg mL^{-1}.

En la condición de simulación tratamiento-inóculo no se apreció que la inhibición estuviera asociada proporcionalmente con la concentración, por ejemplo, en el intervalo 1 la aplicación de 0.01 mg mL^{-1} ocasionó inhibición en 42 %, a 0.035 mg mL^{-1} la inhibición baja (26 %), luego aumenta a 40 % en la concentración de 0.35 mg mL^{-1}, vuelve a subir hasta 59 % en la concentración de 1 mg mL^{-1} y desciende (53 %) aplicando 3.5 mg mL^{-1} de aceite (Cuadro 3.9). En el intervalo 2 en las concentraciones de 0.01 a 0.35 mg mL^{-1} la inhibición disminuye, pero aumenta a partir de 1 mg mL^{-1} hasta 10 mg mL^{-1}. En el intervalo 1 se tuvo una CL_{50} igual a 0.5 mg mL^{-1} y en el intervalo 2 una CL_{50} igual a 0.37 mg mL^{-1}. En el intervalo 3 presenta una tendencia irregular en la que por otra parte no se logró el cálculo de la CL_{50} (Cuadro 3.9).

En lo general, los resultados más consistentes en cuanto al valor de la CL_{50} se tuvieron en el experimento 2 secuencia inóculo-tratamiento, considerando que los valores de la pendiente de la línea de regresión se ubicaron en valores de pendiente cercanos a 0.5.

Cuadro 3.9 Inhibición promedio (%) de agallamiento por *N. aberrans* a 52 días posteriores a la aplicación de las concentraciones del aceite esencial de *T. lucida* a plántulas de jitomate y valor de la CL_{50} según intervalo y secuencia de aplicación.

No. de Intervalo	Experimento 1 tratamiento-inóculo		Experimento 2 inóculo-tratamiento	
	Concentración (mg mL^{-1})	*T. lucida* % de inhibición	Concentraciones (mg mL^{-1})	*T. lucida* % de inhibición
1	10	68.97	10	94.03
	3.5	53.45	3.5	77.61
	1	59.77	1	64.93
	0.35	40.23	0.35	63.43
	0.1	45.40	0.1	53.73
	0.035	26.44	0.035	46.27
	0.01	42.53	0.01	38.06
	Testigo	0.00	Testigo	0.00
	CL_{50} (mg mL^{-1})	0.50 (0.024 - 137.88)*	CL_{50} (mg mL^{-1})	0.06 (0.03 - 0.1)*
	b ± s	0.27 ± 0.09	b ± s	0.49 ± 0.05
2	10	85.63	10	95.24
	3.5	59.88	3.5	87.30
	1	44.31	1	80.95
	0.35	19.76	0.35	65.87
	0.1	42.51	0.1	61.11
	0.035	45.51	0.035	41.27
	0.01	47.90	0.01	31.75
	Testigo	0.00	Testigo	0.00
	CL_{50} (mg mL^{-1})	0.37 (-)	CL_{50} (mg mL^{-1})	0.06 (0.04 - 0.08)
	b ± s	0.26 ± 0.18	b ± s	0.68 ± 0.06
3	10	80.85	10	94.64
	3.5	-17.02	3.5	76.79
	1	-106.38	1	63.39
	0.35	-151.06	0.35	47.32
	0.1	-95.74	0.1	39.29
	0.035	-104.26	0.035	37.50
	0.01	-125.53	0.01	40.18
	Testigo	0.00	Testigo	0.00
	CL_{50} (mg mL^{-1})	--	CL_{50} (mg mL^{-1})	0.13 (0.02 - 0.50)
	b ± s		b ± s	0.53 ± 0.12

b= Pendiente de la línea de regresión, s= Error estándar. Testigo con Tween ® 20, 50 ml por individuo. *Límites de confianza al 95 %. (-) no mostró límites de confianza.

3.6 DISCUSIÓN

Los compuestos mayoritarios identificados en el aceite esencial de la parte aérea de plantas en floración de la población Ixtapan de *T. lucida* que se utilizó en los bioensayos, corresponden al grupo químico de los monoterpenos (acetato de geranilo, β-ocimeno y β-mirceno) y sesquiterpenos (cariofileno, nerolidol y β-cubebeno) (Maffei, 2010; Huang *et al*., 2012; Huang *et al*., 2012; Polo *et al*., 2013; Lange y Ahkami, 2013;). Para el caso de los monoterpenos, se conoce que son las moléculas más representativas que constituyen el 90 % de los aceites esenciales (Bakkali *et al*., 2008) y son productos típicos sintetizados en las hojas, mientras que los sesquiterpenos se encuentran presentes en las fragancias florales (Dudareva *et al*., 2006).

Los monoterpenos tienen actividad antimicrobiana en *Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa y Escherichia coli* (Bonikowski *et al*., 2009) con efecto tóxico contra escarabajos (*Tribolium confusum* y *Dendroctonus rufipennis*) (Tunc y Erler, 2003; Wallin y Raffa, 2004), trips (*Frankliniella occidentalis*) (Janmaat *et al*., 2002) y áfidos (Webster *et al*., 2008), además de tener efecto repelente contra mosquitos e insectos (Park *et al*., 2003). En el caso de los sesquiterpenos pueden presentar actividad herbicida (Abdelgaleil *et al*., 2009) e insecticida contra larvas y adultos (Gónzalez *et al*., 1993; Gonzalez-Coloma *et al*., 1995; Miyazawa *et al*., 2000). Monoterpenos y Sesquiterpenos pueden tener actividad biológica contra nematodos (Marotti *et al*., 2010)

El acetato de geranilo (40.8 %) fue el compuesto que tuvo mayor presencia en el aceite esencial de la población Ixtapan de *T. lucida* (Cuadro 3.4), este compuesto no se había reportado para esta especie en poblaciones de Guatemala, Cuba, Costa Rica y México

(Bicchi *et al.*, 1997; Cicció, 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 contra nematodos. El tamaño de una larva de mosco es de 1.1 a 1.5 mm (Shaper *et al*., 1998), mientras que el de un nematodo como *N. aberrans* es de 200 μc en un macho y 40 μc una hembra madura (Manzanilla-López *et al*., 2002).

El compuesto β-ocimeno (15.14 %) tiene propiedades anti-bióticas, anti-inflamatorias y anti-oxidantes, también tiene resistencia contra patógenos y protege a las plantas contra insectos plaga (Koul *et al*., 2008; Adorjan y Buchbauer, 2010).

Los compuestos Cariofileno (9.6 %), β-Mirceno (4.7 %) y Linalool (1.2 %), los dos últimos no fueron mayoritarios en el presente trabajo, presentan efecto insecticida contra larvas de mosquitos (Jaenson *et al*., 2006) y también como nematicida (Duke, 2009). El β-Cubebeno (5.17 %) presenta actividad antimicrobiana contra *Escherichia coli* (Bezic et al., 2005).

La mayoría de compuestos ya se habían descrito en la composición del aceite esencial de *T. lucida* (Bicchi *et al.*, 1997; Cicció, 2004; Serrato *et al*., 2007; Visbal *et al*., 2010; Regalado *et al*., 2011); sin embargo, lo distintivo de la población Ixtapan de *T. lucida* fue la alta concentración de algunos de ellos y la presencia del compuesto acetato de geranilo.

Tanto los compuestos mayoritarios como los compuestos traza, es probable que pudieraon contribuir al efecto tóxico sobre el nematodo *N. aberrans*; estos resultados pueden ser una referencia para explorar la actividad biológica individual de los compuestos antes referidos.

Considerando que el agallamiento en las raíces de jitomate es una consecuencia de la presencia de nematodos hembra y su penetración al interior de las raíces (Manzanilla-

López *et al.,* 2002), resulta claro que la aplicación del aceite de la población Ixtapan (p10) de *T. lucida* tuvo efecto contra el proceso de agallamiento por *N. aberrans* (Cuadros 3.5 y 3.6) resultado que constituye el primer reporte al respecto. Posiblemente este efecto se debe a que en general los aceites pueden ejercer envenenamiento en el sistema nervioso del organismo, consecuentemente ocasionar parálisis y finalmente la muerte (Perich *et al*., 1994; Park *et al*., 2003; Maffei, 2010). Aún cuando la comparación entre nematodos y larvas de moscos no corresponda al tamaño de estos organismos se ha encontrado que con la aplicación del aceite esencial de algunas especies de *Tagetes* contra moscos como *Aedes aegypti* (L) y *Anopheles stephensi* se producen daños (Perich *et al*., 1994).

El que no se haya obtenido efecto contra *N. aberrans*, por el número de aplicaciones (intervalos), se considera algunas posibles causas, entre ellas: que haya ocurrido alguna falla en el proceso de inoculación, por ejemplo muestra no homogénea en cuanto al número de individuos hembra. No obstante la falta de evidencia estadística sobre la relación intervalo de aplicación y agallamiento, se esperaba que si ocurriera la tendencia de que a medida que el número de aplicaciones aumentara, disminuiría el agallamiento, tendencia que numéricamente se dio.

Finalmente, este antecedente será una referencia más en cuanto a aspectos de manejo de sustancias vegetales, ya que hay poca información publicada al respecto.

Desde el punto de vista de la utilidad de algunos resultados, destacó que las concentraciónes más altas (3.5 y 10 mg mL^{-1}) produjeron los mejores resultados de disminución del agallamiento, sin embargo, se requiere la evaluación por fitotoxicidad, tema que adelante se abordará para valorar la pertinencia de las concentraciones con más efecto en el agallameinto.

Tomando en cuenta que en la evaluación de concentraciones de aceite esencial habrá un umbral crítico (casi siempre a las concentraciones altas) donde ocurre fitotoxicidad, como se ha encontrado en otros trabajos (Serrato *et al*., 2003), en este estudio se esperaba confirmar esta tendencia, en este caso, atendiendo a variables morfológicas de crecimiento como AP, NH, DCP, LR, PR y VR. Sin embargo, las pruebas de F en el análisis de varianza indicaron que los factores de estudio (concentraciones e intervalos) no tuvieron significancia estadística; no obstante, la tendencia esperada con respecto al efecto de concentración y afectación al desarrollo de algunos órganos, sí se expresó con una tendencia definida, pero lamentablemente numérica.

En cuanto a la actividad inhibitoria del agallamiento en raíces de plántulas de jitomate causada por el aceite de la población Ixtapan de *T. lucida*, actividad biológica expresada en las CL_{50} en los diferentes intervalos de aplicación, los resultados correspondientes acusan una mayor precisión de este valor (por lo tanto un buen reflejo del fenómeno biológico) en la condición experimental de inóculo-tratamiento (esquema de control), ya que la tendencia de la inhibición de agallamiento fue proporcional a las concentraciones logarítmicas en las que se diluyó y aplicó el aceite; esto no ocurrió en la secuencia o esquema experimental preventivo (tratamiento-inóculo). No obstante, los valores bajos de CL_{50} (0.06-0.13 mg mL^{-1}) en el esquema de control, los valores de la pendiente siempre menores 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 cabe la posibilidad de que una proporción heterogénea de individuos hembra en el inóculo se haya dispersado a la zona de raíces de las plántulas, incluso que se hayan presentado diferencias en la habilidad parasítica de las poblaciones del

nematodo en el hospedante, así como a la habilidad colonizadora (Bourne y Kerry, 1999).

No existen reportes en la literatura acerca de la actividad nematicida del aceite esencial de *T. lucida* sobre *N. aberrans*. Sin embargo, han sido evaluadas otras especies del mismo género como *T. minuta* sobre *Anopheles gambiae* con una CL_{50} de 1.49 mg mL^{-1} (Kyarimpa *et al*., 2014), *T. patula* contra *Aedes aegypti* con una CL_{50} de 0.13 mg mL^{-1} (Dharmagadda *et al*., 2005) y *T. lucida* sobre *Tetranychus urticae* con una CL_{50} de 0.016 mg mL^{-1} (Caramillo *et al*., 2008).

Cheng *et al.* (2003) aluden que muchos aceites esenciales y sus componentes se han utilizado tradicionalmente por su actividad antimicrobiana y por su actividad citotóxica (Bruni *et al*., 2004; Sacchetti *et al.,* 2005) la cual es de gran importancia en las aplicaciones de aceites esenciales no sólo en contra de algunos patógenos humanos, animales o parásitos sino también para la conservación de los productos agrícolas (Holley y Patel, 2005).

Debido a que las poblaciones de *T. lucida* se encuentran ampliamente distribuidas en el Estado de México (Villareal, 2003; Discover Life, 2014), en localidades donde las poblaciones son abundantes, sin duda lo convierte en un recurso vegetal de fácil aprovechamiento y de bajo costo.

Un cálculo aproximado sobre la concentración que resultó la mejor para inhibir el agallamiento, indica que se necesitarían 120 mL de aceite en 199.8 L de agua para lograr la concentración de 0.06 mg mL^{-1} y 260 mL en 199.7 L de agua para la concentración 0.13 mg mL^{-1}, ambas para aplicar en una hectárea. Cantidad que se puede satisfacer mientras se disponga del recurso vegetal, pues se calcula que en 1 m^2 de superficie hay nueve plantas y en 1 ha 90,000 plantas de *T. lucida* con un rendimiento de aceite aproximado de 0.68 mL

m^{-2} y 6.8 L ha^{-1}.

Actualmente se sabe que la acción de control más utilizada para nematodos es la aplicación de nematicidas químicos; sin embargo, el costo y la residualidad de este agroquímico son aspectos que motivan la búsqueda de alternativas sustentables y económicas para combatir a este tipo de organismos. Ante esto, el uso y manejo de productos o sustancias vegetales se presentan como una alternativa prometedora (Hernández-Juárez *et al*., 2015), que también genera ganancias en la salud humana y ambiental (Serrato, *et al*., 2003).

3.7 CONCLUSIONES

El aceite esencial obtenido mediante hidrodestilación de plantas en floración de la población Ixtapan (p10) de *T. lucida* contenía ocho compuestos mayoritarios, la mayoría de ellos monoterpenos y algunos sesquiterpenos, destacando un compuesto abundante que no se había reportado en el aceite de esta especie.

El aceite esencial de la población Ixtapan 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; el efecto de interacción fue importante en altas concentraciones en el intervalo de dos aplicaciones, aunque se produjeron gradientes de daño por fitotoxicidad.

Los mejores resultados CL_{50} para inhibir el agallamiento se lograron aplicando el aceite como tratamiento de control.

DISCUSIÓN GENERAL

En general, los productos vegetales representan una alternativa ecológica y económica para el manejo de plagas y enfermedades en hortalizas (Holley y Patel, 2005), razón por la cual se requiere información sobre: a) la conservación del recurso natural en los rubros de disponibilidad del recurso fitogenético (herbario, banco de germoplasma, distribución y conocimiento etnobotánico), b) sobre su caracterización molecular, química, morfológica, agronómica, etc. y c) sobre su aprovechamiento específico. En el caso del aprovechamiento del género *Tagetes* como materia prima para el desarrollo de bioplaguicidas, por la presencia de aceites esenciales en estas plantas con actividad biológica (Vasudevan *et al*., 1997;Omer *et al.,* 2015), el trabajo de caracterización química y su relación con su distribución geográfica es una tarea básica porque con ello no solo se puede orientar el trabajo de evaluación toxicológica de estos recursos naturales y la pertinencia de su uso local o general, sino se puede avanzar en conocimiento sobre la importancia del ambiente en la fitoquímica del *taxa*, es decir, en ecología química, y también en la acción biológica sobre los organismo. Este planteamiento general se reflejó a nivel de la variabilidad química del aceite esencial de algunas poblaciones de *T. lucida* distribuidas en localidades de las provincias fisiográficas del Eje Neovolcánico y Depresión del Balsas, en el Estado de México, marco necesario para proponer el trabajo de evaluación toxicológica que permitiera valorar la pertinencia de uso del aceite esencial de algunas de las poblaciones abundantes de *T. lucida* en las zonas referidas del Estado de México, en un modelo biológico convencional, en este caso un nematodo cuya importancia como plaga en

sistemas de producción de jitomate y sus implicaciones negativas al ambiente y al humano por el uso de nematicidas sintéticos son evidentes.

En cuanto a la caracterización química de las poblaciones de *T. lucida* del Norte-Sur del Estado de México, por vez primera se reporta un avance de la caracterización de poblaciones de *T. lucida*, especie que se distribuye en veinticinco entidades de México en los principales sistemas montañosos. Próximamente un nuevo aporte se tendrá sobre poblaciones de *T. lucida* en el Estado de Hidalgo. Sin duda, una contribución significativa sobre la caracterización química de los aceites esenciales de algunas poblaciones de *T. lucida* del Estado de México, fue la diferenciación de las moléculas mayoritarias entre las poblaciones del Norte (Acambay, Jilotepec y Atlacomulco) y las del Sur (Coatepec de Harinas, Villa Guerrero, Ixtapan de la Sal, Totanico y Pilcaya) por las moléculas mayoritarias. En el primer caso fueron fenilpropenos (con nitrógeno) y en el segundo monoterpenos (sin nitrógeno). Los únicos factores distintivos, al parecer relacionados con la síntesis de esos grupos químicos, fueron: la elevación y temperatura. La baja temperatura en las localidades de mayor elevación se asociaron con la presencia de fenilpropenos, pero una mayor temperatura se asociaron con el contenido mayoritario de monoterpenos. La presencia de las poblaciones de *T. lucida* se distribuyeron en seis tipos de suelo y cinco tipos climáticos, lo que indica cierta plasticidad del *taxa* para adaptarse a ambientes distintos y expresión de gradientes químicos por presencia y abundancia de moléculas (Cuadro 2.4) puede indicar posibles quimiotipos (Marotti *et al*., 2004; González *et al*., 2011). Sin duda alguna, la presencia del acetato de geranilo, que no se había reportado antes del presente trabajo, viene a tener un importante significado para la fitoquímica de *Tagetes*, en parte porque se trata de un nuevo componente tanto para *Tagetes* como para *T. lucida*, sobre esta última, trabajos previos

sobre la composición del aceite esencial reivindican la presencia de moléculas del grupo de fenilpropenos (Bicchi *et al*., 1997; Cicció, 2004; Céspedes *et al*., 2006; Regalado *et al*., 2011); por otra parte, se trata de una molécula (el acetato de geranilo) con antecedentes de actividad biológica contra insectos (Muñoz *et al*., 2014), pero no contra nematodos. En este sentido, se tiene información que fenilpropenos como el estragol, metil eugenol y anetol, tienen cierto efecto contra nematodos, efecto biológico que también se produce con varios compuestos del grupo de monoterpenos, presente en otras especies de *Tagetes* (Bonikowski *et al*., 2009; Koul *et al*., 2008).

La evaluación del aceite esencial de la población Ixtapan, con abundancia de acetato de geranilo y β-ocimeno, contra el nematodo *N. aberrans* destaca la importancia metodológica de la secuencia de aplicación. Aplicar en forma preventiva (tratamiento-inóculo) falló para detectar efectos en el agallamiento, pero inocular nematodos y luego aplicar los tratamientos, mejoró detectar la actividad biológica de esta sustancia vegetal con una CL_{50} de 0.06 y 0.13 mg mL^{-1} en los tres intervalos de aplicación. La implicación practica de este resultado radica en que para aplicar una CL_{50} para manejo de nematodos en una hectárea, se requeriría un volumen de aceite de 120 mL en 199.8 L de agua para aplicarlo dos veces. *T. lucida* se considera una ventaja para el aprovechamiento como materia prima en la formulación de nematicidas. Sin embargo, si se desea producir agronómicamente tal especie, conviene estudiar, además de la influencia de factores ambientales en la composición química de la planta, las fechas de siembra, el espaciado de las plantas, condiciones de suelo, entre otros, todos aquellos elementos que influyen en el rendimiento del aceite y en la producción de biomasa de la planta.

Convendría investigar la interacción de *T. lucida* con el nematodo *N. aberrans* bajo diferentes condiciones ambientales (*in vitro*, campo, invernadero y otros) y su

efectividad con diferentes productos derivados de esta especie (composta, extractos, aceites, asociación de cultivos, etc.). También hace falta definir el modo y mecanismo de acción del aceite sobre el nematodo y su compatibilidad con otros enemigos naturales de los nematodos, con el fin de propiciar mejores prácticas de manejo.

Realizar estudios sobre heredabilidad de los compuestos mayoritarios de aceites esenciales de T. lucida para tener idea de su estabilidad en el ambiente, aspecto necesario para el control de calidad de esta materia prima que podría aprovecharse para elaboración de bionematicidas.

Difundir la importancia de *T. lucida* a través de todos sus beneficios es importante, principalmente para la agricultura enfocada al sector rural-campesino como una estrategia de conservación de la especie y del conocimiento tradicional sobre la misma, así como de su aprovechamiento sustentable.

CONCLUSIONES GENERALES

La cantidad de compuestos químicos en el aceite esencial de poblaciones de *T. lucida* distribuidas en el Norte-Sur del Estado de México fue variable y relacionada con el origen geográfico. El rendimiento también fue variable según la distribución de las poblaciones. Las poblaciones del Norte presentaron mayoritariamente compuestos del grupo de los fenilpropenos, mientras que las del Sur fueron monoterpenos, destacando la presencia del acetato de geranilo que por primera vez se consigna para el género *Tagetes* y la presencia de otros compuestos comunes.

El aceite esencial de una de las poblaciones de *T. lucida* del Sur del Estado de México, con presencia mayoritaria de monoterpenos y sesquiterpenos, entre ellos, acetato de geranilo y β-ocimeno, influyó sobre el agallamiento en *N. Aberrans* de acuerdo con la secuencia de aplicación inoculo-tratamiento, la concentración del aceite y del intervalo de aplicación.

ANEXOS

Cuadro 4.1. Registro de temperatura, precipitación y vegetación las poblaciones de *T. lucida* en el Estado de México.

Población	Temperatura+ (º)		Precipitación* (mm)		Vegetación
	Mínima	Máxima	Mínima	Máxima	
p1 Acambay	11 (Enero)	16.2 (Mayo)	10.7 (Marzo)	175.7 (Julio)	(1)
p2 Jilotepec	12.6 (Enero)	17.6 (Mayo)	10 (Febrero)	173 (Julio)	
p3 Atlacomulco	10.2 (Enero)	15.3 (Mayo)	7.9 (Diciembre)	150 (Julio)	
p4 Coatepec de Harinas	14.7 (Enero)	19 (Mayo)	8.4 (Diciembre)	206.1 (Junio)	
p5 Coatepec de Harinas					
p6 Villa Guerrero		19.3 (Mayo)	7.4 (Diciembre)	227.3 (Junio)	
p7 Villa Guerrero					
p8 Villa Guerrero					
p9 Ixtapan de la Sal	15.2 (Enero)	20.7 (Mayo)	5.5 (Diciembre)	177.4 (Junio)	
p10 Ixtapan de la Sal					
p11 Coatepec de Harinas	14.7 (Enero)	19 (Mayo)	8.4 (Diciembre)	206.1 (Junio)	
p12 Ixtapan de la Sal	15.2 (Enero)	20.7 (Mayo)	5.5 (Diciembre)	177.4 (Junio)	
p13 Tonatico	17.2 (Enero)	23.2 (Mayo)	4.9 (Diciembre)	197.9 (Junio)	(2)
p14 Pilcaya		23.1 (Abril y Mayo)	1.6 (Diciembre)	250.2 (Junio)	

Temperatura media anual
Precipitación media anual
(1) Lomeríos y sierras con bosques de coníferas, encino y mixtos
(2) Selva baja caducifolia

Climogramas de las poblaciones de *T. lucida*

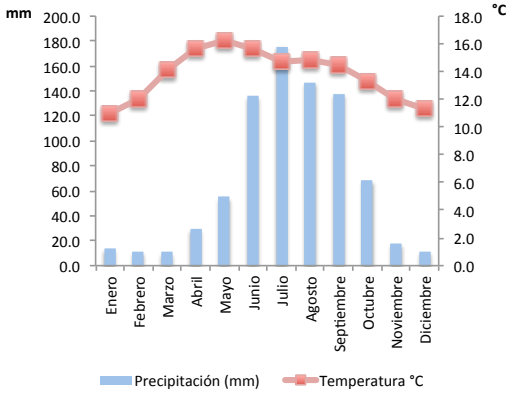


Figura 4.1A Climograma de p1-Acambay

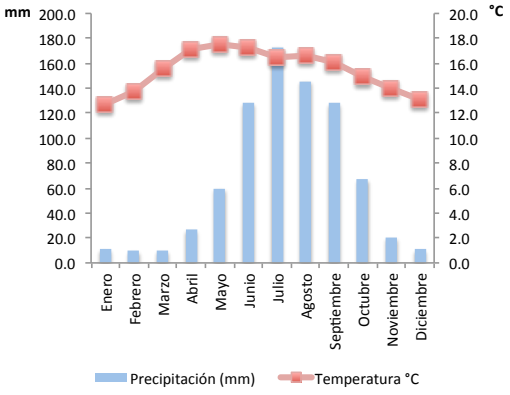


Figura 4.2A Climograma de p2-Jilotepec

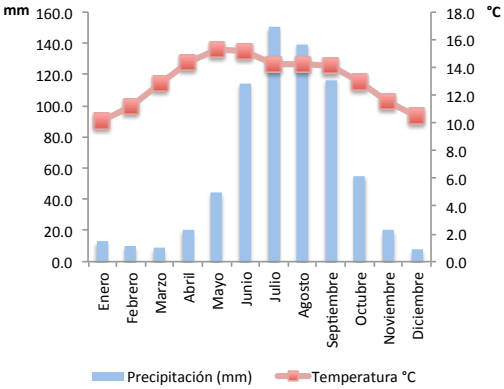


Figura 4.3A Climograma de p3-Atlacomulco

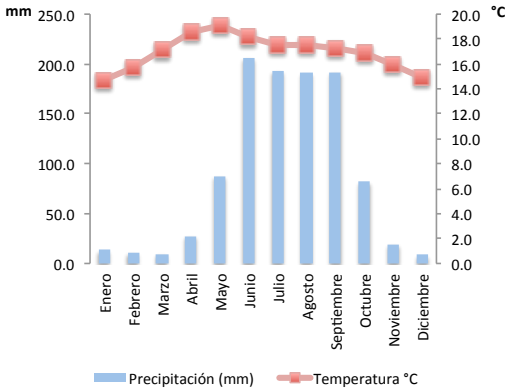


Figura 4.4A Climograma de p4, p5 y p11
Coatepec de Harinas

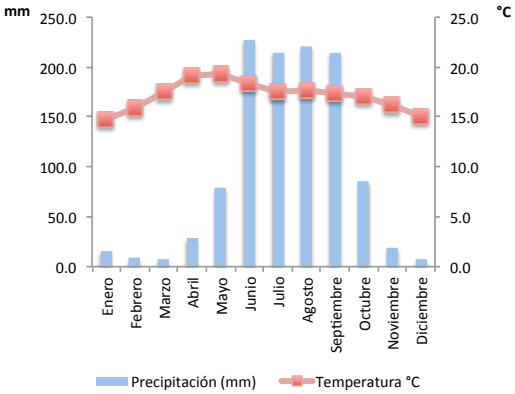


Figura 4.5A Climograma de p6, p7 y p8
Villa Guerrero

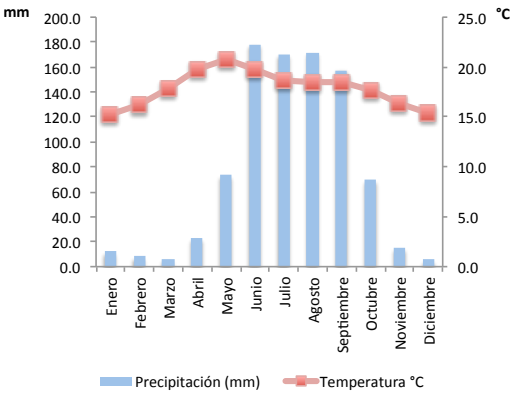


Figura 4.6A Climograma de p9, p10 y p12
Ixtapan de la Sal

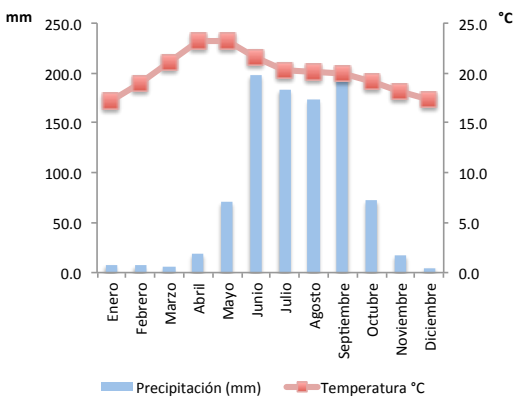


Figura 4.7A Climograma de p13-Tonatico

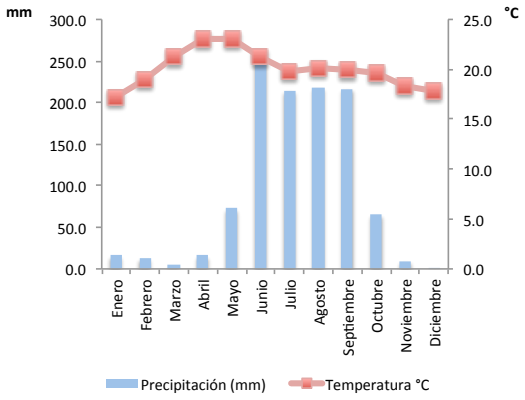


Figura 4.8A Climograma de p14-Pilcaya

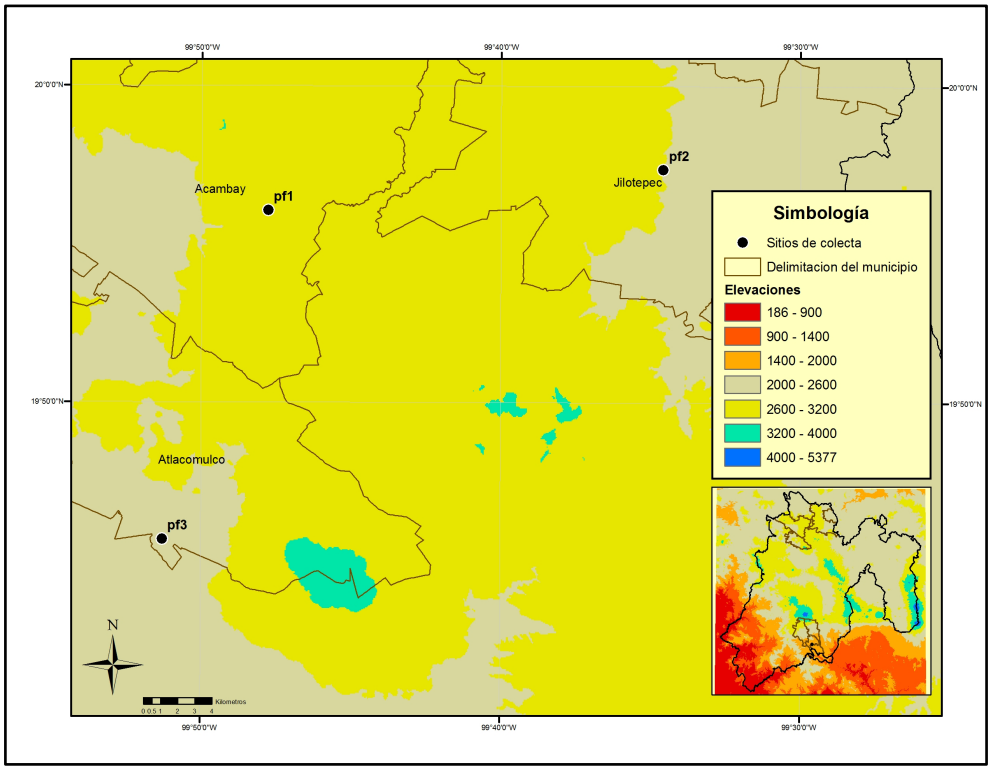


Figura 5.1A Representación de la elevación de poblaciones de *T. lucida* al Norte del Estado de México.

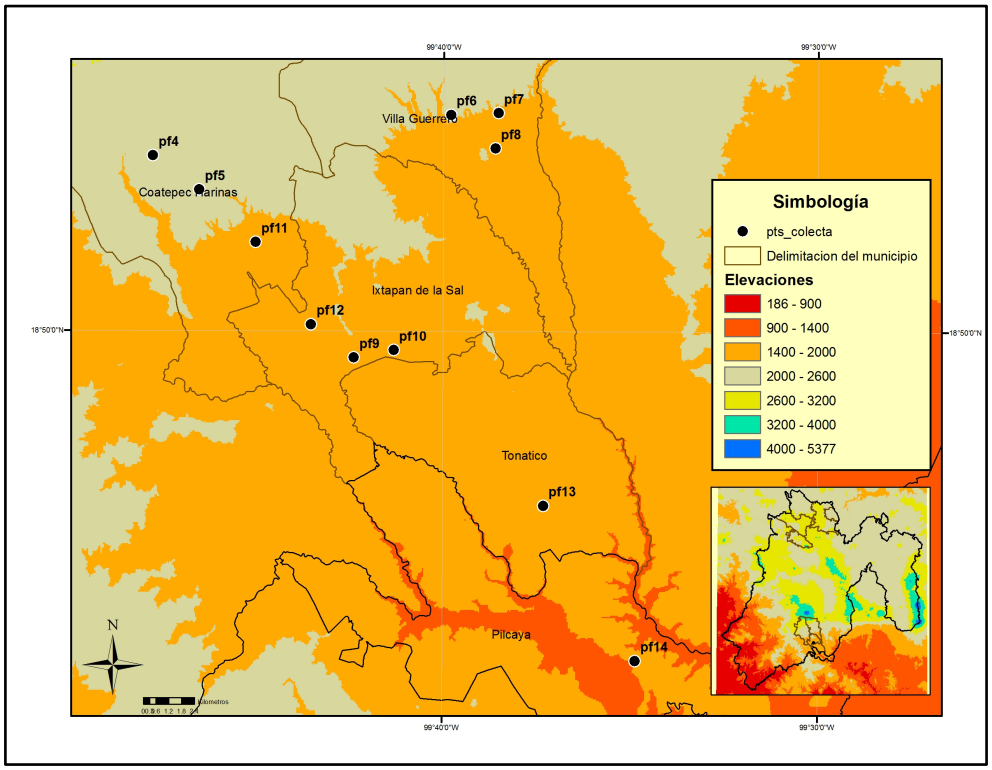


Figura 5.2A Representación de la elevación de poblaciones de *T. lucida* al Sur del Estado de México.

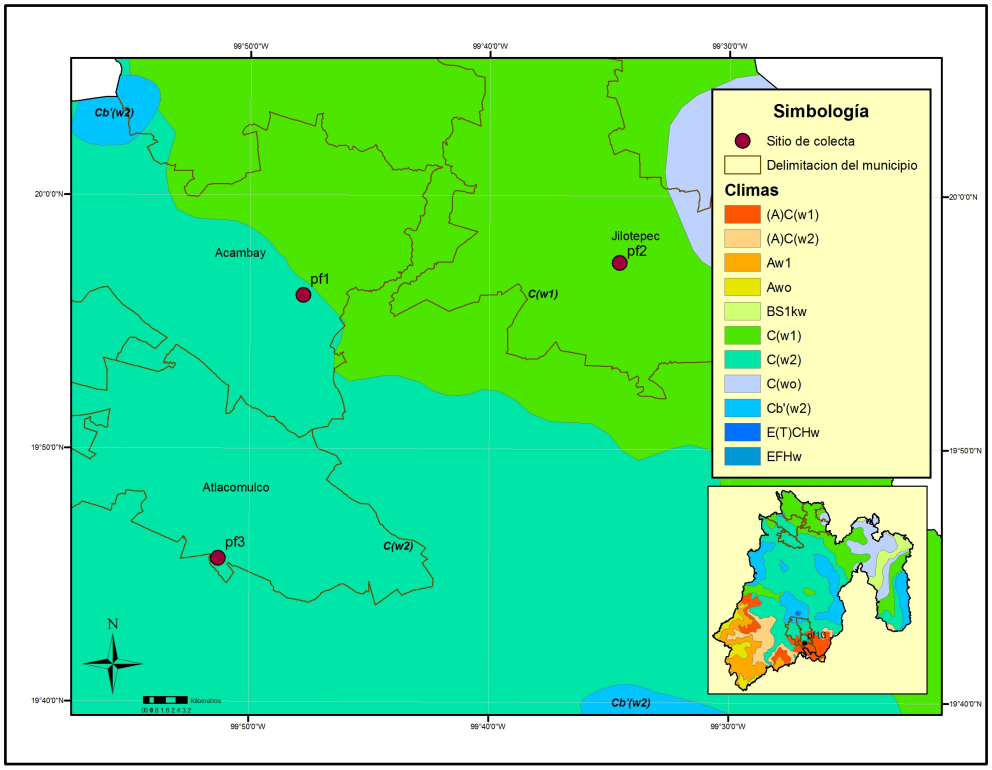


Figura 5.3A Clima de las poblaciones de *T. lucida* al Norte del Estado de México.

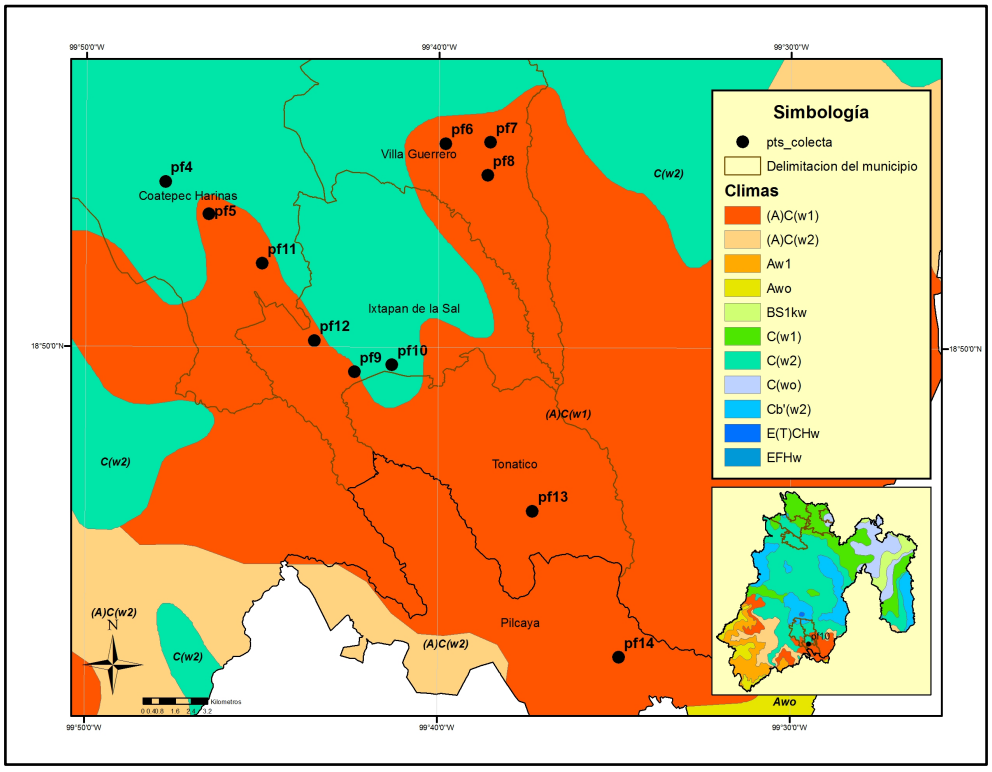


Figura 5.4A Clima de las poblaciones de *T. lucida* al Sur del Estado de México.

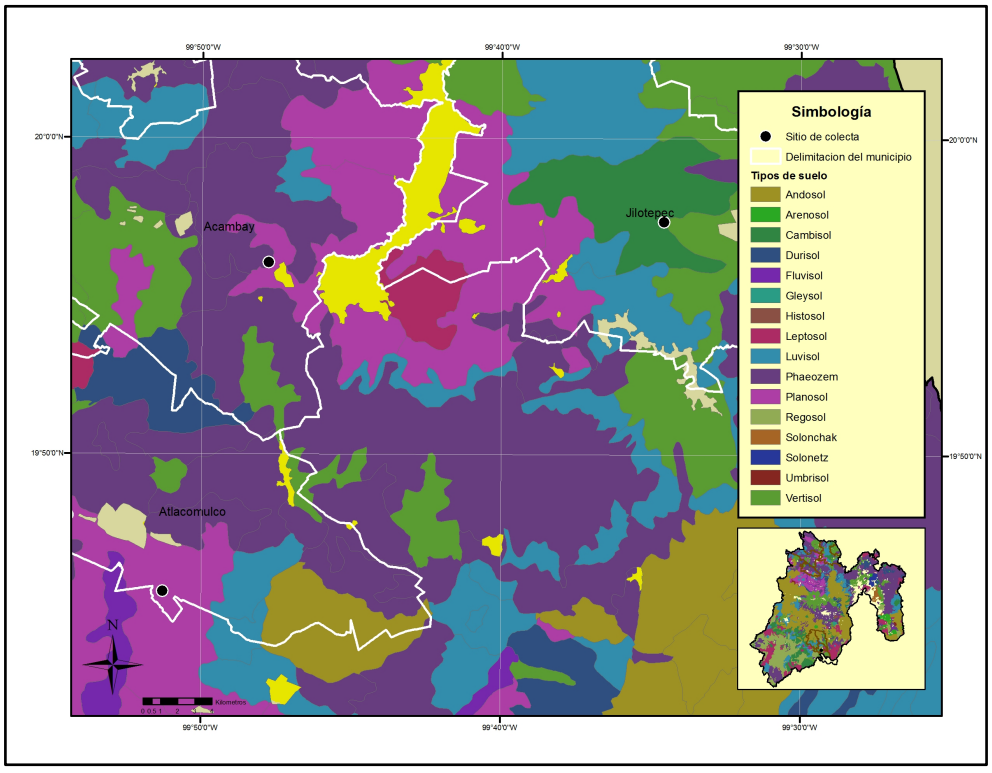


Figura 5.5A Tipos de suelo de las poblaciones de *T. lucida* al Norte del Estado de México.

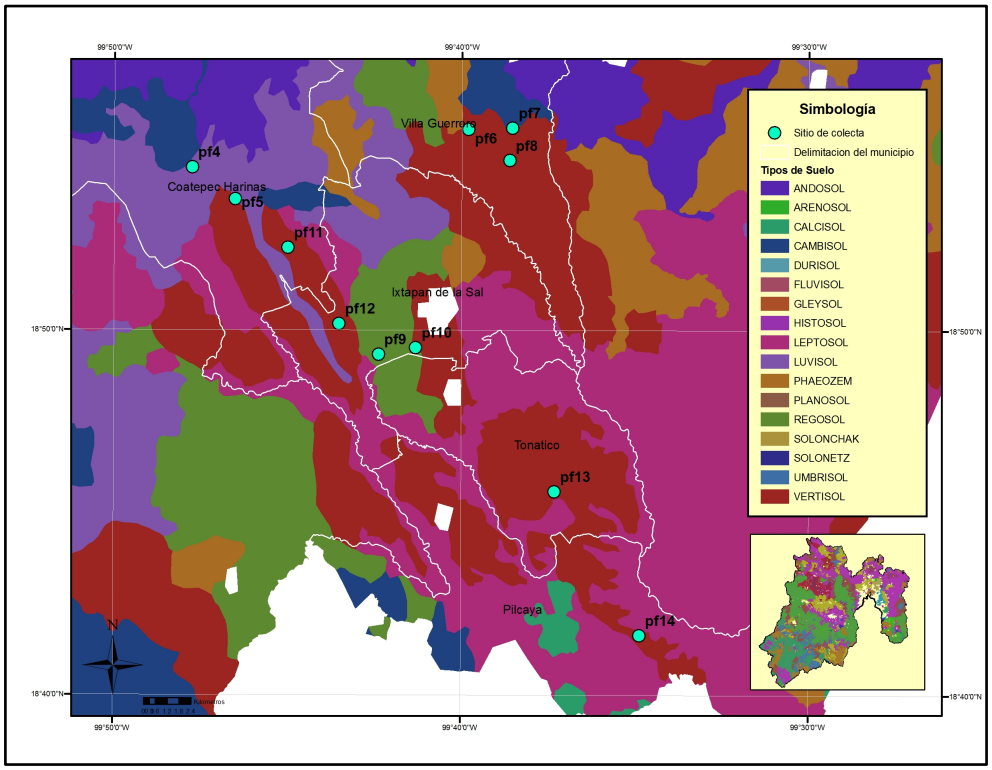


Figura 5.6A Tipos de suelo de las poblaciones de *T. lucida* al Sur del Estado de México.

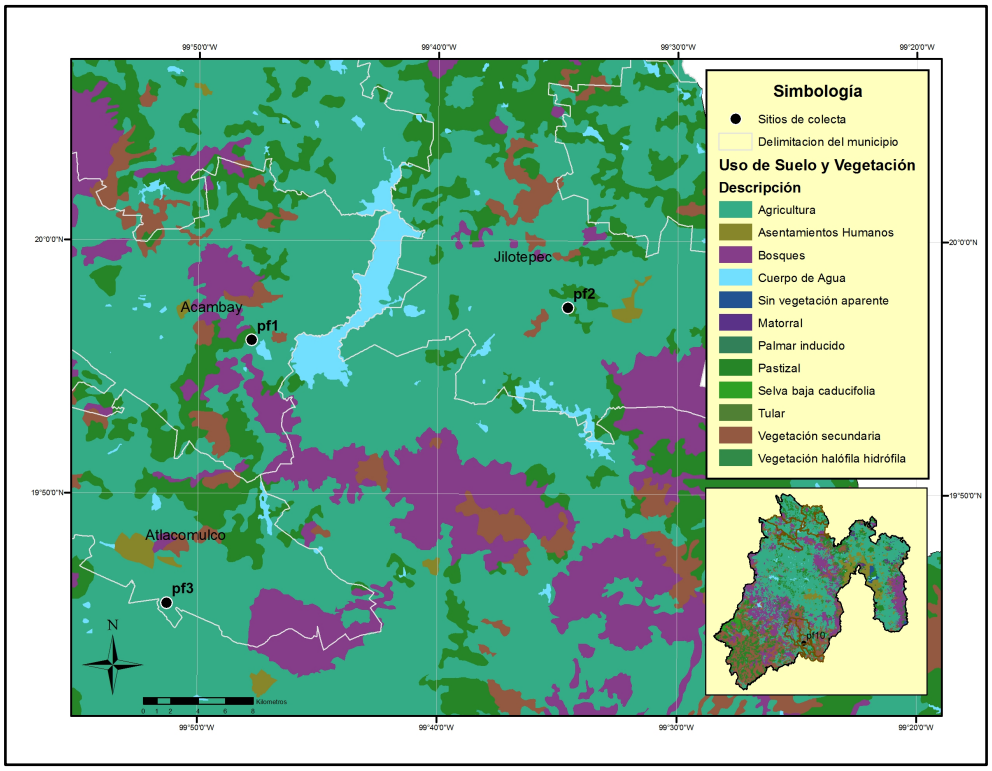


Figura 5.7A Tipos de vegetación en las poblaciones de *T. lucida* al Norte del Estado de México.

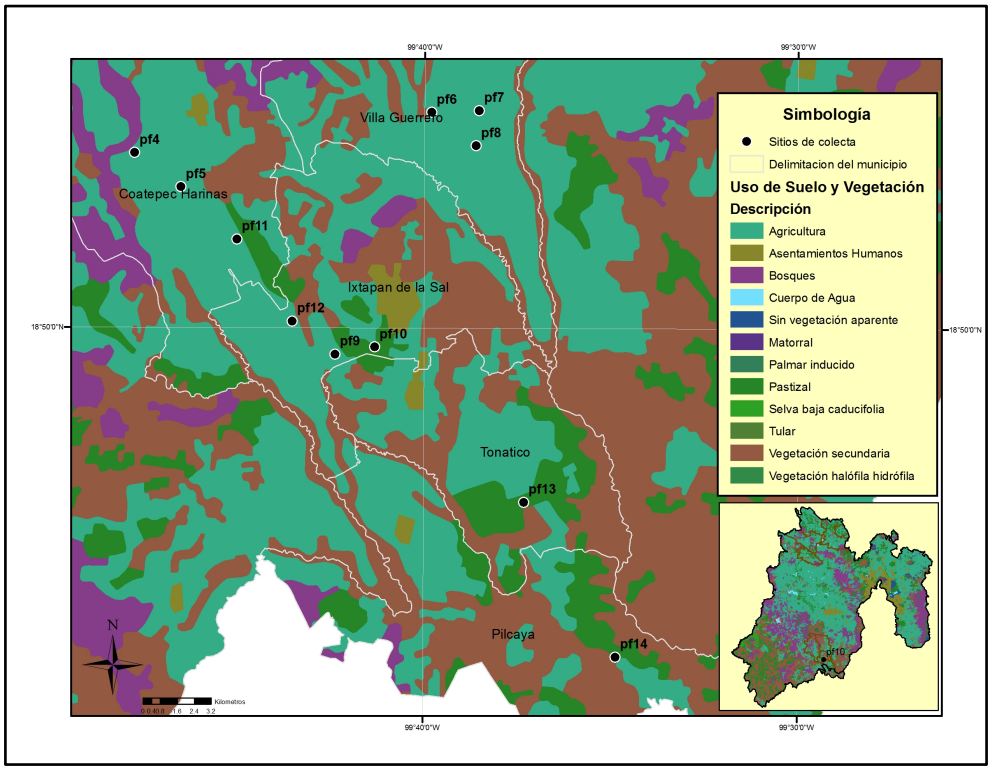
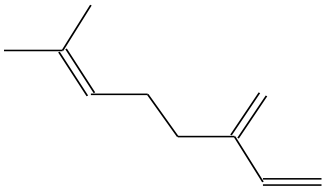
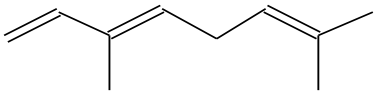


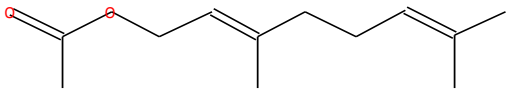
Figura 5.8A Tipos de vegetación en las poblaciones de *T. lucida* al Sur del Estado de México.



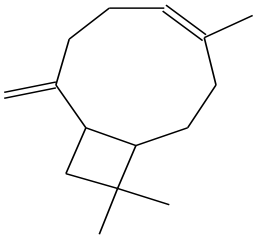
β-mirceno



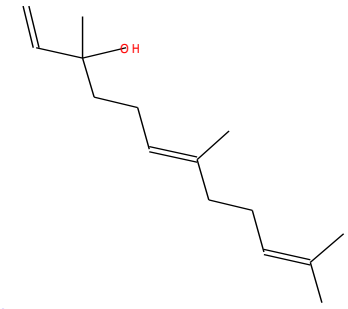
β-ocimeno



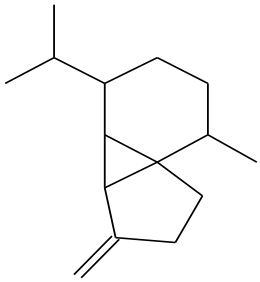
Acetato de geranilo



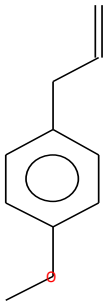
Cariofileno



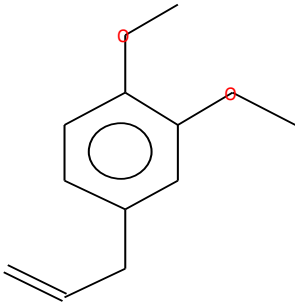
Nerolidol



β-cubebeno



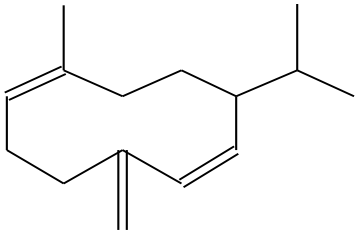
Estragol



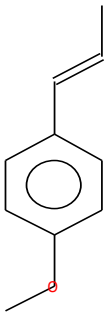
Metil eugenol

Figura 6.1A Estructuras químicas de moléculas mayoritarias en el aceite esencial de *T. lucida*

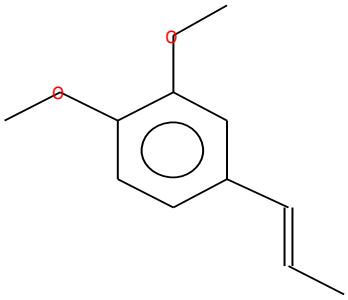
Continua…



Germacreno D



Anetol



Isoeugenol metil éter

Figura 6.1A Estructuras químicas de moléculas mayoritarias en el aceite esencial de *T. lucida*

LITERATURA CITADA

Abdelgaleil, S. a. M., Abdel-Razeek, N., & Soliman, S. a. (2009). Herbicidal activity of three sesquiterpene lactones on wild oat (*Avena fatua*) and their possible mode of action. *Weed Science*, *57*(1), 6–9. http://doi.org/10.1614/WS-08-093.1

Adams, R. P. (2001). Identification of Essential Oils Components by Gas Chromatography/Quadrupole. Mass Spectroscopy. Allured Publishing Crop. Carol Stream, IL. Pp. 468-572.

Adekunle, O. K. A., Acharya, R., & Singh, B. (2007). Toxicity of pure compounds isolated from *Tagetes minuta* oil to *Meloidogyne incognita*. *Australasian Plant Pathology Society*, *2*(Clevenger 1928), 101–104.

Adorjan, B., & Buchbauer, G. (2010). Biological properties of essential oils: An updated review. *Flavour and Fragrance Journal*, *25*(6), 407–426. http://doi.org/10.1002/ffj.2024

Angadi, A. P., & Archana, B. (2014). Genetic variability and correlation studies in bird of Paradise genotypes for flower and yield parameters during 2011. *The Bioscan, 9*(1), 385-388.

Agrios, G. N. (1996). Fitopatología. 2° ed. Ed. Limusa. México. pp. 696-697.

Altieri, M., & Nicholls, C. I. (2000). *Agroecología: Teoría y práctica para una agricultura sustentable*. *Agroecología: Teoría y práctica para una agricultura sustentable* (1st ed., Vol. 1). México, D. F.: Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente.

Ammati, M., Thomason, I. J., & Roberts, P. A. (1985). Screening *Lycopersicon* spp. for new genes impairing resistance to root-knot nematode *Meloidogyne* spp. *Plant Disease, 69*, 112-115.

Andrés, M. F., González-Coloma, A., Sanz, J., Burillo, J., & Sainz, P. (2012). Nematicidal activity of essential oils: A review. *Phytochemistry Reviews*, *11*(4), 371–390. http://doi.org/10.1007/s11101-012-9263-3

Angioni, A., Barra, A., Coroneo, V., Dessi, S., & Cabras, P. (2006). Chemical Composition, Seasonal Variability, and Antifungal Activity of *Lavandula stoechas* L. ssp. stoechas Essential Oils from Stem/Leaves and Flowers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *54*(12), 4364–4370. http://doi.org/10.1021/jf0603329

Anonymous (1938). Oil of *Tagetes lucida* Cav. *Parfums France, 16*, 28. From NAPRALERT Database.

Anuja, S., & Jahnavi, K. (2012). Variability, heritability and genetic advance studies in French Marigold (*Tagetes patula* L.). *The Asian Journal of Horticulture*, *7*(2), 362–364.

Aparicio, O. G., Márquez, M. B., & Montes, B. R. (1989). Efecto directo de la urea y el sulfato de amonio sobre el segundo estadio larvario (J2) de *Nacobbus aberrans* bajo condiciones de laboratorio. Memorias del XVI Congreso Nacional de Fitopatologiía, Montecillo, México. 179 p.

Ávalos, G. A., & Pérez- Urria, C. E. (2009). Metabolismo secundario de plantas. Reduca (Biología). *Serie Fisiología Vegetal, 2*(3), 119-145.

Baena, D., Vallejo, D. A., & Estrada, E. I. (2003). Avance general y selección de líneas promisorias de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) tipo chonto y milano. *Acta agronómica, 5,* 1-9.

Bajalan, I., & Pirbalouti, A. G. (2015). Variation in chemical composition of essential oil of populations of *Lavandula* × *intermedia* collected from Western Iran. *Industrial Crops and Products*, *69*, 344–347. http://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.02.049

Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*, *46*(2), 446–475. http://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106

Balick, M. J., & Cox, P. A. (1996). Plants, People and Culture: The Science of Ethnobotany. Scientific American Library, New York. 228 p.

Basile, A., Senatore, F., Gargano, R., Sorbo, S., Del Pezzo, M., Lavitola, A., & Vuotto, M. L. (2006). Antibacterial and antioxidant activities in *Sideritis italica* (Miller) Greuter et Burdet essential oils. *Journal of Ethnopharmacology*, *107*(2), 240–248. http://doi.org/10.1016/j.jep.2006.03.019

Belousov, M. B., Dembitski, A. D., Brezovskaya, T. P., & Tikhonov, V. N. (1995). Comparative characterization of essential oils from species of the genus *Rhododendron* L. subgenus *Rhodorastrum* (Maxim.) Drude. *Rastitel'nye Resursy, 31*(4), 41-44.

Bernath, J. (2009). Aromatic plants. Pp. 329-352. *In:* Fuleky G. (ed.). Cultivated Plants, Primarily as Food Sources. Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS). Volume Paris, France.

Betts, T. J. (2001). Chemical characterization of the different types of volatile oil constituents by various solute retention ratios with the use of conventional and novel commercial gas chromatographic stationary phases. *Journal of Chromatography A*, *936*(1-2), 33–46. http://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)01284-5

Bezic, N., Skocibusic, M., & Dunkic, V. (2005). Phytochemical composition and antimicrobial activity of. *Acta Botanica Croatia*, *64*(2), 313–322.

Bicchi, C., Fresia, M., Rubiolo, P., Monti, D., Franz, C., & Goehler, I. (1997). Constituents of *Tagetes lucida* Cav. *ssp.lucida* essential oil. *Flavour and Fragrance Journal*, *12*(1), 47–52. http://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1026(199701)12:1<47::AID-FFJ610>3.0.CO;2-7

Boada, M., Toledo, V. M. (2003). El planeta, Nuestro Cuerpo, la Ecología, el Ambientalismo y la Crisis de la Modernidad. Fondo de Cultura Económica. México. 240 p.

Bonikowski, R., Sikora, M., Kula, J., & Kunicka, A. (2009). Thienyl analogues of acyclic monoterpene alcohols and their biological activity. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *89*(12), 2088–2095. http://doi.org/10.1002/jsfa.3696

Bourne, J. ., & Kerry, B. . (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 Biology and Biochemistry*, *31*(1), 75–84. http://doi.org/10.1016/S0038-0717(98)00107-2

Brenes, A., & Roura, E. (2010). Essential oils in poultry nutrition: Main effects and modes of action. *Animal Feed Science and Technology*, *158*(1-2), 1–14. http://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2010.03.007

Bruni, R., Medici, A., Andreotti, E., Fantin, C., Muzzoli, M., Dehesa, M., & Sacchetti, G. (2004). Chemical composition and biological activities of Ishpingo essential oil, a traditional Ecuadorian spice from *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm. (Lauraceae) flower calices. *Food Chemistry*, *85*(3), 415–421. http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.07.019

Bye, R., & Linares, E. (2013). Códice de la Curz-Badiano. *Arqueología Mexicana. Edición especial, 51*, 52-53.

Caballero, J., & Mapes, C. (1987). Etnobotanica y Desarrollo: La Búsqueda de Nuevos Recursos Vegetales. Pp. 70-96. In: Toledo, V. M. (ed.). Hacia una Etnobotánica Latinoamericana. Asociación Latinoamericana de Botánica, Bogotá, Colombia.

Cabrera, H. A. De J. (2014). *Nacobbus aberrans* en cultivos hortícolas del centro del bajío, México: Distribución, abundancia y caracterización molecular. Tesis de Doctorado. Colegio de Posgraduados. Montecillo. México. 165 p.

Cáceres, A., Alvarez, A. V., Ovando, A. E., & Samayoa, B. E. (1991). Plants used in guatemala for the treatment of respiratory diseases. 1. Screening of 68 plants against gram-positive bacteria. *Journal of Ethnopharmacology*, *31*(2), 193–208. http://doi.org/10.1016/0378-8741(91)90005-X

Cáceres, A., Jáuregui, E., López, B., & Logemann, H. (1992). Actividad Antifúngica de Plantas de Uso Medicinal en Guatemala. Cuadernos DIGI 7-92. Dirección General de Investigación- Unidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.

Calderón De R. G., & Rzedowski, J. (2005). Flora fanerogámica del Valle de México. 2ª ed. Instituto de Ecología, A.C y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Pátzcuaro (Michoacán). 1406 p.

Calixto, J. B. (2005). Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America. *Journal of Ethnopharmacology*, *100*(1-2), 131–134. http://doi.org/10.1016/j.jep.2005.06.004

Camarillo, D. R. G., Serrato, C. M. A., & Barajas, P. J. S. (2008). Efecto del aceite esencial de *Tagetes lucida* Cav. contra araña roja (*Tetranychus* sp.). XI *Congreso Internacional en Ciencias Agricolas*. Mexicali, Baja California, 23 y 24 de Octubre.

Canto, S. M. (1987). Los nematodos y la producción de papa. Pp. 193-212. In: El cultivo de papa con énfasis en la producción de semilla. Programa de Investigaciones y Proyección Social en Papa. Universidad Nacional Agraria "La Molina". Lima, Perú.

Carvajal, D., Alvarez, R., & Osorio, E. (2016). Chemical variability of essential oils of *Protium colombianum* from two tropical life zones and their in vitro activity against isolates of *Fusarium*. *Journal of Pest Science*, *89*(1), 241–248. http://doi.org/10.1007/s10340-015-0667-x

Cases, C. M. A. (2007). Jornadas técnicas dedicadas a plantas: fomento y desarrollo de la producción y transformación. *In: Las Plantas Aromáticas y Medicinales: Descripción de las EspeciesFundamenteales, Principios Activos* (pp. 11–19). Guadalajara: Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA).

CATIE Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, Proyecto Regional de Manejo Integrado de Plagas (1990). *Guía para el manejo integrado de plagas del cultivo de tomate*. Serie Técnica. Informe Técnico no. 151. Costa Rica, 138 p.

Castaño, J. (1998). Prácticas de Laboratorio de Fitopatología. 2 ed. Manizales. Universidad de Caldas. 103 p.

Cavaleiro, C., Pinto, E., Goncalves, M. J., & Salgueiro, L. (2006). Antifungal activity of Juniperus essential oils against dermatophyte, *Aspergillu*s and *Candida strains*. *Journal of Applied Microbiology*, *100*(6), 1333–1338. http://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2006.02862.x

Céspedes, C. L., Avila, J. G., Martínez, A., Serrato, B., Calderón-Mugica, J. C., & Salgado-Garciglia, R. (2006). Antifungal and Antibacterial Activities of Mexican Tarragon(*Tagetes lucida*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *54*, 3521–3527. Retrieved from C:\Documents and Settings\Ricardo Ceballos\Escritorio\Varios\Base de datos\Mis Papers in ACS

Céspedes, C. L., & Alarcon, J. (2011). Biopesticidas de origen botánico, fitoquímicos y extractos de Celastraceae, Rhamnaceae y Scrophulariaceae. *Boletin Latinoamericano Y Del Caribe de Plantas Medicinales Y Aromaticas*, *10*(3), 175–181.

Chaiyasit, D., Choochote, W., Rattanachanpichai, E., Chaithong, U., Chaiwong, P., Jitpakdi, A., & Pitasawat, B. (2006). Essential oils as potential adulticides against two populations of *Aedes aegypti*, the laboratory and natural field strains, in Chiang Mai province, northern Thailand. *Parasitology Research*, *99*(6), 715–721. http://doi.org/10.1007/s00436-006-0232-x

Chamorro, E. R., Ballerini, G., Sequeira, A. F., Velasco, G. A., & Zalazar, M. F. (2008). Chemical composition of essential oil from *Tagetes minuta* L. leaves and flowers. *Journal of the Argentine Chemical Society*, *96*(1-2), 80–86. Retrieved from \\Robsrv-05\reference manager\Articles\12501.pdf

Chang, K.-M., Choi, E.-M., & Kim, G.-H. (2011). Effect of selected aromatic medicinal plant sancho (*Zanthoxylum schinifolium*) on osteoblastic MC3T3-E1 cells. *Food Science and Biotechnology*, *20*(5), 1441–1444. http://doi.org/10.1007/s10068-011-0198-z

Cheng, S.-S., Chang, H.-T., Chang, S.-T., Tsai, K.-H., & Chen, W.-J. (2003). Bioactivity of selected plant essential oils against the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* larvae. *Bioresource Technology*, *89*(1), 99–102. http://doi.org/10.1016/S0960-8524(03)00008-7

Cheng, S.-S., Chang, H.-T., Wu, C.-L., & Chang, S.-T. (2007). Anti-termitic activities of essential oils from coniferous trees against *Coptotermes formosanus*. *Bioresource Technology*, *98*(2), 456–459. http://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.01.006

Choi, W.-I., Lee, E.-H., Choi, B.-R., Park, H.-M., & Ahn, Y.-J. (2003). Toxicity of Plant Essential Oils to <I>*Trialeurodes vaporariorum*</I> (Homoptera: Aleyrodidae). *Journal of Economic Entomology*, *96*(5), 1479–1484. http://doi.org/10.1603/0022-0493-96.5.1479

Chou, G. X. & Zhou, R. H. (1998). The variation and archetypes of the essential oil components in wild *Mentha haplocalyx* Briq. In China. *Journal of Plant Resources and Environment, 7*(3), 13-18.

Cicció, J. F. (2004). A source of almost pure methyl chavicol: Volatile oil from the aerial parts of *Tagetes lucida* (Asteraceae) cultivated in Costa Rica. *Revista de Biologia Tropical*, *52*(4), 853–857.

Cid del P. V. I. (1985). Ciclo de vida de Nacobbus aberrans (Thorne, 1935) Thorne y Allen, 1994. Pp. 57-65. *In*: Marban, N. T., Tomson, J. I. (eds). *Fitonematología Avanzada I.* Colegio de Postgraduados. Montecillo, Edo. México.

Cid del P. V. I. (1986). Morphological study of Nacobbus spp. including four populations from Mexico using SEM. *Journal of Nematology 18*, 603.

Cid del Prado, V. I., Manzanilla, L. R. H., Cristóbal, A. J. & Franco, A. G. E. (1995). Evaluación de algunas estrategias para el manejo de *Nacobbus aberrans* en el cultivo de jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). pp. 175-177. *In*: Tovar, J. C., Cárdenas, S. E.,& Alatorre R. R. (eds.). Avances en la Investigación. Instituto de Fitosanidad. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Edo. México. 266 p.

Cid del P. V. I., Evans, I. K., Manzanilla, L. R. H., Cristóbal, J. C., & Franco, A. G. E. (1996). Evaluación de algunas estrategías para el manejo de *Nacobbus aberrans* en el cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Revista Mexicana de Fitopatología*. Resumen. Congreso Nacionel de Fitopatología, Guadalajara, Jalisco, México.

Conabio. (1998). *La Diversidad Biológica de México: Estudio de País*. México, D. F.: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. 342 p.

CONAGUA Comisión Nacional del Agua. (2012). Red de estaciones climatológicas. Atlas Digital del Agua México 2012. Sistema Nacional de Información del Agua. En: http://www.conagua.gob.mx (Consulta en diciembre de 2015).

De Feo, V., Della Porta, G., Urrunaga Soria, E., Urrunaga Soria, R., & Senatore, F. (1998). Composition of the essential oil of *Tagetes filifolia* Lag. *Flavour and Fragrance Journal*, *13*(3), 145–147. http://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1026(199805/06)13:3<145::AID-FFJ707>3.0.CO;2-Q

Dhangar, D. S., Gupta, D. C., & Jain, R. N. (2002). Studies on intercropping of marigold (*Tagetes* sp.) with brinjal on plant growth and population of root-knot nematodoes (*Meloidogyne javanica*). *Indian Journal of Nematology*, 32, 220-221.

Dharmagadda, V. S. S., Naik, S. N., Mittal, P. K., & Vasudevan, P. (2005). Larvicidal activity of *Tagetes patula* essential oil against three mosquito species. *Bioresource Technology*, *96*(11), 1235–1240. http://doi.org/10.1016/j.biortech.2004.10.020

Discover Life (2014) en: http://www.discoverlife.org/mp/20m?act=make_map (Consulta en Septiembre de 2014).

Díaz-Cedillo, F. Serrato-Cruz, M. A. (2011). Composición del aceite esencial de *Tagetes parryi* A . GRAY. *Revista Fitotecnia Mexicana*, *34*(2), 145–148.

Diaz-Cedillo, F., Serrato-Cruz, M. A., de la Cruz-Marcial, J., Sanchez-Alonso, M. G., & Lopez-Morales, V. (2013). Compuestos mayoritarios del aceite esencial en organos de una poblacion de *Tagetes coronopifolia* Willd. *Revista Fitotecnia Mexicana*, *36*(4), 405–411.

Dixon, R. A. (2001). Natural products and plant disease resistance. *Nature Journal Online, 411,* 843-47.

Djerrad, Z., Kadik, L., & Djouahri, A. (2015). Chemical variability and antioxidant activities among *Pinus halepensis* Mill. essential oils provenances, depending on geographic variation and environmental conditions. *Industrial Crops and Products*, *74*, 440–449. http://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.05.049

Downum, K. R., & Towers, G. H. N. (1983). Analysis of Thiophenes in the *Tagetes* (Asteraceae) by HPLC. *Journal of Natural Products*, 98–103. http://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004

Dudareva, N., Negre, F., Nagegowda, D. a, & Orlova, I. (2006). Plant Volatiles: Recent Advances and Future Perspectives. *Critical Reviews in Plant Sciences*, *25*, 417–440. http://doi.org/10.1080/07352680600899973

Duke, J. (2009). USDA Phytoche mical and Ethnobotanical databases. http://www.ars-grin.gov/duke/Plants.html. (Consulta en septiembre de 2015).

El-Baky, H. H. A., & El-Baroty, G. S. (2008). Chemical and biological evaluation of the essential oil of Egyptian moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L). *International Journal of Integrative Biology*, *3*(3), 202–208.

Estrada, L. E. I. J., Hernández, X. E., Rojas, R. T., Engleman, E. M., & Casian, M. M. A. (1988). Códice Florentino: su información etnobotánica. *Agrociencia 71*, 275-286.

Faizi, S., Fayyaz, S., Bano, S., Yawar Iqbal, E., Siddiqi, H., & Naz, A. (2011). Isolation of Nematicidal Compounds from *Tagetes patula* L. Yellow Flowers: Structure–Activity Relationship Studies against Cyst Nematode *Heterodera zeae* Infective Stage Larvae. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *59*(17), 9080–9093. http://doi.org/10.1021/jf201611b

Faizi, S., & Naz, A. (2002). Jafrine, a novel and labile B-carboline alkaloid from the flowers of *Tagetes patula*. *Tetrahedron*, *58*, 6185–6197.

Faizi, S., Siddiqi, H., Bano, S., Naz, A., Lubna, Mazhar, K., & Khan, S. A. (2008). Antibacterial and Antifungal Activities of Different Parts of *Tagetes patula*: Preparation of Patuletin Derivatives. *Pharmaceutical Biology*, *46*(5), 309–320. http://doi.org/10.1080/13880200801887476

Fernández, A. A. (2006). Las plantas aromáticas y medicinales PAM , un potencial con gran necesidad de reorientación. *Estudios Agrosociales Y Pesqueros*, *7*, 177–214.

Figueiredo, A. C., Barroso, J. G., Pedro, L. G., & Scheffer, J. J. C. (2008). Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. *Flavour and Fragrance Journal*, *23*(4), 213–226. http://doi.org/10.1002/ffj.1875

Flores-Camacho, R., Manzanilla-López, R. H., Prado-Vera, I. C., & Martínez-Garza, A. (2007). Control de *Nacobbus aberrans* (Thorne) Thorne y Allen con *Pochonia chlamydosporia* (Goddard) Gams y Zare. *Revista Mexicana de Fitopatologia*, *25*(1), 26–34.

FAOSTAT Food and Agriculture Organization of the United Nations: Estadísticas de producción de cultivos. (2012). En : http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx (Consulta Octubre de 2015).

FAOSTAT. (2010). Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación (FAO). Top de exportaciones de tomate 2008. FAO. Roma, Italia. En: http://faostat.fao.org/DesktopDefault.aspx?PageID=342&lang=es. (Consulta en Octubre de 2015).

FND Financiera Nacional de Desarrollo Agropecuario, Rural, Forestal y Pesquero (2014). En: http://www.financierarural.gob.mx/informacionsectorrural/Panoramas/Panorama%20Jitomate%20(abr%202014).pdf (Consulta en Octubre de 2015).

Formisano, C., Delfine, S., Oliviero, F., Tenore, G. C., Rigano, D., & Senatore, F. (2015). Correlation among environmental factors, chemical composition and antioxidative properties of essential oil and extracts of chamomile (Matricaria chamomilla L.) collected in Molise (South-central Italy). *Industrial Crops and Products*, *63*, 256–263. http://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.09.042

Franco, J., & Main, G. (2002). Desinfección de tubérculos-semilla de papa infectados con Nacobbus aberrans utilizando productos químicos en aspersión a ultra bajo volumen. *Revista Latinoamerica de La Papa*, *13*, 41–51.

Franz, C., & Novak, J. (2010). Sources of Essential Oils. pp. 39-81. *In:* Handbook of Essential Oils: Science, Technology and Applications. K. H. C. Baser, G. Buccbauer (eds). CRC Press Taylor & Francis Group. The United States of America . 975 p.

FUNDAQUIM, Red Propymed, URM. TEC, Fundasol, Cooperación Técnica Alemana (GTZ) (Eds.). (2005). Aportes para el desarrollo del sector de plantas medicinales y aromáticas en el Uruguay. Montevideo, Uruguay, Noviembre 2004. 134 p.

García de León, S., & Mier, T. (2010). Visión general de la producción y aplicación de bioplaguicidas en méxico. *Sociedades Rurales, Producción Y Medio Ambiente*, *10*(20), 37–63.

García-Sánchez, F., López-Villafranco, E., Aguilar-Rodríguez, S., & Aguilar-Contreras, A. (2012). Etnobotánica y morfo-anatomía comparada de tres especies de *Tagetes* que se utilizan en Nicolás Romero, Estado de México. *Botanical Sciences*, *90*(3), 221–232.

Gil, A., Ghersa, C., & Leicach, S. (2000). Essential oil yield and composition of *Tagetes minuta* accessions from Argentina. *Biochemical Systematics and Ecology*, *28*(3), 261–274. http://doi.org/10.1016/S0305-1978(99)00062-9

Godinez-Vidal, D., Soto-Hernández, M., Rocha, S. M., Lozoya-Gloria, E., Rojas-Martínez, R. I., Guevara, O. L., & Zavaleta-Mejía, E. (2010). Contenido de capsidiol en raíces de chile CM-334 infestadas por *Nacobbus aberrans* y su efecto en juveniles del segundo estadio. *Nematropica*, *40*(2), 227–237.

Google Earth Pro. 2013. Software.

Gómez, R. O., Valencia, A. M., & Castillo, D. (1987). *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson, como posible agente de control biológico para *Fusarium oxysporum* (Schl) f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder y Hansen y *Nacobbus aberrans* (Thorne y Allen) Sher, 1971 en tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Memorias del XIV Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología. Morelia, Michoacán, México. Resumen. p. 67.

Gómez, T. L., & Gómez, C. M. (2004). La agricultura orgánica en México y en el mundo. *CONABIO-Biodiversitas*, *55*, 13–15.

Gonçalves, M. J., Cruz, M. T., Tavares, A. C., Cavaleiro, C., Lopes, M. C., Canhoto, J., & Salgueiro, L. (2012). Composition and biological activity of the essential oil from *Thapsia minor,* a new source of geranyl acetate. *Industrial Crops and Products*, *35*(1), 166–171. http://doi.org/10.1016/j.indcrop.2011.06.030

Gonçalves, M. J., Cruz, M. T., Cavaleiro, C., Lopes, M. C., & Salgueiro, L. (2010). Chemical, antifungal and cytotoxic evaluation of the essential oil of *Thymus zygis* subsp. sylvestris. *Industrial Crops and Products*, *32*(1), 70–75. http://doi.org/10.1016/j.indcrop.2010.03.005

González, A. G., Jiménez, I. A., Ravelo, A. G., & Bazzocchi, I. L. (1993). Minor sesquiterpenes from *Maytenus canariensis* with insecticidal and antifeedant activity. *Tetrahedron*, *49*(30), 6637–6644. http://doi.org/10.1016/S0040-4020(01)81833-0

González, A., & Canto-Sáenz, M. (1993). Comparación de cinco enmiendas organicas en el control de *Globodera pallida* en microparcelas en Perú. *Nematropica*, *23*(3), 133–139.

Gonzalez-Coloma, A., Reina, M., Cabrera, R., Castañera, P., & Gutierrez, C. (1995). Antifeedant and toxic effects of sesquiterpenes from Senecio palmensis to colorado potato beetle. *Journal of Chemical Ecology*, *21*(9), 1255–1270. http://doi.org/10.1007/BF02027560

González-Coloma, A., Delgado, F., Rodilla, J. M., Silva, L., Sanz, J., & Burillo, J. (2011). Chemical and biological profiles of *Lavandula luisieri* essential oils from western Iberia Peninsula populations. *Biochemical Systematics and Ecology*, *39*(1), 1–8. http://doi.org/10.1016/j.bse.2010.08.010

González, G. J. G., Vázquez, G. M., Ruiz, L. M. A., & Vázquez, G. J. A. (2011). El género *Salvia* y sus aceites esenciales. Pp. 193-200. In: Rodríguez, H. C., López, O. J. F., Aragón, G. A. *Alternativas ecológicas contra plagas*. Colegio de Postgraduados y Benemérita Universidad e Puebal. Montecillo, Texcoco, Edo. de México.

González, G. A. (2014). Incidencia de nematodos (*Nacobbus aberrans*) en jitomate (*Solanum Lycopersicum* var. Río Grande) asociado con sonajilla (*Tagetes coronopifolia*) y aplicación de aceite esencial. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo, Texcoco. 77p.

Grandillo, S., Ku, H. M., & Tanksley, S. D. (1999). Identifying the loci responsible for natural variation in fruit size and shape in tomato. *TAG Theoretical and Applied Genetics*, *99*(6), 978–987. http://doi.org/10.1007/s001220051405

Green, M. M., Singer, J. M., Sutherlans, D. J., & Hibbern, C. R. (1991). Larvicidal activity of *Tagetes minuta* (marigold) toward *Aedes aegypti. Journal of the American Mosquito Control Association, 7*(2), 282-286.

Green, M. M., Singer, J. M., Sutherland, D. J., & Hibben, C. R. (1993). Larvicidal activity of *Tagetes minuta* (marigold) toward *Aedes aegypty*. *Journal of the American Mosquito Control Association, 7*(2), 282-286.

Greathead, H. (2003). Plants and plant extracts for improving animal productivity. *Proceedings of the Nutrition Society, 62*, 279-290.

Gros, E. G. (1985) Introducción al estudio de los productos naturales. Monografía No 30. Secretaría General de la Organización de los Estados Americanos. Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico, Washington, D.C., EEUU. 146 p.

Gutiérrez-Ramírez, A., Robles-Bermúdez, A., Santillán-Ortega, C., Ortíz-Catón, M., & Cambero-Campos, O. J. (2013). Control biológico como herramienta sustentable en el manejo de plagas y su uso en el estado de Nayarit, México. *Revista Bio Ciencias*, *2*(3), 102–112.

Guzmán, S. A., Manjarréz, M. A. (1962). Estudio del aceite esencial de *Tagetes frolida*. *Instituto de química de la Universidad Nacional Autónoma de México 14*, 48-54.

Guzmán, P. O. A., Castaño, Z. J., & Sánchez, P. M. (2013). Estudio preliminar del efecto de microorganismos benéficos sobre el tomate (*Solanum lycopersicum* L.) y el nematodo del nudo radical (*Meloidogyne* spp.). *Revista Agronomía*, *21*(2), 51–64.

Hadipanah, A., Golparvar, A. R., Mehrabi, A. M., & Jafarpour, M. (2015). Identification of the volatile composition of *Stachys lavandulifolia* Vahl. and *Salvia spinosa* L. in Isfahan climatic conditions. *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences*, *6*(6), 187–193.

Hadisoeganda, W. W., & Sasser, J. N. (1982). Resistance of Tomato, Bean, Southern Pea, and Garden Pea Cultivars to Root-Knot Nematodes Based on Host Suitability. *Plant Disease*, *66*(1), 145–150. http://doi.org/10.1094/PD-66-145

Hammer, K. A., Carson, C. F., & Riley, T. V. (2002). In vitro activity of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil against dermatophytes and other filamentous fungi. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *50*(2), 195–199. http://doi.org/10.1093/jac/dkf112

Herraiz-Peñalver, D., Usano-Alemany, J., Cuadrado, J., Jordan, M. J., Lax, V., Sotomayor, J. A., & Palá-Paúl, J. (2010). Essential oil composition of wild populations of *Salvia lavandulifolia* Vahl. from Castilla-La Mancha (Spain). *Biochemical Systematics and Ecology*, *38*(6), 1224–1230. http://doi.org/10.1016/j.bse.2010.10.015

Harris, A. R., & Ferris, H. (1991). Interactions between *Fusarium oxysporum* f. sp. tracheiphilum and *Meloidogyne* spp. in *Vigna unguiculata*. 1. Effects of different inoculum densities on *Fusarium wilt*. *Plant Pathology*, *40*(3), 445–456. http://doi.org/10.1111/j.1365-3059.1991.tb02403.x

Hassiotis, C. N., Ntana, F., Lazari, D. M., Poulios, S., & Vlachonasios, K. E. (2014). Environmental and developmental factors affect essential oil production and quality of *Lavandula angustifolia* during flowering period. *Industrial Crops and Products*, *62*, 359–366. http://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.08.048

Hierro, I., Valero, A., Pérez, P., González, P., Cabo, M. M., Montilla, M. P., & Navarro, M. C. (2004). Action of different monoterpenic compounds against *Anisakis simplex* s.l. L3 larvae. *Phytomedicine*, *11*(1), 77–82. http://doi.org/10.1078/0944-7113-00375

Hernández, A. J. (2001). Respuesta de genotipos de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) a *Nacobbus aberrans*. Tesis de Maestría. Instituto de Fitosanidad. Colegio de Posgraduados. Montecillo. México. 75 p.

Hernández, T., Canales, M., Flores, C., García, A. M., Durán, A., & Avila, J. G. (2006). Antimicrobial Activity of *Tagetes lucida* . *Pharmaceutical Biology*, *44*(1), 19–22. http://doi.org/10.1080/13880200500509157

Hernández-Juárez, A., Cepeda-Siller, M., Gallegos-Morales, G., Chacón-Hernández, J. C., Ordaz-Silva, S., & González-Ruíz, A. (2015). Actividad nematicida de productos orgánicos comerciales, contra *Ditylenchus dipcasi* (Tylenchida: Anguinidae) bajo condiciones de laboratorio. *Revista Mexicana de Ciencias Agricolas*, *16 de mayo*(11), 2247–2252.

Holley, R. A., & Patel, D. (2005). Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. *Food Microbiology*, *22*(4), 273–292. http://doi.org/10.1016/j.fm.2004.08.006

Huang, M., Sanchez-Moreiras, A. M., Abel, C., Sohrabi, R., Lee, S., Gershenzon, J., & Tholl, D. (2012). The major volatile organic compound emitted from *Arabidopsis thaliana* flowers, the sesquiterpene (E)-β-caryophyllene, is a defense against a bacterial pathogen. *New Phytologist*, *193*(4), 997–1008. http://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2011.04001.x

INEGI Instituto Nacional de Geografía y Estadística. (2000). Modelo Digital de Elevaciones. INEGI, México. En: http://www.inegi.org.mx (Consulta en enero de 2016).

INEGI Instituto Nacional de Geografía y Estadística. (2001). Datos vectoriales edafológicos. Escala 1: 250 000. INEGI, México. En: http://www.inegi.org.mx (Consulta en enero de 2016).

INEGI Instituto Nacional de Geografía y Estadística. (2001). Datos vectoriales de provincias y subprovincias fisiograficas. Escala 1: 1 000 000. En: http://www.inegi.org.mx (Consulta en enero de 2016).

INEGI Instituto Nacional de Geografía y Estadística (2007). Panorama agropecuario en México. Censo Agropecuario 2007. 38p.

INEGI Instituto Nacional de Geografía y Estadística; CONABIO Comisiona Nacional para el Conovimiento y Uso de la Biodiversidad; INE Instituto Nacional de Ecología. (2008). Datos vectoriales de ecorregiones terrestres de México. Escala 1: 1 000 000. INEGI; CONABIO; INE. México. En http://www.inegi.org.mx (Consulta en enero de 2016).

Isman, M. B. (2000). Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection*, *19*(8-10), 603–608. http://doi.org/10.1016/S0261-2194(00)00079-X

Ismail, R. F., Kandeel, A. M., Ibrahim, A. K., & Omer, E. A. (2013). Effect of planting date and plant spacing on growth, yield and essential oil of Mexican marigold (*Tagetes lucida* L.) cultivated in Egypt. *Journal of Applied Sciences Research*, *9*(1), 330–340.

Isman, M. B., & Machial, C. M. (2006). Pesticides based on plant essential oils: from traditional practice to commercialization. *In* M. Rai & M. C. Carpinella (eds.), Naturally Occurring Bioactive Compounds (1st ed., Vol. 3, p. 502). Elsevier, B. V.

Janmaat, A. F., Kogel, W. J. de, & Woltering, E. J. (2002). Enhanced fumigant toxicity of p-cymene against Frankliniella occidentalis by simultaneous application of elevated levels of carbon dioxide. *Pest Management Science*, *58*(2), 167–173. http://doi.org/10.1002/ps.432

Jaenson, T. G. T., Pålsson, K., & Borg-Karlson, A.-K. (2006). Evaluation of Extracts and Oils of Mosquito (Diptera: Culicidae) Repellent Plants from Sweden and Guinea-Bissau. *Journal of Medical Entomology*, *43*(1), 113–119. http://doi.org/10.1603/0022-2585(2006)043[0113:EOEAOO]2.0.CO;2

Karousou, R., Koureas, D. N., & Kokkini, S. (2005). Essential oil composition is related to the natural habitats: Coridothymus capitatus and Satureja thymbra in NATURA 2000 sites of Crete. *Phytochemistry*, *66*(22), 2668–2673. http://doi.org/10.1016/j.phytochem.2005.09.020

Kéïta, S. M., Vincent, C., Schmit, J.-P., Ramaswamy, S., & Bélanger, A. (2000). Effect of various essential oils on *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*, *36*(4), 355–364. http://doi.org/10.1016/S0022-474X(99)00055-7

Koeduka, T., Sugimoto, K., Watanabe, B., Someya, N., Kawanishi, D., Gotoh, T., & Hiratake, J. (2014). Bioactivity of natural O -prenylated phenylpropenes from *Illicium anisatum* leaves and their derivatives against spider mites and fungal pathogens. *Plant Biology*, *16*(2), 451–456. http://doi.org/10.1111/plb.12054

Koenning, S. R., Overstreet, C., Noling, J. W., Donald, P. A., Becker, J. O., & Fortnum, B. A. (1999). Survey of crop losses in response to phytoparasitic nematodes in the United States for 1994. *Journal of Nematology*, *31*(4S), 587–618. Retrieved from http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2620402&tool=pmcentrez&rendertype=abstract

Koul, O., Walia, S., & Dhaliwal, G. S. (2008). Essential oils as green pesticides: Potential and constraints. *Biopesticides International*, *4*(1), 63–84.

Kossmann, I. (199). Recursos genéticos y derechos comunitarios. *Raíces 21*(X), 4-9.

Krishan, A., Mallavarapu, G. R., Kumar, S., & Ramesh, S. (2002). Volatile oil constituents of the capitula and shoots of *Tagetes patula* L. *Journal of Essential Oil Research, 14*(6), 433-436.

Krishna, A., Prajapati, V., Bhasney, S., Tripathi, A. K., & Kumar, S. (2005). Potential toxicity of new genotypes of *Tagetes* (Asteraceae) species against stored grain insect pests. *International Journal of Tropical Insect Science*, *25*(02), 122–128. http://doi.org/10.1079/IJT200560

Kumar, N. U. S., Krishnappa, K., Reddy, B. M. R., Ravichandra, N. G. (2005). Intercropping for the management of root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* in vegetables based cropping systems. *Indian Journal of Nematology*, 35, 46-49.

Kurtulmus, A., Fafal, T., Mert, T., Saglam, H., Kivcak, B., Ozturk, T., & Baser, K. H. C. (2009). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of three *Anthemis* species from Turkey. *Chemistry of Natural Compounds*, *45*(6), 900–904.

Kyarimpa, C. M., Böhmdorfer, S., Wasswa, J., Kiremire, B. T., Ndiege, I. O., & 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. http://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.09.006

Lahlou, M. (2004). Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research*, *18*(6), 435–448. http://doi.org/10.1002/ptr.1465

Lamiri, A., Lhaloui, S., Benjilali, B., & Berrada, M. (2001). Insecticidal effects of essential oils against *Hessian fly*, Mayetiola destructor (Say). *Field Crops Research*, *71*(1), 9–15. http://doi.org/10.1016/S0378-4290(01)00139-3

Lampkin, N. (1998). Agricultura Ecológica. Ediciones Mundi-Prensa. España. 724 p.

Lange, B. M., & Ahkami, A. (2013). Metabolic engineering of plant monoterpenes, sesquiterpenes and diterpenes-current status and future opportunities. *Plant Biotechnology Journal*, *11*(2), 169–196. http://doi.org/10.1111/pbi.12022

Lax, P., Becerra, A. G., Soteras, F., Cabello, M., & Doucet, M. E. (2011). Effect of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* on the false root-knot nematode *Nacobbus aberrans* in tomato plants. *Biology and Fertility of Soils*, *47*(5), 591–597. http://doi.org/10.1007/s00374-010-0514-4

Lax, P., Rondan Dueñas, J. C., Gardenal, C. N., & Doucet, M. E. (2014). Phylogenetic relationships among populations of the *Nacobbus aberrans* (Nematoda, Pratylenchidae) complex reveal the existence of cryptic species. *Zoologica Scripta*, *43*(2), 184–192. http://doi.org/10.1111/zsc.12043

Lim, T. K. (2014). *Edible Medicinal And Non-Medicinal Plants* (Vol. 7). Dordrecht: Springer Netherlands. http://doi.org/10.1007/978-94-007-7395-0

Llácer, G., López, M. M., Trapero, A., Bello, A. (1996). Patología Vegetal. Tomo II. Mundi-Prensa. Madrid. 1165 p.

López, S. B., López, M. L., Aragón, L. M., Tereschuk, M. L., Slanis, A. C., Feresin, G. E., & Tapia, A. A. (2011). Composition and Anti-insect Activity of Essential Oils from *Tagetes* L. Species (Asteraceae, Helenieae) on *Ceratitis capitata* Wiedemann and *Triatoma infestans* Klug. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *59*(10), 5286–5292. http://doi.org/10.1021/jf104966b

Lozoya, X. (1999). Un paraíso de plantas medicinales. *Arqueología Mexicana 7*(39), 14-23.

Macias, A. F., & Galindo, C. G. J. (2001). Terpenoides alelopáticos: estructura, actividad y aplicaiones. Pp. 137-161. *In:* Anaya, A. L., Espinoza, G. F. J., & Cruz, O. R. (Coords.). Relaciones Químicas entre Organismos: Aspectos básicos y perspectivas. Instituto de Ecología. Plaza Valdés S. A. de C. V. México. D. F.

Macedo, I. T. F., Oliveira, L. M. B. de, Camurca-Vasconcelos, A. L. F. Ribeiro, W. L. C., Santos, J. M. L. dos, Morais, S. M. de, Paula, H. C. B. de, & Bevilaqua, C. M. L. (2013). In vitro effects of *Coriandrum sativum, Tagetes minuta, Alpinia zerumbet* and *Lantana camara* essential oils on *Haemonchus contortus*. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, *22*(4), 463–469. Retrieved from http://cbpv.com.br/rbpv/documentos/2242013/rbpv_v2...

Mahboubi, M., & Bidgoli, F. G. (2009). Biological activity of essential oil from aerial parts of *Artemisia aucheri* Boiss . from Iran. *Herba Polonica*, *55*(4), 96–104.

Maffei, M. E. (2010). Sites of synthesis, biochemistry and functional role of plant volatiles. *South African Journal of Botany*, *76*(4), 612–631. http://doi.org/10.1016/j.sajb.2010.03.003

Manzanilla-López, R. H., Costilla, M. A., Doucet, M., Franco, J., Inserra, R. N., Lehman, P. S., & Evans, K. (2002). The Genus *Nacobbus* Thorne & Allen, 1994 (Nematoda: Pratylenchidae): Systematics, distribution, biology and management. *Nematropica*, *32*(2), 149–228.

Mansaray, M. (2000). Herbal remedies-food or medicines?. *Chemistry and Industry, 20*, 677-678.

Marban, M. N. & Zamudio, V. (1982). Control químico de *Nacobbus aberrans* y *Meloidogyne incognita* en tomate (AGE 55 VS) de Tecamachalco Puebla. Avances en la Investigación del Colegio de Postgraduados Montecillo, México. pp. 65-67

Marcano, D., & Hasegawa M. (2002). Fitoquímica orgánica. Universidad Central de Venezuela. Litopar, Caracas, Venezuela, 537 p.

Marotti, M., Piccaglia, R., Biavati, B., & Marotti, I. (2004). Characterization and Yield Evaluation of Essential Oils from Different *Tagetes* Species. *Journal of Essential Oil Research*, *16*(5), 440–444. http://doi.org/10.1080/10412905.2004.9698767

Marotti, I., Marotti, M., Piccaglia, R., Nastri, A., Grandi, S., & Dinelli, G. (2010). Thiophene occurrence in different *Tagetes* species: agricultural biomasses as sources of biocidal substances. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *90*(7), 1210–1217. http://doi.org/10.1002/jsfa.3950

Martínez de la C. J. (s/f). Plagas que atacan a las Hortalizas. Facultad de Agronomía, UANL. Fundación Produce, Nuevo León, A. C. En: http://www.oeidrus-nl.gob.mx/oeidrus/hortalizas/6plagas.pdf (Consulta en octubre de 2015).

Martínez, G. J. (2005). Recolección y Comercialización de Plantas Medicinales en el Departamento Santa María, Provincia de Córdoba, Argentina. *Acta Farma. Bonaerense*, *24*(4), 575–584.

Martínez De la Cerda, J. (s/f). *Plagas que atacan a las hortalizas*. *Universidad Autónoma de Nuevo León*. Nuevo León.

Martínez, F.R. (2007). Cambios químicos e histológicos en raíces de frijol (*Phaseolus vulgaris*) parasitado por el nematodo falso nodulador *Nacobbus aberrans* (Nematoda: *Pratylenchidae*). Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México. México. 184 p.

Masotti, V., Juteau, F., Bessière, J. M., & Viano, J. (2003). Seasonal and Phenological Variations of the Essential Oil from the Narrow Endemic Species *Artemisia molinieri* and Its Biological Activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *51*(24), 7115–7121. http://doi.org/10.1021/jf034621y

Méndez-Tovar, I., Novak, J., Sponza, S., Herrero, B., & Asensio-S-Manzanera, M. C. (2016). Variability in essential oil composition of wild populations of *Labiatae* species collected in Spain. *Industrial Crops and Products*, *79*, 18–28. http://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.10.009

Mendoza-de Gives, P., Zavaleta-Mejia, E., Herrera-Rodriguez, D., Quiróz-Romero, H. (1994). In vitro trapping capability of *Arthrobotrys* spp. on infective larvae of *Haemonchus contortus* and *Nacobbus aberrans*. *Journal of Helminthology, 68*(3), 223-229.

Mendoza, Z. C. (1999). Diagnóstico de Enfermedades fungosas. Universidad Autónoma Chapingo. México. 168 p.

Milka, T., Antoaneta, T. B., Ljuba, E. N., & Daniela, A. V. (2012). Influence of ecological factors on the essential oil composition of *Sideritis scardica* Griseb. *Proceedings of the 7th CMAPSEEC*, *27th-31th*, 63–67.

Miyazawa, M., Nakamura, Y., & Ishikawa, Y. (2000). Insecticidal Sesquiterpene from *Alpinia oxyphylla* against *Drosophila melanogaster*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *48*(8), 3639–3641. http://doi.org/10.1021/jf000325z

Montgomery, D. C. (2004). *Diseño y análisis de experimentos*. *Journal of Chemical Information and Modeling* (2nd ed., Vol. 53). México, D. F.: Editorial Limusa, S. A. de C. V. http://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004

Monzote, L., Montalvo, A. M., Almanonni, S., Scull, R., Miranda, M., & Abreu, J. (2006). Activity of the Essential Oil from *Chenopodium ambrosioides* Grown in Cuba against *Leishmania amazonensis*. *Chemotherapy*, *52*(3), 130–136. http://doi.org/10.1159/000092858

Moon, T., Wilkinson, J. M., & Cavanagh, H. M. A. (2006). Antiparasitic activity of two *Lavandula* essential oils against *Giardia duodenalis*, *Trichomonas vaginalis* and *Hexamita inflata*. *Parasitology Research*, *99*(6), 722–728. http://doi.org/10.1007/s00436-006-0234-8

Mora, V. F. D., Rojas, L. B., Usubillaga, A., Carmona, J., & Bladimiro, S. (2009). Composición química del aceite esencial de *Myrcianthes fragrans* (Sw.) Mc Vaught de los Andes venezolanos. *Revista de La Facultad de Farmacia*, *51*, 20–23.

Moradi, R., Moghaddam, P. R., Mahallati, M. N., & Nezhadali, A. (2011). Effects of organic and biological ferilizers on fruit yield and essential oil of sweet fennel (*Foeniculum vulgare* var. dulce). *Journal of Agricultural Research*, *9*(2), 546–553. http://doi.org/10.5424/http://dx.doi.org/10.5424/sjar/20110902-190-10

Morais, S. M., Cavalcanti, E. S. B., Bertini, L. M., Oliveira, C. L. L., Rodrigues, J. R. B., & Cardoso, J. H. L. (2006). Larvicidal activity of essential oils from Brazilian croton especies against *Aedes aegypti* L. *Journal of the American Mosquito Control Association*, *22*(1), 161–164.

Muñoz, R. M., Altamirano, C. J. R., Carmona, M., Trujillo, F. J. de D., López, C. G., & Cruz, A. A. (1995). Desarrollo de Ventajas Competitivas en la Agricultura: el caso del tomate rojo. Centro de Investigaciones Económicas, Sociales y Tecnológicas de la Agroindustria y la Agricultura Mundial (CIESTAM). Universidad Autónoma Chapingo, México. pp. 4, 15-19.

Muñoz-Bertomeu, J., Arrillaga, I., & Segura, J. (2007). Essential oil variation within and among natural populations of *Lavandula latifolia* and its relation to their ecological areas. *Biochemical Systematics and Ecology*, *35*(8), 479–488. http://doi.org/10.1016/j.bse.2007.03.006

Muñoz, J. D., Staschenko, E., & Ocampo, D. C. B. (2014). Actividad insecticida de aceites esenciales de plantas nativas contra *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Revista Colombiana de Entomatología*, *40*(2), 198–202. Retrieved from http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=fua&AN=102354293&lang=es&site=ehost-live

Muñoz, A., Bottia, E., Cardenas, C. Y., Patiño, J. G., Díaz, O. L., Martínez, J., & Stashenko, E. E. (2007). Estudio comparativo sobre la capacidad de atrapamiento del catión-radical ABTS por los aceites esenciales de especies aromáticas con alto contenido de trans-anetol y estragol. *Scientia Et Technica*, *13*(33), 117–120.

Murga-Gutiérrez, S. N., Alvarado-Ibáñez, J. C., & Vera-Obando, Yessenia, N. (2012). Efecto del follaje de *Tagetes minuta* sobre la nodulación radicular de *Meloidogyne incognita* en *Capsicum annuum*, en invernadero. *Revista Perú Biología*, *19*(3), 257–260.

Natarajan, N., Cork, A., Boomathi, N., Pandi, R., Velavan, S., & Dhakshnamoorthy, G. (2006). Cold aqueous extracts of African marigold, *Tagetes erecta* for control tomato root knot nematode, *Meloidogyne incognita*. *Crop Protection*, *25*(11), 1210–1213. http://doi.org/10.1016/j.cropro.2006.03.008

Nava-Pérez, E., García-Gutiérrez, C., Camacho-Báez, J. R., & Vázquez-Montoya, E. L. (2012). Bioplaguicidas: Una opción para el conrol biológico de Plagas. *Ra Ximhai*, *8*(3), 17–29.

Negi, P. S. (2012). Plant extracts for the control of bacterial growth: Efficacy, stability and safety issues for food application. *International Journal of Food Microbiology*, *156*(1), 7–17. http://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.03.006

Neher, R. T. (1965). *R ep ro d u ced with p erm ission o f the copyright ow ner. Further reproduction prohibited w ithout p erm ission.*

Nerio, L. S., Olivero-Verbel, J., & Stashenko, E. E. (2009). Repellent activity of essential oils from seven aromatic plants grown in Colombia against *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera). *Journal of Stored Products Research*, *45*(3), 212–214. http://doi.org/10.1016/j.jspr.2009.01.002

Nieto, A. R., & Velasco, H. E. (2006). Cultivo de jitomate en Hidroponía en invernadero. 2ª. Ed. *Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo*. 130 p.

Ntalli, N. G., & Caboni, P. (2012). Botanical Nematicides: A Review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *60*(40), 9929–9940. http://doi.org/10.1021/jf303107j

Nyczepir, A. P., & Thomas, S. H. (2009) Current and future management strategies in intensive crop production systems. *In*: Perry, R. N., Moens, M., & Starr, J. L. (eds.). Root-knot nematodes. CABI, United Kingdom, pp 412–443.

Obregón Gómez, M. (2012). Alternativas microbiologicas para el combate de enfermedades, insectos y nematodos en el cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). *In* Z. Pérez (ed.), *Segundo Congreso Nacional del Cultivo de Tomate.* (pp. 13–14).

Farias, G. I. (1994). Identificación de especies medicinales y aromáticas por sus plántulas y frutos. *In VII Congreso Nacional de Recuros Aromáticos y Medicinales*. Argentina (pp. 121-129)

Olivero-Verbel, J., Tirado-Ballestas, I., Caballero-Gallardo, K., & Stashenko, E. E. (2013). Essential oils applied to the food act as repellents toward *Tribolium castaneum*. *Journal of Stored Products Research*, *55*, 145–147. http://doi.org/10.1016/j.jspr.2013.09.003

Omer, E. A., Hendawy, S. F., El-deen, A. M. N., Zaki, F. N., Abd-Elgawad, M. M., Kandeel, A. M., & Ismail, R. F. (2015). Some Biological Activities of *Tagetes lucida* Plant Cultivated in Egypt. *Advances in Environmental Biology*, *9*(2), 82–88.

Ortuño, N., Franco, J., Ramos, J., Oros, R., Main, G. & Montecinos, R. (2005). Desarrollo del manejo integrado del nematodo rosario de la papa *Nacobbus aberrans* en Bolivia. Documento de trabajo No. 26. Fundación PROINPA-Proyecto Papa Andina. Cochabamba, Bolivia. 124 p.

Ottaway, P. B. (2001). The roots of a healthy diet?. *Chemistry & Industry, 22*(2): 42-44.

Oyama, K., & Castillo A. (2006). Manejo, Conservación y Restauración de Recursos Naturales en México. UNAM y Siglo XXI editores, S. A. de C. V. México. 363 p.

Panwar, S., Singh, K. P., Janakiram, T., & Namita. (2013). Genetic variability, heritability and genetic advance in African marigold (*Tagetes erecta* L.) genotypes. *Progressive Horticulture, 45*, 135-140.

Park, I.-K., Choi, K.-S., Kim, D.-H., Choi, I.-H., Kim, L.-S., Bak, W.-C., & Shin, S.-C. (2006). Fumigant activity of plant essential oils and components from horseradish (*Armoracia rusticana*), anise (*Pimpinella anisum*) and garlic (*Allium sativum*) oils against *Lycoriella ingenua* (Diptera: Sciaridae). *Pest Management Science*, *62*(8), 723–728. http://doi.org/10.1002/ps.1228

Park, I.-K., Lee, S.-G., Choi, D.-H., Park, J.-D., & Ahn, Y.-J. (2003). Insecticidal activities of constituents identified in the essential oil from leaves of *Chamaecyparis obtusa* against *Callosobruchus chinensis* (L.) and *Sitophilus oryzae* (L.). *Journal of Stored Products Research*, *39*(4), 375–384. http://doi.org/10.1016/S0022-474X(02)00030-9

Parry, E. J. (1921). The Chemistry of Essential Oils and Artificial Perfumes. 4th. Edition. Van Nostrand Co. New York, USA. 365 p.

Parvatha, R. P. (2013). Recent Advances in Crop Protection. Springer. Bangalore, Karnataka, India. 282 p.

Pavela, R. (2005). Insecticidal activity of some essential oils against larvae of *Spodoptera littoralis*. *Fitoterapia*, *76*(7-8), 691–696. http://doi.org/10.1016/j.fitote.2005.06.001

Pawar, V. C., & Thaker, V. S. (2006). In vitro efficacy of 75 essential oils against *Aspergillus niger*. *Mycoses*, *49*(4), 316–323. http://doi.org/10.1111/j.1439-0507.2006.01241.x

Pérez, G. M., Sahagún, C. J., & Peña, L. A. (2000). Estimación de varianza aditiva y heredabilidad en dos poblaciones de tomate de cáscara (*Physalis Ixocarpa* Brot.). *Revista Fitotecnia Mexicana*, *23*(001), 49.57.

Pérez-Rodríguez, I., Franco-Navarro, F., Cid Del Prado-Vera, I., & Zavaleta-Mejía, E. (2011). Control de *Nacobbus aberrans* en Chile ancho (*Capsicum annuum* l.) mediante el uso combinado de enmiendas orgánicas, hongos nematófagos y nematicidas. *Nematropica*, *41*(1), 122–129. Retrieved from http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-83655192217&partnerID=tZOtx3y1

Perez, M. P., Navas-Cortes, J. A., Pascual-Villalobos, M. J., & Castillo, P. (2003). Nematicidal activity of essential oils and organic amendments from Asteraceae against root-knot nematodes. *Plant Pathology*, *52*(3), 395–401. http://doi.org/10.1046/j.1365-3059.2003.00859.x

Perich, M. J., Wells, C., Bertsch, W., & Tredway, K. E. (1994). Toxicity of extracts from three *Tagetes* against adults and larvae of yellow fever mosquito and *Anopheles stephensi* (Diptera:Culicidae*). Journal of Medical Entomology, 31*(6), 833-837. http://dx.doi.org/10.1093/jmedent/31.6.833

Perry, N. B., Anderson, R. E., Brennan, N. J., Douglas, M. H., Heaney, A. J., McGimpsey, J. A., & Smallfield, B. M. (1999). Essential Oils from Dalmatian Sage (*Salvia officinalis* L.): Variations among Individuals, Plant Parts, Seasons, and Sites. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *47*(5), 2048–2054. http://doi.org/10.1021/jf981170m

Piccaglia, R., Marotti, M., Pesenti, M., Mattarelli, P., & Biavati, B. (1997). Chemical composition and antimicrobial cativity of *Tagetes erecta* and *Tagetes patula*, in *Essential Oils: Basic and Applied Research*, ed. By Franz CH. M. and Buchbauer, G. Allured Publishing, Carol Stream, IL. Pp. 49-51.

Pichersky, E., Noel, J. P. & Dudareva, N. (2006). Biosynthesis of plant volátiles: nature´s diversity and ingenuity. *Science, 311*(5762): 808-811.

Piedra Buena, A., Díez-Rojo, M. Á., López-Pérez, J. A., Robertson, L., Escuer, M., & Bello, A. (2008). Screening of *Tagetes patula* L. on different populations of *Meloidogyne. Crop Protection*, *27*(1), 96–100. http://doi.org/10.1016/j.cropro.2007.04.011

Pinto, E., Gonçalves, M. J., Hrimpeng, K., Pinto, J., Vaz, S., Vale-Silva, L. A., & Salgueiro, L. (2013). Antifungal activity of the essential oil of *Thymus villosus* subsp. lusitanicus against *Candida*, *Cryptococcus*, *Aspergillus* and *Dermatophyte* species. *Industrial Crops and Products*, *51*, 93–99. http://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.08.033

Poli, F., Sacchetti, G., & Bruni, A. (1995). Distribution of internal secretory structures in *Tagetes patula* (Asteraceae). *Nordic Journal of Botany, 15*(2), 197-205.

Polo, M., Crespo, R., Galle, M., Kladniev, B. R., Villegas, S. M., & Bravo, M. G. De. (2013). Actividad antiproliferativa y anticolesterogénica de estatinas y monoterpenos *. *Acta Bioquimica Clinica Latinoamericana*, *47*(2), 343–351. Retrieved from http://www.scielo.org.ar/pdf/abcl/v47n2/v47n2a11.pdf

Putievsky, E., Ravid, U., Dudai, N., Katzir, I., Carmeli, D., & Eshel, A. (1992). Variations in the essential oil of *Artemisia judaica* L. Chemotypes related to phenological and environmental factors. *Flavour and Fragrance Journal*, *7*(5), 253–257. http://doi.org/10.1002/ffj.2730070504

Prado-Vera, I. C., A., T.-S., & Hernández, J. A. (2001). Distribución de Especies y Razas de *Meloidogyne* en México. *Revista Mexicana de Fitopatologia*, *19*(1), 32–39.

Prakash, O., Rout, P. K., Chanotiya, C. S., & Misra, L. N. (2012). Composition of essential oil, concrete, absolute and SPME analysis of *Tagetes patula* capitula. *Industrial Crops and Products*, *37*(1), 195–199. http://doi.org/10.1016/j.indcrop.2011.11.020

Priestley, C. M., Burgess, I. F., & Williamson, E. M. (2006). Lethality of essential oil constituents towards the human louse, Pediculus humanus, and its eggs. *Fitoterapia*, *77*(4), 303–309. http://doi.org/10.1016/j.fitote.2006.04.005

Ramírez, V. J. (1996). La solarización del suelo: un método sencillo para controlar patógenos y malas hierbas. Universidad Autónoma de Sinaloa. Facultad de Agronomía. México. 68 p.

Regalado, E. L., Fernández, M. D., Pino, J. A., Mendiola, J., & Echemendia, O. A. (2011). Chemical Composition and Biological Properties of the Leaf Essential Oil of *Tagetes lucida* Cav. from Cuba Erik. *Journal of Essential Oil Research*, *23*(5), 63–67.

Reina, Y., Crozzoli, R., & Greco, N. (2002). Efecto nematicida del extracto acuoso de hojas de algodón de seda (*Calotropis procera*) sobre diferentes especies de nematodos fitoparasíticos. *Fitopatología Venezolana*, *15*(2), 44–49.

Riahi, L., Ghazghazi, H., Ayari, B., Aouadhi, C., Klay, I., Chograni, H., & Zoghlami, N. (2015). Effect of environmental conditions on chemical polymorphism and biological activities among *Artemisia absinthium* L. essential oil provenances grown in Tunisia. *Industrial Crops and Products*, *66*, 96–102. http://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.12.036

Ringuelet, J. (2013). Terpenoides. In J. Ringuelet & S. Viña (Eds.), *Productos naturales vegetales* (1a ed., pp. 151–190). Editorial de la Universidad Nacional de La Plata. Retrieved from http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/27885

Robbins, R. T. (1982). Phytoparasitic nematodoes of noncultivated hábitats in Arkansas. *Journal of Nematology, 14,* 466-467.

Roberts, P. A., & May, D. (1986). *Meloidogyne incognita* resistance characteristics in tomato genotypes developed for processing. *Journal of Nematology, 18*(3), 353-359.

Roberts, P. A., & Thomason, I. J. (1986). Variability in reproduction of isolates of *Meloidogyne incognita* and *M. Javanica* on resistant tomato genotypes. *Plant Disease, 70*, 547-550.

Román, J., & Acosta, N. (1984). Nematodos: diagnóstico y combate. Servicios de Extinción Agrícola. Universidad de Puerto Rico. Puerto Rico. 68 p.

Rosa, E. A. S., & Rodrigues, P. M. F. (1999). Towards a more sustainable agriculture system: The effect of glucosinolates on the control of soil-borne diseases. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, *74*(6), 667–674. http://doi.org/10.1080/14620316.1999.11511170

Rostelien, T., Borg-Karlson, A.-K., Faldt, J., Jacobsson, U., & Mustaparta, H. (2000). The Plant Sesquiterpene Germacrene D Specifically Activates a Major Type of Antennal Receptor Neuron of the Tobacco Budworm Moth Heliothis virescens. *Chemical Senses*, *25*(2), 141–148. http://doi.org/10.1093/chemse/25.2.141

Russo, S., Rodríguez, S. M., Delfino, S., & Badiola, M. (2005). Efecto de *Tagetes* Spp . sobre dos áfidos plagas de *Lactuca sativa* (L .). *Rev. FCA UNCuyo.*, *37*, 55–60.

Rzedowski, J. (2006). Vegetación de México. Edición digital. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México. 504 p.

Sacchetti, G., Maietti, S., Muzzoli, M., Scaglianti, M., Manfredini, S., Radice, M., & Bruni, R. (2005). Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. *Food Chemistry*, *91*(4), 621–632. http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.06.031

Salazar-Antón, W., & Guzmán-Hernández, T. de J. (2013). Nematodos fitoparásitos asociados al tomate en la zona occidental de Nicaragua. *Agronomía Mesoamericana*, *24*(1), 27–36.

Saleem, R., Ahmad, M., Naz, A., Siddiqui, H., Ahmad, S. I., & Faizi, S. (2004). Hypotensive and Toxicological Study of Citric Acid and Other Constituents from *Tagetes patula* Roots. *Archives of Pharmacal Research*, *27*(10), 1037–1042. http://doi.org/10.1007/BF02975428

Sánchez Portillo, J. F. (2010). *Efecto de quitina y quitosano sobre huevos y juveniles de nematodos formadores de nodulos radiculares, Nacobbus aberrans y Meloidogyne incognita. bajo condiciones in vitro e in vivo*. Colegio de Postgraduados, Montecillo Texcoco, México.

SAS, Institute. (1999). The SAS System for Windows v.9. SAS Institute. Carry, N.C.

Savedra, N., Cosme, V., Viturro, C., Molina, C., & Molina, S. G. (2002). Ensayo Piloto de Extracción de Volátiles de *Tagetes terniflora* H.B.K. In *Congreso Regional de Ciencia y Tecnologia NOA* (pp. 1–5). Catamarca: Secretaria de CIencia y Tecnología, Universidad Nacional de Catamarca.

Savedra, N., Cosme, W., Viturro, C., Molina, A., & Molina, S. G. (2003). Ensayo Piloto de extracción de volátiles de *Tagetes terniflora* HBK. http://www.efn.unc.edu.ar/otros/bibliocentro/index _archivos731-Tagetes.pdf.

Schaper, S., Hérnandez, F., & Soto, L. (1998). La lucha contra el dengue: control biológico de larvas de *Aedes aegypty* empleando Mesocyclops thermocyclopoides (curtácea). *Revista Costarricense de Ciencias Médicas, 19*, 119-125.

Schelz, Z., Molnar, J., & Hohmann, J. (2006). Antimicrobial and antiplasmid activities of essential oils. *Fitoterapia*, *77*(4), 279–285. http://doi.org/10.1016/j.fitote.2006.03.013

Schmutterer, H., Hellpap, C. (1988). Effect of neem on insect pests of vegetables and fruit trees. Focus on Phytochemical pesticides. The neem tree. *Jacobson, M. (ed.) 1,* 69-87.

Sefidkon, F., Salehyar, S., Mirza, M., & Dabiri, M. (2004). The essential oil of *Tagetes erecta* L. occurring in Iran. *Flavour and Fragrance Journal*, *19*(6), 579–581. http://doi.org/10.1002/ffj.1360

Segovia B., I. K., Suárez de la Cruz, L. L., Castro L., A. J., Suárez C., S., & Ruiz Q., J. R. (2010). Composición química del aceite esencial de *Tagetes elliptica* smith "chincho" y actividades antioxidante, antibacteriana y antifúngica. *Ciencia E Investigación*, *13*(2), 81–86. Retrieved from http://eds.b.ebscohost.com.ezproxy.unal.edu.co/ehost/pdfviewer/pdfviewer?vid=4&sid=dbf3d448-385f-4d17-85e2-9060c6b95c35@sessionmgr113&hid=103

Semarnat. Secretaría de Medioa Ambiente y Recursos Naturales. 2010. Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-(2010). Diario Oficial de la Federación (DOF).

Senatore, F., Oliviero, F., Scandolera, E., Taglialatela-Scafati, O., Roscigno, G., Zaccardelli, M., & De Falco, E. (2013). Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of anethole-rich oil from leaves of selected varieties of fennel [*Foeniculum vulgare* Mill. ssp. vulgare var. azoricum (Mill.) Thell]. *Fitoterapia*, *90*, 214–219. http://doi.org/10.1016/j.fitote.2013.07.021

Sepúlveda-Jiménez, G., Porta-Ducoing, H., & Rocha-Sosa, M. (2003). La participación de los metabolitos secundarios en la defensa de las plantas. *Revista Mexicana de Fitopatología*, *21*(3), 355–363.

Serrano, M., Martínez-Romero, D., Castillo, S., Guillén, F., & Valero, D. (2005). The use of natural antifungal compounds improves the beneficial effect of MAP in sweet cherry storage. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, *6*(1), 115–123. http://doi.org/10.1016/j.ifset.2004.09.001

Serrato, M. A. & Quijano, M. L. (1993). Usos de algunas especies de *Tagetes*: Revisión bibliográfica (1984-1992). pp. 228- 238. *In*: Memorias I Simposio Internacional y II Reunión Nacional sobre Agricultura Sostenible: Importancia y Contribución de la Agricultura Tradicional. Comisión de Estudios Ambientales y Centro de Enseñanza, Investigación y Capacitación para el desarrollo Agrícola Regional (CEICADAR). Colegio de Postgraduados. Puebla, México.

Serrato Cruz, M. Á., Reyes Trejo, B., Ortega Arenas, L., Domingo Gómez, A., Gómez Sánchez, N., López Martinez, F., & Vallejo García, C. I. (2003). Anisillo (*Tagetes filifolia* Lag): recurso genetico mexicano para controlar la mosquita blanca (*Bemicia* sp y *Trialurodes* sp.). *Revista Del Jardín Botánico Nacional*, *24*(1-2), 65–70.

Serrato, C. M. A., Barajas, P. J. S., Díaz, C. (2007). *Tagetes filifolia* Lag. y *T. lucida* Cav. de Oaxaca. II Simposio sobre Biodiversidad de Oaxaca.

Serrato, C. M. A., Barajas, P. J. S., & Díaz, C. F. (2007). Aceites esenciales del recurso genético *Tagetes* para el control de insectos, nematodos, ácaron y hongos. Pp. 186-197. In: López, O. J. F., Aragón, G. A., Rodríguez, C. H., Vázquez, G. M. (Eds.). Agricultura sostenible: Susbstancias naturales contra plagas. Vol. 3. Sociedad Mexicana de Agricultura Sostenible. Benemérita Universidad de Puebla. Colegio de Posgraduados.

Serrato-Cruz, M. Á., Díaz-Cedillo, F., & Barajas-Pérez, J. S. (2008). Composición del aceite esencial en germoplasma de *Tagetes filifolia* Lag. de la región Centro-Sur de México. *Agrociencia*, *42*, 277–285.

Serrato Cruz, M. Á. (2010). Información documental sobre el *taxa Tagetes* para dimensionar su centro de origen y diversidad genética en México. In *Recopilación y análisis de la información existente de las especies de las que México es centro de origen y diversidad genética* (p. 63). México: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). http://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004

Serrato-Cruz, M. A. (2014). El recurso Genético Cempoalxóchitl (*Tagetes* spp) de México (Diagnóstico). Universidad Autónoma Chapingo- SINAREFI-SNICS-SAGARPA. 182 p.

Shin, S. (2004). Essential oil compounds from *Agastache rugosa* as antifungal agents against *Trichophyton* species. *Archives of Pharmacal Research*, *27*(3), 295–299. http://doi.org/10.1007/BF02980063

Shin, S., & Pyun, M.-S. (2004). Anti-*Candida* effects of estragole in combination with ketoconazole or amphotericin B. *Phytotherapy Research*, *18*(10), 827–830. http://doi.org/10.1002/ptr.1573

Singh, A., Singh, B. K., Deka, B. C., Sanwal, S. K., Patel, R. K., & Verma, M. R. (2011). The genetic variability, inheritance and inter-relationships of ascorbic acid, β-carotene, phenol and anthocyanin content in strawberry (*Fragaria×ananassa* Duch.). *Scientia Horticulturae*, *129*(1), 86–90. http://doi.org/10.1016/j.scienta.2011.03.011

SIAP Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (2014). http://www.siap.gob.mx/avance-de-siembras-y-cosechas-por-cultivo/ (Consulta en octubre de 2015)

SIAP Servicios de Información Agroalimentaria y Pesquera. (2015). En: http://www.siap.gob.mx/avance-de-siembras-y-cosechas-por-cultivo/ (Consulta en octubre de 2015).

SIAP (2015). En: http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-estado/ (Consulta en octubre de 2015).

SIAP (2015). Atlas agroalimentario. SIAP. México. 218 p.

SIAP. (2015). Infografía Alimentaria 2015. SAGARPA. Estado de México. México. 74p.

Siddiqui, M.A., & Alam, M. M. (1988). Toxicity of different plant parts of *Tagetes lucida* to plant parasitic nematodes. *Indian Journal of Nematology, 18*(2): 181-185.

Silva, G., Orrego, O., Hepp, R., & 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.

Simmonds, M. S. J., Evans, H. C., & Blaney, W. M. (1992). Pesticides for the year 2000: mycochemicals and botanicals. Pp. 127-164. *In*: Kadir, A. A. S. A., Barlow, H. S. (Eds). Pest management and the environment in 2000. Malaysia, CAM International.

Sim, M.-J., Choi, D.-R., & Ahn, Y.-J. (2006). Vapor phase toxicity of plant essential oils to *Cadra cautella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Economic Entomology*, *99*(2), 593–598. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=16686164

Soberón, J. (2010). La diversidad biológica: importancia y actores sociales. In J. L. Lezama & B. Graizbord (Coords.), *Los grandes problemas de México* (1st ed., p. 431). México: El Colegio de México, A. C.

Sorribas, F. J., & Verdejo-Lucas, S. (1999). Capacidad parasitaria de. *Investigación Agraria. Producción Y Protección Vegetal*, *14*(1-2), 237 247.

Sorribas, J., & Ornat, C. (2011). Estrategias de control integrado de nematodos fitoparasitos. *In*: Ándres, M. F., & Verdejo, S. (eds.). Enfermedades causadas por nematodos fitoparasitos en España. Phytoma-SEF. Valencia. Pp. 115–127.

Soylu, E. M., Soylu, S., & Kurt, S. (2006). Antimicrobial activities of the essential oils of various plants against tomato late blight disease agent *Phytophthora infestans*. *Mycopathologia*, *161*(2), 119–128. http://doi.org/10.1007/s11046-005-0206-z

Steiner, G. (1941). Nematodes parasitic on and associated with roots of marigold (*Tagetes hybrida*). *Proceeding of the Biological Society of Wasington, 54*, 31-34.

Stoll, G. (2000). Natural Crop Protection in the Tropics: Letting Information Come to Life. Margraf Verlag, Hohberg. 376 p.

Strother, J. L. (1997). *Tagetes*- systematic review. P. 769-783. In: Heiwood, U. H., Harbone, J. R., Turner, B. L. (Eds.). The Biology and Chemistry of the Compositae Vol. II. Academic Press. London.

Szarka, S., Héthelyi, É., Kuzovkina, I. N., Lemberkovics, É., & Szőke, É. (2008). GC–MS Method Development for the Analyses of Thiophenes from Solvent Extracts of *Tagetes patula* L. *Chromatographia*, *68*(S1), 63–69. http://doi.org/10.1365/s10337-008-0668-5

Tisserand, R., & Young, R. (2014). Essential Oil, Safety. Churchill Livingstone Elsevier. China. 757 p.

The Plant List. (2013). Versión 1.1. http://www.theplantlist.org/ (Consulta en octubre de 2015).

Theis, N., & Lerdau, M. (2003). The evolution of function in plant secondary metabolites. *International Journal of Plant Sciences*, *164*(3 Suppl), S93–S102.

Toledo, V. (1988). La diversidad biológica de México. *Ciencia y Desarrollo, 14*, 17-30.

Tunc, I., & Erler, F. (2003). Repellency and repellent stability of essential oil constituents against *Tribolium confusum*. *Journal of Plant Diseases and Protection, 110*(4), 394-400.

Tucker, A. O., & Marciarello, M. (1996). Volatile leaf oil of *Tagetes lemmonii* Gray. *Journal Essential Oil Research, 8*(4), 417-418.

Turner, B. L. (1996). The comps of Mexico-A systematic account of the family Asteraceae. Pp 1-93. *In*: Adams R. P., Turner, B. L. (eds.). *Tagetes* and *Anthemideae.* Vol.10. Phytologia Memoirs. Texas. 93 p.

Tyler, J. February 4 (1938). Conference: Proceedings of the root-knot conferences held in Atlanta, Georgia. *Plant Disease Reporter, 109*, 133-151.

Vaičiulytė, V., & Ložienė, K. (2015). Metabolomic analysis and effects of meteorological factors on phenolic and non-phenolic chemotypes of *Thymus pulegioides* L. cultured in the same locality. *Industrial Crops and Products*, *77*, 491–498. http://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.09.043

Velasco, L. A. (2002). El jardín de Itztapalapa. *Arqueología Mexicana 10*(57), 26-35.

Valente, J., Zuzarte, M., Resende, R., Gonçalves, M. J., Cavaleiro, C., Pereira, C. F., & Salgueiro, L. (2015). *Daucus carota* subsp. gummifer essential oil as a natural source of antifungal and anti-inflammatory drugs. *Industrial Crops and Products*, *65*, 361–366. http://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.11.014

Vasudevan, P., Kashyap, S., & Sharma, S. (1997). *Tagetes:* A multipurpose plant. *Bioresource Technology*, *62*(1-2), 29–35. http://doi.org/10.1016/S0960-8524(97)00101-6

Velluti, A., Sanchis, V., Ramos, A. J., Egido, J., & Marín, S. (2003). Inhibitory effect of cinnamon, clove, lemongrass, oregano and palmarose essential oils on growth and fumonisin B1 production by *Fusarium proliferatum* in maize grain. *International Journal of Food Microbiology*, *89*(2-3), 145–154. http://doi.org/10.1016/S0168-1605(03)00116-8

Velluti, A., Sanchis, V., Ramos, A. J., Turon, C., & Marin, S. (2004). Impact of essential oils on growth rate, zearalenone and deoxynivalenol production by *Fusarium graminearum* under different temperature and water activity conditions in maize grain. *Journal of Applied Microbiology*, *96*(4), 716–724. http://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02212.x

Vera, S. S., Zambrano, D. F., Méndez-Sanchez, S. C., Rodríguez-Sanabria, F., Stashenko, E. E., & Duque Luna, J. E. (2014). Essential oils with insecticidal activity against larvae of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research*, *113*(7), 2647–2654. http://doi.org/10.1007/s00436-014-3917-6

Verdejo-Lucas, S., Sorribas, F. J., & Puigdomenech, P. (1994). Pérdidas de producción en lechuga y tomate causadas por *Meloidogyne javanica* en invernadero. *Investigación Agraria: Producción y Protección Vegetales, 2*, 395-400.

Verdejo-Lucas, S. (2009). Especies del género *Meloidogyne*: Manejo integrado de nematodos, conclusiones de un seminario de Dupont en Almería. Horticultura 10.12.

http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/solanaceae/lycopersicon-esculentum/fichas/ficha.htm, Vibrans, H. (ed.) 2009. Malezas de México. (Consulta en octubre de 2015).

Villaseñor, J. L. (2003). Diversidad y distribución de las Magnoliophyta de México. *Interciencia, 28,* 160-167.

Villaseñor, J. L. & Espinosa-García, F. (2004). The alien flowering plants of Mexico. *Diversity and Distribution, 10*, 113-123.

Villaseñor, J. L., Maeda, P., Colín-López, J. J., & 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.

Villareal, Q. J. A. (2003). Familia Compositae. Tribu *Tageteae*. 85 p. *In*: Rzedowski, G. C.; Rzedowski J. (eds.). Flora del Bajío y de regiones adyacentes. Fascículo 113. Instituto de Ecología-Centro Regional del Bajío. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Pátzcuaro, Michoacán, México.

Vinueza P., S. M., Crozzoli, R., & Perichi, G. (2006). Evaluación in vitro de extractos acuosos de plantas para el control del nematodo agallador *Meloidogyne incognita*. *Fitopatología Venezolana*, *19*(2), 26–31. http://doi.org/10.1111/j.1399-6576.2004.00461.x

Visbal, T., Rojas, L. B., Cordero de Rojas, Yndra Carmona-Arzola, J., Morillo, M., & Usubillaga, A. (2010). Componentes volátiles de *Tagetes lucida* Cav. (Asteraceae) (Cordero edo Táchira. Venezuela). *Revista de La Facultad de Farmacia*, *52*(1), 2–4.

Vuelta-Lorenzo, D. R., & Font-Rodríguez, D. (2007). El arbol de Nim: una alternativa para el control de nemátodos. *Ciencia En Su PC*, *1*(1), 54–60.

Wallin, K. F., & Raffa, K. (2004). Feedback between individual host selection behavior and population dynamics in an eruptive herbivore. *Ecological Monographs, 74,* 101-116.

Webster, B., Bruce, T., Dufour, S., Birkemeyer, C., Birkett, M., Hardie, J., & Pickett, J. (2008). Identification of volatile compounds used in host location by the black bean aphid, *Aphis fabae*. *Journal of Chemical Ecology*, *34*(9), 1153–1161. http://doi.org/10.1007/s10886-008-9510-7

Yañez, J. G. (1997). Manejo de la marchitez (*Phytophthora capsici* Leo), agallamiento radicular (*Nacobbus aberrans* Thorne Allen) y virosis del chile (*Capsicum annum* L.) Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Estado de México. 61 p.

Yañez Rueda, X., Parada Parada, D. Y., & Lugo Mancilla, L. L. (2011). Variabilidad del rendimiento del aceite esencial de Calycolpus moritzianus nativo de Norte de Santander (Colombia) de acuerdo con el tratamiento de la hoja. *Bistua : Revista de La Facultad de Ciencias Básicas*, *9*(1), 48–54. Retrieved from http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=90322640007

Yazdanpanah, E., Moradshahi, A., & Rowshan, V. (2014). The effects of growth habitat of medicinal plant yarrow (*Achillea wilhelmsii* C.Koch) on the essential oil constituents. *Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences*, *4*(4), 36–42.

Zamudio, G. V. (1987). Evaluación de la resistencia de colecciones y variedades comerciales de Tomate (*Lycopersicon* spp.) a *Nacobbus aberrans* Thorne y Allen. Tesis de Maestría. Colegio de Postradudos, Montecillo, Estado de México. 88 p.

Zapata-Maldonado, C. I., Serrato-Cruz, M. A., Ibarra, E., & Naranjo-Puente, B. (2015). Chemical compounds of essential oil of *Tagetes* species of Ecuador. *ECORFAN Journal-Republic of Nicaragua, 1*, 19-26.

Zavaleta, M. E., & Gómez, R. O. (1995). Effect of *Tagetes erecta* L.- tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) intercropping on some tomato pest. *Fitopatología, 30,* 35-46.

Zygadlo, J. A., Lamarque, A. L., Maestri, D. M., Guzman, C. A., & Grosso, N. R. (1993). Composition of the Inflorescence Oils of Some *Tagetes* Species from Argentina. *Journal of Essential Oil Research*, *5*(6), 679–681. http://doi.org/10.1080/10412905.1993.9698306

Zygadlo, J. A., Guzman, C. A., & Grosso, N. R. (1994). Antifungal properties of the leaf oils of *Tagetes minuta* L. and *T. filifolia* Lag. *Journal of Essential Oil Research, 6*, 617-621.