



EVALUACIÓN *in vitro* DE LA ACTIVIDAD NEMATICIDA DE LIMONENO, ISOTIOCIANATO DE ALILO, EUCALIPTOL, β -CITRONELOL Y AZADIRACTINA SOBRE *Meloidogyne incognita* (Nematoda, Meloidogynidae)[†]

[*In vitro* EVALUATION OF THE NEMATICIDAL ACTIVITY OF LIMONENE, ALLYL ISOTHIOCYANATE, EUCALYPTOL, β -CITRONELOL AND AZADIRACTIN ON *Meloidogyne incognita* (Nematoda, Meloidogynidae)]

Yisa Ma. Ochoa-Fuentes¹, Gibran Alejandro-Rojas², Juan Carlos Delgado-Ortiz³, Ernesto Cerna-Chavez^{1*}, Luis Alberto Aguirre-Uribe¹, Jerónimo Landeros-Flores¹ and Melchor Cepeda-Siller¹

¹ *Departamento de Parasitología. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Calzada Antonio Narro 1923, C.P. 25315, Saltillo, Coahuila, México. e-mail: yisa8a@yahoo.com, jabaly1@yahoo.com, luisaguirre@yahoo.com.mx, jlanflo@hotmail.com, melchoresraza2010@hotmail.com*

² *Estudiante de Postgrado en Ciencias en Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Agraria Antonia Narro. Calzada Antonio Narro 1923, C.P. 25315, Saltillo, Coahuila, México. e-mail: gibran2uaaan@gmail.com*

³ *Catedrático CONACYT-Universidad Autónoma Agraria Antonia Narro, Departamento de Parasitología. Calzada Antonio Narro 1923, C.P. 25315, Saltillo, Coahuila, México. e-mail: jdelgado@conacyt.mx*

**Corresponding author*

SUMMARY

Meloidogyne incognita is one of the main biological agents that affects tomato production, alternatives to chemical pesticides are currently being evaluated, looking for compounds for nematode control. The objective of the study was to evaluate the nematicidal activity of limonene, allyl isothiocyanate, eucalyptol (2000, 1000, 500, 250, 100 and 0 ppm), β -citronellol (200, 100, 50, 25, 10, 0 ppm) and azadirachtin (12000, 10000, 8000, 6000, 4000, 0 ppm), on J2 of *M. incognita*. Samples were carried out in greenhouses in the State of Morelos, where soil and root samples were taken, to obtain the nematodes. The bioassays were carried out following the Cristóbal - Alejo methodology, in a controlled environment, the biological activity of five compounds was evaluated, under six treatments with five repetitions each; and as an experimental unit a Petri dish with 30 juveniles (J2) of *M. incognita* was used and 3 mL of each concentration was added to see the mortality response, the evaluations were carried out at 24 hours considering dead individuals they responded to the stimulation of the entomological pin, the correction of mortality was made by Abbott's formula and the mean lethal concentration was obtained using SAS 9.0. The mortality results were between 12 and 87.9%, however; β -citronellol was the one that presented the highest mortality rates and lowest LC50, so it can be considered as an alternative for nematode control.

Keywords: Nodular nematode; Plants; Botanical nematicide; *Meloidogyne*.

RESUMEN

Meloidogyne incognita es uno de los principales agentes biológicos que afecta la producción del tomate, actualmente se evalúan alternativas a los plaguicidas químicos, buscando compuestos para el control del nematodo. El objetivo del estudio fue evaluar la actividad nematicida del limoneno, isotiocianato de alilo, eucaliptol (2000, 1000, 500, 250, 100 y 0 ppm), β -citronelol (200, 100, 50, 25, 10, 0 ppm) y azadiractina (12000, 10000, 8000, 6000, 4000, 0 ppm), sobre J2 de *M. incognita*. Se realizaron muestreos en invernaderos del Estado de Morelos, donde se tomó muestra de suelo y raíces, para la obtención de los nematodos. Los bioensayos se realizaron siguiendo la metodología de Cristóbal-Alejo, en un ambiente controlado, se evaluó la actividad biológica de cinco compuestos, bajo seis tratamientos con cinco repeticiones cada uno; y como unidad experimental se usó una caja Petri con 30 juveniles (J2) de *M. incognita* y se agregaron 3 mL de cada concentración para ver la respuesta de la mortalidad, las evaluaciones se realizaron a las 24 horas considerando muertos a los individuos que no respondían al estímulo del alfiler entomológico, la corrección de mortalidad se realizó mediante la fórmula de Abbott y se obtuvo la concentración letal media utilizando SAS 9.0. Los resultados de la mortalidad fueron entre el 12 y 87.9 %, sin embargo; β -

[†] Submitted May 19, 2019 – Accepted September 10, 2019. This work is licensed under a CC-BY 4.0 International License.
ISSN: 1870-0462.

citronelol fue el que presentó los mayores porcentajes de mortalidad y CL₅₀ más bajas, por lo que se puede considerar a este como una alternativa para el control del nematodo.

Palabras claves: Nematodo de los nódulos; Plantas; Nematicidas botánicos; *Meloidogyne*.

INTRODUCCIÓN

El tomate es uno de los vegetales más consumidos en México (Román *et al.*, 2013); para el 2017 a nivel nacional fueron sembradas con este cultivo más 50,370 ha, con una producción superior a las 3,460,000 Ton (SIAP, 2017). Este cultivo a lo largo de su ciclo fenológico presenta algunas limitantes que merman la producción, entre ellas se encuentra el nematodo de los nódulos *Meloidogyne incognita* (Salazar y Guzmán 2013), *M. incognita* es una de las principales especies de nematodos que afecta tanto la producción como la calidad de la producción de cultivos (Wiratno *et al.*, 2009), generando pérdidas de un 20 % y en casos severos la pérdida total del cultivo (Ntalli *et al.*, 2009); siendo un endoparásito sedentario que emerge del huevo como juvenil, estos son los que penetran a las raíces e invaden el tejido vascular generando nódulos que obstruyen el paso de nutrientes ocasionando la muerte de la planta (Perry, 2006; Castro *et al.*, 2011; Navarro- Barthelemy *et al.*, 2009). La aplicación de sustancias con efecto nematicidas se vuelve necesarias para la producción; mientras que la restricciones de uso de fumigantes de suelo como el bromuro de metilo, la cloropicrina y el 1,3-dicloropropeno limitan el manejo de la plaga (Nyczepir y Thomas, 2009), lo que a su vez promueve la búsqueda de nuevas alternativas de control para este nematodo; por ello se recurre a sustancias de origen botánico, como los metabolitos secundarios de plantas con efecto nematicidas (Mareggiani *et al.*, 2010).

Los procesos para la obtención y el conocimiento de los metabolitos secundarios con actividad biológica en contra de insectos son realizados a través de extractos de plantas (Leyva *et al.*, 2017); los terpenoides y alcaloides, son considerados como opciones de alternativas de compuestos insecticidas eficaces para el control de plagas (Joseph *et al.*, 2012). Existen estudios previos de compuestos reportados con actividad nematicida, de extractos botánicos de frutos de chile, mostaza y ajo en, *Meloidogyne javanica* en plantas de tomate en el invernadero, para la reducción del número de huevos y agallas de raíz con dos productos que contienen capsaicina, capsainoides e isotiocianato de alilo. Se usó una mezcla tamizada de tierra y arena 1: 1 (v: v) para llenar macetas de plástico e infestada con 4000 huevos. Después de 4 días, se vertieron 20 mL de uno de los extractos, en la concentración de 1000 ppm, sobre el suelo de cada maceta. Se vertió agua en el tratamiento de prueba. Se plantaron plántulas de tomate de veinte días, una por maceta, cuatro días después de la aplicación de los extractos. Cuarenta y

cinco días después de la siembra, se evaluó el número de agallas y huevos por planta. Los extractos clorofórmicos y cetónicos de ajo y el aceite de mostaza presentaron el mayor efecto en la población de nematodos, difiriendo del tratamiento de control con respecto al número de agallas, pero solo el aceite de mostaza difirió del control en el número de huevos por planta. Los extractos clorofórmicos y cetónicos de ajo y el aceite de mostaza redujeron en 34,5%, 40,4% y 99,9% el número de agallas, respectivamente, y el aceite de mostaza redujo el número de huevos en 99,9%. Algunas especies de plantas brassicas producen compuestos sulfurados como los glucosinolatos, los isotiocianatos, los nitrilos, tiocianatos y epinitrilas (Neves *et al.*, 2009), destacando especies como la mostaza (*Sinapis alba*) y canola (*Brassica napus*), de las cuales se ha comprobado su actividad nematicida sobre *M. incognita* (Aballay e Insunza, 2002). En estudios con extractos de brassicas a concentraciones de 10000 ppm se ha logrado controlar poblaciones de *Meloidogyne* spp en 46 % (Franco-Navarro *et al.*, 2002); por su parte Herrera-Parra *et al.* (2009) evaluaron extractos de eucalipto para controlar juveniles de *M. incognita* y *Nacobbus aberrans*, obteniendo una mortalidad del 58% con concentración de 8000 ppm. En investigaciones con extractos de cítricos reportan un control de poblaciones de juveniles de *M. incognita* en el cultivo de tomate, por arriba del 45% a concentración de 6000 ppm (Sosa *et al.*, 2012). Por lo anterior el objetivo del estudio fue evaluar la actividad nematicida *in vitro* de los compuestos activos limoneno, isotiocianato de alilo, eucaliptol, β -citronelol y azadiractina sobre juveniles de *M. incognita*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestreo de nematodos

El muestreo se realizó en invernaderos del estado de Morelos, en el cultivo de tomate saladette variedad Romano; se muestrearon dos hectáreas de las cuales se tomaron las muestras cada 10 m en forma de zigzag; en cada muestreo se extrajeron raíces y suelo a una profundidad de 25-30 cm. De cada submuestra se colectó un kg de material, las cuales fueron mezcladas para obtener una muestra compuesta (suelo). Se extrajeron los nematodos por el método del embudo de Baermann, además a las raíces se les realizaron cortes longitudinales de 3 a 5 mm de profundidad, posteriormente en el microscopio estereoscópico se observaron las raíces y se

localizaron pequeños puntos de color café y las hembras adultas blancas-crema así como sus masas de huevos. De las raíces se extrajeron hembras con el fin de realizar un corte perineal mediante la técnica de Navas *et al.* (2010) para identificar la especie de *Meloidogyne* presente en las muestras, se usó la clave pictórica de Eisenback (1981). Con una aguja de disección se extrajeron las masas de huevecillos y se depositaron en frascos con agua estéril, se colocaron en una cámara bioclimática con total oscuridad a 24 ± 1 °C con una humedad relativa de 60-70% durante seis días, para lograr la emergencia de los juveniles de segundo estadio (J2) de *Meloidogyne* spp.

Bioensayo

Los compuestos con actividad biológica evaluados *in vitro* fueron el eucaliptol 99% (CAS-4708206), β -citronelol 95% (CAS-106229), d-limoneno 96% (CAS-5989275), azadiractina 95% (CAS-11141-17-6) obtenidos de Sigma Aldrich® y el isotiocianato de alilo 98% (CAS-57067) de Thermo Fisher®. Para determinar el intervalo de concentraciones a emplear de los estándares comprados, de los metabolitos reportados con posible actividad contra *M. incognita*, se evaluaron concentraciones de 10 a 12000 ppm, para determinar la ventana biológica o de efectividad aproximada de cada compuesto. Una vez obtenido este intervalo, los bioensayos se realizaron siguiendo la metodología de Cristóbal-Alejo *et al.* (2006), en un ambiente controlado (23 ± 1 °C, 50 % HR, 12 horas luz y 12 oscuridad). Se evaluó la actividad biológica de cinco compuestos, bajo cinco tratamientos y un control sin tratamiento, utilizando como solvente agua destilada, con cinco repeticiones cada uno; y como unidad experimental se usó una caja petri de 60 x 15 mm con 30 juveniles (J2) de *M. Incognita*. Para la preparación de las diferentes concentraciones, se realizaron a través de diluciones partiendo de una

solución madre dependiendo de cada producto, en vasos de 100 mL. Una vez obtenidas las concentraciones se agregaron 3 ml de cada concentración para ver la respuesta de la mortalidad; los compuestos evaluados fueron: eucaliptol, Limoneno, isotiocianato de alilo a concentraciones de 2000, 1000, 500, 250, 100ppm y control sin estandar, para el β -Citronelol (200, 100, 50, 25, 10 ppm y control sin estándar) y azadiractina (12000, 10000, 8000, 6000, 4000ppm y control sin estándar), las evaluaciones se realizaron a las 24 horas considerando muertos a los individuos que no respondían al estímulo de un alfiler entomológico, cuando se presentó muerte en los testigos, se realizó la corrección de mortalidad mediante la fórmula de Abbott (1925) y con los resultados obtenidos se realizó análisis de regresión Probit para obtener la concentración letal media (CL₅₀), así como un análisis completamente al azar y una comparación de medias por el método de Tukey, utilizando el paquete estadístico SAS 9.0.

RESULTADOS

La identificación los nematodos utilizados en el estudio, la especie fue *M. Incognita* basada en la morfología de la hembra adulta mediante el estudio del corte perineal de la parte posterior. Para la identificación de los juveniles en el segundo estado se compararon las mediciones morfométricas de la longitud del estilete, tamaño de cola y región hialina de la cola.

En relación con los resultados obtenidos del porcentaje de mortalidad, muestran diferencia significativa en la comparación de medias obtenidas, reduciendo la población de *M. incognita* hasta en un 11.7 hasta 87.9 % (Tabla 1). Cabe mencionar que los testigos no presentaron mortalidad.

Tabla 1. Comparación de medias para la variable de porcentaje de mortalidad de los compuestos evaluados contra J2 de *Meloidogyne incognita*.

Conc. Ppm	IsoA	Eucal	Limon	Conc. ppm	β -Citro	Conc. ppm	Azadi
2000	75.7 ^a (± 2.6)*	83.6 ^a (± 1.8)*	83.2 ^a (± 3.1)*	200	87.9 ^a (± 3.8)*	12000	53.5 ^a (± 3.2)*
1000	58.9 ^b (± 2.8)	64.8 ^b (± 2.0)*	66.5 ^b (± 3.0)*	100	66.9 ^b (± 3.6)*	10000	43.1 ^b (± 3.1)*
500	44.3 ^c (± 3.0)*	48.0 ^c (± 2.2)*	56.0 ^c (± 2.9)*	50	52.3 ^c (± 3.4)*	8000	32.6 ^c (± 3.1)*
250	29.6 ^d (± 3.2)*	29.2 ^d (± 2.5)*	35.1 ^d (± 2.8)*	25	35.5 ^d (± 3.2)*	6000	20.0 ^d (± 3.1)*
100	17.1 ^e (± 3.4)*	10.4 ^e (± 2.7)*	20.5 ^e (± 2.7)*	10	16.7 ^e (± 3.4)*	4000	11.7 ^e (± 3.1)*

IsoA: Isotiocianatos de alilo, Eucal: Eucaliptol, Limon: Limoneno, β -Citro: β -Citronelol, Azadi: Azadiractina y Conc: Concentración. * Desviación estándar ^{a-e}[...1]

El compuesto que presentó mayor mortalidad fue el β -citronelol con un 87.90% (Tabla 1), seguido por el compuesto eucaliptol y limoneno con un 83.6 y 83.2 % respectivamente, los compuestos con una menor reducción en la mortalidad fueron los isotiocionatos de alilo con un 75.7 % y la azadiractina donde se usaron concentraciones altas con respecto a los otros compuestos (Tabla 1).

En relación con los valores de CL_{50} , el β -citronelol fue el que obtuvo una CL_{50} más baja con valores de 44.06 ppm (Tabla 2). Así como su valor de CL_{95} (501.21 ppm), de este modo también podemos mencionar que estadísticamente es diferente a todos los otros tratamientos, ya que sus límites fiduciales (36.69-52.65), no se traslapa con ningún otro tratamiento. Como se aprecia en la Tabla 2. Limoneno tuvo una acción nematocida sobre *M. incognita* con una CL_{50} de 420.11 ppm y una CL_{95} de 6743 ppm, traslapándose sus límites fiduciales con el eucaliptol y el isotiocionatos de alilo, por lo tanto, estadísticamente no son diferentes. El otro producto fue el eucaliptol, mostrando ser una buena alternativa para el control de *M. incognita*, con una CL_{50} de 547.18 ppm. Finalmente, el isotiocianato de alilo obtuvo una CL_{50} de 622.24 ppm. Mientras que azadiractina demostró tener un efecto en la mortalidad sobre J2 de *M. incognita* a concentraciones altas con una CL_{50} de 11475 ppm.

DISCUSIÓN

La identificación de *M. incognita* se basó en la morfología de la hembra adulta mediante el estudio del corte perineal de la parte posterior, se observan los pliegues cuticulares característicos de esta especie con un arco dorsal alto y cuadrado (Eisenback, 1981). Para la identificación de los juveniles en el segundo estado se compararon las mediciones morfométricas de la longitud del estilete (12-15 μ m), tamaño de cola (38-40 μ m) y región hialina de la cola (8-10 μ m) y se comparó con lo establecido por Jepson (1987).

El compuesto que presentó mayor mortalidad fue el β -citronelol con un 87.90% (Tabla 1), estos resultados fueron superiores a los reportados por Giacometti *et al.* (2010) quienes evaluaron un nematocida comercial "Tequil" elaborado a base de *Yuca schidigera*, *Quillaza saponaria*, *Tagetes* spp. aplicado sobre de *M. incognita* y *Heterodera daverti* a una concentración de 2.5 ml/L, sin presentar mortalidad solo inmovilización de juveniles. Caso similar a lo reportado por Moreira *et al.* (2015) quienes evaluaron citronella sobre *M. incognita* en plantas de tomate, a una concentración de 4000 ppm con una efectividad del 67%; mientras que Taniwiryo *et al.* (2009) usaron un extracto de citronela en poblaciones de *Meloidogyne* en el cultivo de clavel, reportando mortalidades del 75% a una concentración de 5000 ppm.

Cabe destacar que la presencia del grupo funcional (OH) y la presencia del doble enlace en el terpeno afectan la actividad nematocida del compuesto activo Echeverrigaray *et al.* (2010). Seguido por el compuesto eucaliptol y limoneno con un 83.6 y 83.2 % respectivamente, los compuestos con una menor reducción en la mortalidad fueron los isotiocionatos de alilo con un 75.7 % y la azadiractina donde se usaron concentraciones altas con respecto a los otros compuestos (Tabla 1). Sin embargo, estos resultados fueron similares a los de Rodríguez *et al.* (2012) quienes evaluaron aceites esenciales de *Azadiractina indica* y *Tagetes erecta* como alternativa para controlar *M. incognita*, reportan un control del 56% sobre juveniles en cultivo de tomate a una concentración promedio de 15000 ppm siendo congruentes estos resultados con las mortalidad reportada por Sharma *et al.* (2003), quienes reportan 50-65% de mortalidad con la aplicación de las azadiractinas purificadas (A, B y H) a concentraciones de 200 ppm. Cabe señalar que actualmente no existen reportes sobre las evaluaciones solo de los estándares utilizados.

Tabla 2. Concentración letal media de los compuestos evaluados sobre *M. incognita*.

	ppm					Ec. Predicción	P-valor
	CL_{50}	LFI	LFS	CL_{05}	CL_{95}		
Isotiocianatos de alilo	622.24	503.14	784.06	31.19	12411	$y=-3.63+1.26$	+0.22
Eucaliptol	547.18	462.72	649.55	57.19	5235	$y=-4.59+1.67$	+0.14
Limoneno	420.11	340.98	512.71	26.17	6743	$y=-3.57+1.36$	+0.18
β -citronelol	44.06	36.69	52.65	3.87	501.21	$y=-2.56+1.55$	+0.39
Azadiractina	11475	10171	13769	2857	46087	$y=-11.05+2.72$	+0.61

En relación con los valores de CL_{50} , el β -citronelol fue el que obtuvo una CL_{50} más baja con valores de 44.06 ppm, estos resultados son superiores a los reportados por Echeverrigaray *et al.* (2010), quienes reportan que el citronelol a concentración de 250 mg/L, aplicado a huevos de *M. incognita* y J2; redujo la eclosión en 41.2% y la movilidad de los J2 en un 59 %. A su vez Moreira *et al.* (2009) evaluaron al aceite esencial de citronela sobre el nematodo agallador, obteniendo una 68% a una concentración de 1000 ppm, considerando a este aceite como una alternativa prometedora para el control del nematodo. Algunos terpenos como el citronelol tienen efectos nematocidas sobre *M. incognita* resultando efectivo por su grupo hidroxilo, este intoxica a los nematodos fitoparásitos con una CL_{50} de 12 $\mu\text{g/mL}$ (Abdel-Rahman *et al.*, 2013); inferior a la reportada para citronelol en este trabajo. Limoneno tuvo una acción nematocida sobre *M. incognita* con una CL_{50} de 420.11 ppm. Por su parte Echeverrigaray *et al.* (2010), reportan que el limoneno a 250 mg/L redujo la eclosión de huevos de *M. incognita*, mientras que la movilidad de J2 se redujo en 97.6%; al igual que Ibrahim *et al.* (2006) quienes evaluaron extractos de limoneno, reportando mortalidades de 63% de los J2 de *M. incognita* y una CL_{50} 121 ppm; siendo que estas superiores a las a la mortalidad obtenida en este trabajo (35.1 %). Limoneno se obtiene principalmente de plantas del género citrus, provoca una intoxicación en los J2 por ende se puede considerar como una alternativa para el control de *M. incognita* (Ahmad *et al.*, 2004; Adegbite y Adesiyani, 2005; Toloza, 2010; Urzúa, 2011). Abdel-Rahman *et al.* (2013) comprobaron que los terpenos con grupos fenólicos, hidroxilos o carboxílicos presentan mayor actividad nematocida, resaltando la importancia del grupo funcional en la actividad nematocida de cada uno de los terpenos. El eucaliptol, presentó una CL_{50} de 547.18 ppm. Estos resultados difieren a los reportados por Corbani y Mazzonetto, (2013); en su investigación, evaluaron extractos de eucalipto sobre juveniles de *Meloidogyne* sp extraídos de raíces de plantas de tomate, reportando una CL_{50} de 2456 mg L^{-1} disminuyendo un 47% la eclosión de los huevos y en el número de agallas presentes en la zona radicular de las plantas. Abdel-Rahman *et al.* (2013), evaluaron la actividad nematocida de 34 terpenoides de compuestos químicos con 95% de pureza en juveniles de *Caenorhabditis elegans*; siendo que el eucaliptol presentó una mortalidad de 43.85% a una concentración de 50 ppm. El isotiocianato de alilo obtuvo una CL_{50} de 622.24 ppm este resultado contrasta al reportado por Aballay e Insunza (2002) quienes evaluaron un extracto botánico de mostaza (*Sinapsis alba*) sobre *M. incognita* y *Xiphinema index*; reportando una de CL_{50} 940 y 1124 mg L^{-1} para cada nematodo. El extracto obtenido de rastrojo de mostaza contiene isotiocinatos volátiles que a concentración de 2500 ppm desinfecta el suelo,

obteniendo un rango de mortalidad del 35-45 % sobre los nematodos presentes en la zona radicular de las plantas. (Perniola *et al.*, 2016; Rodríguez *et al.*, 2011). Los resultados de esta investigación difieren en gran medida con los reportados por Yu *et al.* (2005), quienes también evaluaron el isotiocianato alilo en siete especies de nematodos; reportando una CL_{50} 17-24.1 $\mu\text{g/mL}$ para *M. incognita* y *M. hapla*. Los isotiocinatos muestran efecto biocida y son considerados como uno de los metabolitos vegetales más tóxicos para el control de nematodos por su interacción no específica con proteínas y aminoácidos (Yu *et al.*, 2005), además de presentar efecto directo en la eclosión de los J2 (Yu *et al.*, 2005). Además del extracto de mostaza, existen otras brasicáceas muy efectivas en el control de nematodos, esto debido a su alto contenido de glucosinolatos los cuales se degradan por acción de los microorganismos presentes en la rizosfera, obteniendo isotiocinatos y nitrilos con acción nematocida (Lazzeri *et al.*, 2004; Cervantes y Herrera 2016). Finalmente, la azadiractina demostró tener un efecto en la mortalidad sobre J2 de *M. incognita* a concentraciones altas con una CL_{50} de 11475 ppm. Por su parte Hernández *et al.* (2006) extrajeron aceite esencial de semillas, hojas, tallos y raíces del neem, mencionan que la mortalidad varía de acuerdo con la parte de la planta donde se obtuvo el aceite esencial; mientras que una concentración de 10000 mg L^{-1} en extractos botánicos se consideran adecuadas (Vinueza y Crozzoli, 2006). Sharma *et al.* (2003), evaluó la actividad nematocida de tres fases purificadas de azadiractinas (A, B y H); siendo el extracto purificado de la azadiractina B la que se mostró como la más efectiva contra el nematodo reniforme (*Rotylenchulus reniformis*) obteniéndose una CE_{50} 96.6 ppm, seguido de Azadiractina A y H (119.1 ppm y 141.2 ppm).

CONCLUSIÓN

Los principios activos botánicos isotiocianato de alilo, eucaliptol, limoneno, azadiractina mostraron una efectividad *in vitro* en la mortalidad sobre juveniles del segundo estadio de *M. incognita*; mientras que β -citronelol obtuvo los mejores resultados en las evaluaciones sobre los juveniles de *M. incognita*. Los compuestos con actividad biológica pueden mitigar de manera importante la problemática ocasionada por *M. incognita* en el cultivo de tomate, aunque se requiere hacer más investigación para obtener de manera más certera el modo de acción de estos compuestos sobre nematodos fitoparásitos.

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por beca otorgada durante su realización de estudios a Gibran Alejandro Rojas

Estudiante del Doctorado en Ciencias en Parasitología Agrícola (PNPC Consolidado).

REFERENCIAS

- Aballay, E. e Insunza, B. 2002. Evaluación de plantas con propiedades nematocidas en el control de *Meloidogyne incognita*, *Xiphinema index* en vid de mesa cv. Thompson Seedless en la zona central de Chile. Agricultura Técnica. 62(3): 357-365. DOI: 10.4067/S0365-28072002000300002
- Abbott, W. S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. Journal of Economic Entomology. 18: 265-267. DOI: 10.1093/jee/18.2.253
- Abdel-Rahman, F. H., Alaniz, N. M., and Saleh, M. A. 2013. Nematicidal activity of terpenoids. Journal of Environmental Science and Health, Part B. 48(1): 16-22. DOI: 10.1080/03601234.2012.716686
- Adegbite, A. A. and Adesiyun, S. O. 2005. Root extracts of plants to control root-knot nematode on edible soyabean. World Journal of Agricultural Sciences. 1(1): 18-21. https://doi.org/10.1300/J484v12n02_02
- Ahmad, M. S., Mukhtar, T., and Ahmad, R. 2004. Some studies on the control of citrus nematode (*Tylenchulus semipenetrans*) by leaf extracts of three plants and their effects on plant growth variables. Asian Journal of Plant Sciences. 3(5): 544-548. DOI: 10.3923/ajps.2004.544.548
- Castro, L., Flores, L., y Uribe, L. 2011b. Efecto del vermicompost y quitina sobre el control de *Meloidogyne incognita* en tomate a nivel de invernadero. Agronomía Costarricense. 35(2): 21-32. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=43622356002>
- Cervantes, P. R., y Herrera, A. A. P. 2016. Comportamiento con diferentes enmiendas orgánicas del nematodo del nódulo *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White, 1919), Chitwood 1949, en Pimiento Paprika (*Capsicum annum* L.). In Anales Científicos. 77(2): 212-217. DOI: 10.21704/ac.v77i2.490
- Corbani, R. Z., and Mazzonetto, F. 2013. Efeito do Estrato Aquoso de Diferentes Espécies Vegetais no Manejo de *Meloidogyne incognita* em Tomateiro em Ambiente Protegido. Revista Agrogeoambiental. 5(2): 61-66. DOI: 10.18406/2316-1817v5n22013496
- Cristóbal-Alejo, J., Tun-Suárez, J. M., Moguel-Catzin, S., Marbán-Mendoza, N., Medina-Baizabal, L., Simá-Polanco, P., and Gamboa-Angulo, M. M. 2006. *In vitro* sensitivity of *Meloidogyne incognita* to extracts from native Yucatan plants. Nematropica. 36(1): 89-98. Disponible en: <http://journals.fcla.edu/nematropica/article/view/69732/67392>
- Echeverrigaray, S., Zacaria, J., and Beltrão, R. 2010. Nematicidal activity of monoterpenoids against the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. Phytopathology. 100(2), 199-203. DOI: 10.1094/PHYTO-100-2-0199
- Eisenback, J. D. (1981). Guía para la identificación de las cuatro especies más comunes del nematodo agallador (*Meloidogyne* especies), con una clave pictórica (No. Folleto 8934Y). International Meloidogyne Project. Estados Unidos.
- Franco-Navarro, F., I. Cid del Prado-Vera, E. Zavaleta-Mejía y P. Sánchez García. 2002. Aplicación de enmiendas orgánicas para el manejo de *Nacobbus aberrans* en tomate. Nematropica. 32:113-124. Disponible en: <http://journals.fcla.edu/nematropica/article/viewFile/69651/67311>
- Giacometti, R., d'Errico, G., and d'Errico, F. P. 2010. *In vitro* nematicidal activity of the experimental formulation tequil against *Meloidogyne incognita* and *Heterodera daverti*. Nematropica. 40(2): 263-268. Disponible en: <http://journals.fcla.edu/nematropica/article/view/76263/73928>
- Hernández Escalona M., Fuentes Fiallo., V, Alfonso Hernández, M., Avilés Pacheco, R. and Isman, M. 2006 Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. Annual Review of Entomology. 51: 45-66. DOI: 10.1146/annurev.ento.51.110104.151146
- Herrera-Parra, E., Cristóbal-Alejo, J., Tún-Suárez, J. M., Gamboa-Angulo, M. M., and Marbán-Mendoza, N. 2009. Extractos acuosos de *Calea urticifolia* para el control de *Meloidogyne incognita*. Nematropica. 39(2): 289-296. Disponible en: <http://journals.fcla.edu/nematropica/article/view/64488/62156>
- Ibrahim, S.K., Traboulsi, A.F. and El-Hajj, S. (2006). Effect of essential oils and plant extracts on hatching, migration and mortality of *Meloidogyne incognita*. Phytopathologia

- Mediterranea. 45(3): 238-246. DOI: 10.14601/Phytopathol_Mediterr-1828
- Jepson, S.B. (1987). Identification of root-knot nematode (*Meloidogyne* species). Wallingford, UK, CAB International.
- Joseph, B., Sowmya and Sujatha, S. 2012. Insight of botanical based biopesticides against economically important pest. International Journal of Pharmacy and Life Sciences 3(1): 2138–2148. Disponible en: <https://pdfs.semanticscholar.org/8243/8a9fe27aaf7746cd6e008fe47b6e455f6813.pdf>
- Lazzeri, L., Leoni, O. and Manici, L.M. 2004. Biocidal plant dried pellets for biofumigation. Industrial Crops and Products. 20: 59-65. DOI: 10.1016/j.indcrop.2003.12.018
- Leyva, M., French, L., Pino, O., Montada, D., Morejón, y Marquetti M.C. 2017. Plantas con actividad insecticida: una alternativa natural contra mosquitos. Estado actual de la temática en la región. Revista biomédica. 28(3):137-178.
- Mareggiani, G., Zamuner, N., y Angarola, G. 2010. Efecto de extractos acuosos de dos meliaceas sobre *Meloidogyne incognita* (Nematoda, meloidogynidae). Revista latinoamericana de química. 38(1): 68-73. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0370-59432010000100007
- Moreira, F. J. C., Santos, C. D. G., Innecco, R., and Silva, G. S. D. 2015. Alternative control of root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) race 2 with essential oils in soil. Summa Phytopathologica. 41(3): 207-213. DOI: 10.1590/0100-5405/1967
- Moreira, F. J. C., Santos, C. D. G., y Innecco, R. 2009. Eclósão e mortalidade de juvenis J2 de *Meloidogyne incognita* raça 2 em óleos essenciais. Revista Ciência Agronômica. 40(3): 441-448. Disponible en: <http://ccarevista.ufc.br/seer/index.php/ccarevista/article/view/766/365>
- Navarro-Barthelemy, L., Gómez, L., Enrique, R., González, F. M., y Rodríguez, M. G. 2009. Comportamiento de genotipos de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) frente a *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) CHITWOOD¹. Revista de Protección Vegetal. 24(1): 54-56. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S101027522009000100009
- Navas-Cortés, J. A., Vovlas, N., Trisciuzzi, N., Castillo, P., and Troccoli, A. 2010. Anatomical changes induced by two soil-borne pathogens (*Plasmodiophora brassicae* and *Meloidogyne javanica*) in cabbage. Nematologia Mediterranea. 38(1): 39-43. Disponible en: <http://journals.fcla.edu/nemamedi/article/view/87014/83911>
- Neves, W. D. S., Freitas, L. G. D., Coutinho, M. M., Dallemole-Giaretta, R., Fabry, C. D. F. S., Dhingra, O. D., and Ferraz, S. 2009. Ação nematicida de extratos de alho, mostarda, pimenta malagueta, de óleo de mostarda e de dois produtos à base de capsainóides e alil isotiocianato sobre juvenis de *Meloidogyne javanica*, (treub) Chitwood, 1949, em casa de vegetação. Summa Phytopathologica. 35(4): 255-261. DOI: 10.1590/S0100-54052009000400001
- Ntalli, N. G., Menkissoglu-Spiroudi, U., Giannakou, I. O., and Prophetou-Athanasidou, D. A. 2009. Efficacy evaluation of a neem (*Azadirachta indica* A. Juss) formulation against root-knot nematodes *Meloidogyne incognita*. Crop Protection. 28(6): 489-494. DOI: 10.1016/j.cropro.2009.01.011
- Nyczepir, A. P. and Thomas, S. H. 2009. Root-knot Nematodes, In: Perry R.N., Moens M. & Starr J.L. Eds., Current and future management strategies in intensive crop production. Wallingford: CABI, USA. pp. 412-443.
- Perniola, O. S., Chorzempa, S. E., Staltari, S., and Molina, M. D. C. 2016. Biofumigación *in vitro* con *Brassica juncea* y *Sinapis alba*. Revista de la Facultad de Agronomía, 115.
- Perry R. N., and Moens M. Plant Nematology. CABI, UK. 2006.
- Rodríguez, M. G., Díaz-Viruliche, L. P., Hernández, D., Hernández, J., Enrique, R., Gómez, L. y Suárez, Z. 2011. Impacto de la biofumigación y MATERIALES orgánicos en la recuperación de viñedo infestado con nematodos agalleros. Agronomía Tropical. 61(2): 113-124. Disponible en: http://sian.inia.gob.ve/revistas_ci/Agronomia%20Tropical/at6102/at6102rodriguez_m.pdf
- Rodríguez, M. G., Gómez, L., Hernández-Ochandíal, D., Enrique, R., Miranda, I., Pino, O., Castro-Lizazo, I., Rosales, L. C. y Díaz-Viruliche, L. 2012. Efecto de la biodesinfección con residuos de nim (*Azadirachta indica* A. Juss) sobre población

- de *Meloidogyne* spp. en suelo. Revista de Protección Vegetal. 27(3), 197-201. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522012000300010
- Román, S., Ojeda-Granados, C., y Panduro, A. 2013. Genética y evolución de la alimentación de la población en México. Rev Endocrinol Nutr. 21(1): 42-51. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/endoc/er-2013/er131f.pdf>
- Salazar-Antón, W., y Guzmán-Hernández, T. D. J. 2013. Efecto de poblaciones de *Meloidogyne* sp. en el desarrollo y rendimiento del tomate. Agronomía mesoamericana. 24(2), 419-426. Disponible en: http://www.mag.go.cr/rev_meso/v24n02_419.pdf
- Sharma, V., Walia, S., Kumar, J., Nair, M.G. and Parmar, B. S. 2003. An efficient method for the purification and characterization of nematicidal azadirachtins A, B, and H, using MPLC and ESIMS. Journal Agricultural Food Chemistry. 51 (1), 3966-3972. DOI: 10.1021/jf0342167
- SIAP (2017). Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Disponible en: http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola_siap_gobmx/AvanceNacionalSinPrograma.do [Última consulta: 27 de marzo de 2019]
- Sosa, M. E., Lancelle, H. G., Tonn, C. E., Andres, M. F., and Gonzalez-Coloma, A. 2012. Insecticidal and nematicidal essential oils from Argentinean *eupatorium* and *Baccharis* spp. Biochemical systematics and ecology. 43 (1): 132-138. DOI: 10.1016/j.bse.2012.03.007
- Taniwiryono, D., van den Berg, J. H. J., Riksen, J. A. G., Rietjens, I. M. C. M., Djiwanti, S. R., Kammenga, J. E., y Murk, A. J. 2009. Nematicidal activity of plant extracts against the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. The open natural products journal. 2 (1): 77-85. DOI: 10.2174/1874848100902010077
- Toloza, A. C. 2010. Bioactividad y toxicidad de componentes de aceites esenciales vegetales, en *Pediculus humanus capitis* (Phthiraptera: Pediculidae) resistentes a insecticidas piretroides (Doctoral dissertation) Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. Argentina. Disponible en: http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis_4665_Toloza.pdf
- Urzúa, A. 2011. Efecto insecticida del aceite esencial de *Schinus latifolius* en mosca doméstica, *musca doméstica*. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas. 10(5): 470-475. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/232309551_Insecticidal_Effect_of_Schinus_latifolius_Essential_Oil_on_the_Housefly_Musca_domestica_L
- Vinueza, S., Crozzoli, R., y Perichi, G. (2006). Evaluación *in vitro* de extractos acuosos de plantas para el control del nematodo agallador *Meloidogyne incognita*. Fitopatol. Venez. 19 (2): 26-31. Disponible en: file:///C:/Users/Administrador/Downloads/EVALUACION_IN_VITRO_DE_EXTRACTOS_ACUOSOS_DE_PLANTA.pdf
- Wiratno, Taniwiryono, D., Van Den Berg, H., Riksen, J. A. G., Rietjens, I. M. C. M., Djiwanti, S.R., Kammenga, J. E. and Murk, A.J. 2009. Nematicidal activity of plant extracts against the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. Open Nat. Prod. J. 2: 77-85.
- Yu, Q., Tsoa, R., Chiba, M., and Potter, J. 2005. Selective nematicidal activity of allyl isothiocyanate. Journal of Food, Agriculture & Environment. 3 (2): 218-221. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/266872521_Selective_nematicidal_activity_of_allyl_isothiocyanate