



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

**COMPLEJO REGIONAL NORTE – SEDE TETELA
PROGRAMA DE INGENIERÍA AGROFORESTAL**

**Elección de disolvente alcohólico para la extracción de
componentes activos provenientes de compasúchil (*Tagetes
erecta*) y su emulsificación para su uso como nematocida**

**TESIS PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADA EN INGENIERÍA AGROFORESTAL**

**PRESENTA:
ALMA YAZMÍN MORA ARRIAGA**

**DIRECTOR DE TESIS:
M.C. BENJAMÍN BARRIOS DÍAZ**

**CODIRECTOR:
DR. GUSTAVO LOZANO VÁZQUEZ**

TETELA DE OCAMPO, PUEBLA DICIEMBRE DE 2024



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

**COMPLEJO REGIONAL NORTE – SEDE TETELA DE OCAMPO
PROGRAMA DE INGENIERÍA AGROFORESTAL**

**Elección de disolvente alcohólico para la extracción de
componentes activos provenientes de cempasúchil (*Tagetes
erecta*) y su emulsificación para su uso como nematocida**

**TESIS PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADA EN INGENIERÍA AGROFORESTAL**

**PRESENTA:
ALMA YAZMÍN MORA ARRIAGA**

**DIRECTOR DE TESIS:
M.C. BENJAMÍN BARRIOS DÍAZ**

**CODIRECTOR:
DR. GUSTAVO LOZANO VÁZQUEZ**

**ASESORES:
ING. VERÓNICA TORRES VALENCIA**

M.C ALFREDO BÁEZ SIMÓN

TETELA DE OCAMPO, PUEBLA, DICIEMBRE DE 2024

El presente trabajo forma parte del Cuerpo Académico: **Sistemas agroforestales y agrícolas sostenibles** y de la línea de investigación **Agricultura protegida y uso eficiente de los recursos agrícolas**.

Además del Cuerpo Académico del **Departamento de Preparatoria Agrícola UACH, Área de química** y de la línea de investigación **Aplicaciones tecnológicas. Entrampamiento y sistemas de liberación de nutraceuticos y otros compuestos activos**.

La presente tesis titulada: **Elección de disolvente alcohólico para la extracción de componentes activos provenientes de cempasúchil (*Tagetes erecta*) y su emulsificación para su uso como nematocida**, realizada por Alma Yazmín Mora Arriaga, ha sido revisada y aprobada por el siguiente consejo particular, para obtener el Título de:

LICENCIADA EN INGENIERÍA AGROFORESTAL

Complejo Regional Norte
Sede Tetela de Ocampo
Programa de Ingeniería Agroforestal

Consejo Particular integrado por:

Firma

Director: M.C. Benjamín Barrios Díaz

Codirector: Dr. Gustavo Lozano Vázquez

Asesor: Ing. Verónica Torres Valencia

Asesor: M.C. Alfredo Báez Simón

ÍNDICE GENERAL

Contenido	Página
LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE TABLAS	x
DEDICATORIA.....	xi
AGRADECIMIENTOS.....	xii
RESUMEN.....	xiv
SUMMARY	xv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	3
2.1 Objetivo general	3
2.2 Objetivos específicos.....	3
III. HIPÓTESIS	4
IV. REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
4.1 Plagas.....	5
4.2 Control químico sintético	5
4.3 Alternativas al control químico sintético.....	6
4.4 Plaguicidas botánicos	7
4.5 Aceites esenciales.....	8

4.6 Composición de los aceites esenciales	9
4.6.1 Terpenos	9
4.6.2 Fenoles.....	10
4.6.3 Flavonoides.....	10
4.6.4 Alcaloides	10
4.7 Métodos de extracción de componentes activos.....	11
4.8 <i>Tagetes erecta</i>	12
4.8.1 Taxonomía.....	12
4.8.2 Morfología de <i>Tagetes erecta</i>	12
4.9 Antecedentes nematocidas de <i>Tagetes sp.</i>	13
4.10 Emulsiones	15
4.10.1 Factores que influyen en la emulsificación	15
4.11 Nematodos	16
4.11.1 Clasificación Taxonómica	16
4.11.2 Morfología.....	17
4.11.3 Cutícula y estructuras internas.....	17
4.11.4 Sistema digestivo.....	18
4.11.5 Intestino y esófago.....	18
4.11.6 Sistema genital femenino	18
4.11.7 Sistema genital masculino	19
4.12 Diseminación	19
4.13 Control.....	19
4.13.1 Control físico	19
4.13.2 Control químico.....	20
4.13.3 Control biológico.....	20

4.13.4 Control cultural.....	20
4.14 <i>Nacobuus aberrans</i>	21
4.14.1 Taxonomía <i>Nacobus aberrans</i>	21
4.14.2 Morfología de <i>Nacobuus aberrans</i>	21
4.14.3 Ciclo de vida <i>Nacobuus aberrans</i>	21
4.14.4 Daños de nematodos <i>Nacobuus aberrans</i>	21
V. MATERIALES Y MÉTODOS.....	23
5.1 Ubicación.....	23
5.2 Material Vegetal	23
5.3 Extractos alcohólicos.....	24
5.4 Caracterización fisicoquímica de extractos alcohólicos de <i>Tagetes erecta</i>	24
5.4.1 Densidad	24
5.4.2 Determinación del color	24
5.4.3 Determinación del pH.....	25
5.4.4 Descripción cualitativa de sólidos no disueltos en las muestras	25
5.4.5 Cromatografía por capa fina	25
5.5 Emulsificación: Pruebas cualitativas	26
5.5.1 Acondicionamiento de lecitina de soya.....	26
5.5.2 Preparación de disoluciones de alginato de sodio (AS) a distintas concentraciones	26
5.5.3 Emulsificación: Dispersión de extracto alcohólico en agua.....	26
5.5.4 Monitoreo de estabilidad de emulsión al microscopio.	27
5.5 Determinación de la cantidad de gotículas en un área determinada (Densidad)	28
5.6 Obtención de nematodos por Macerado-Tamizado-Centrifugado	28
5.7 Pruebas experimentales en invernadero con cultivo de jitomate.....	29
5.8 Análisis estadístico	29

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	30
6.1 Material vegetal de <i>Tagetes erecta</i>	30
6.2 Extractos alcohólicos: metanólico (EM) y etanólico (EE).....	31
6.2.1. Atributos fisicoquímicos de los extractos alcohólicos	33
6.3 Criterios de elección de disolvente para una mejor extracción y emulsificación.....	36
6.4 Análisis de cromatografía en capa fina del extracto etanólico (EE).....	37
6.5. Emulsificación.....	39
6.5.1 Estrategia de formulación para una emulsión estable.	39
5.6 Determinación de la cantidad de gotículas en un área determinada (Densidad).....	46
5.7 Pruebas experimentales en invernadero con cultivo de jitomate.....	52
VII. CONCLUSIÓN.....	58
VI. BIBLIOGRAFÍA.....	59

LISTA DE FIGURAS

Contenido	Página
Figura 1. Inflorescencia y cabezuela de <i>Tagetes erecta</i>	13
Figura 2. Parcela de <i>Tagetes erecta</i> , corte de cabezuelas maduras	23
Figura 3. Diámetro y peso fresco de inflorescencias.....	30
Figura 4. Peso fresco y seco de pétalos de <i>Tagetes</i>	31
Figura 5. Peso fresco inflorescencia de <i>Tagetes erecta</i>	31
Figura 6. Extracción de Compuestos activos mediante método Soxhlet.....	32
Figura 7. Destilación simple.....	32
Figura 8. Comparación cualitativa de sólidos disueltos.	35
Figura 9. Cromatografía por capa fina del extracto etanólico de <i>Tagetes erecta</i>	37
Figura 10. Cromatogramas obtenidos a partir del extracto etanólico.....	38
Figura 11. Homogeneización de lecitina con etanol relación 1:1 peso a peso	39
Figura 12 Vistos al microscopio 100 x.....	41
Figura 13 Ajuste de condiciones para incrementar la eficiencia.	42
Figura 14. Ajuste de condiciones para incrementar porcentaje de fase dispersante emulsificada, considerando nuevo rango de emulsificante.....	43
Figura 15. Hidratación de alginato de sodio.....	44
Figura 16. Densidad de las muestras, # de gotículas/600,000 μ^2	47
Figura 17. Diámetro de gotículas de A2EE3.....	48
Figura 18: Línea del tiempo grafica.	52
Figura 19. Tratamientos en campo.	53
Figura 19: Altura de plantas.	54
Figura 21. Peso fresco aéreo.....	54
Figura 22. Longitud de raíces.....	55
Figura 23. Peso fresco de raíces	56
Figura 23. Índice de agallamiento (No. Agallas/g de raíz).....	57

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Características fisicoquímicas de extracto metanólico (EM) y etanólico (EE): pH, densidad y color.....	34
Tabla 2: Matriz de diseño experimental con distintos porcentajes de EE y estabilizante /Alginato de sodio)	45

DEDICATORIA

Siempre podemos ver hacia atrás y darnos cuenta de lo mucho que hemos avanzado y que vale la pena compartir nuestros logros con las personas correctas.

En estas páginas se encuentra mucho trabajo y esfuerzo que me siento orgullosa de compartir:

- ◇ A Dios que nunca me ha dejado sola.
- ◇ A mis padres por creer en mí y confiar en que podía lograrlo, no fue rápido, pero al fin lo conseguí.
- ◇ A mi esposo Oscar, que siempre ha apoyado mis locuras y me ha cuidado con amor.
- ◇ A mi niño Diego que aprendemos nuevas cosas juntos cada día.
- ◇ A mis hermanas Diana, Brenda y Cris que, aunque a veces no entendamos de lo que hablamos, estaremos juntas para hacer chistes de nuestras pato-aventuras.
- ◇ Mi Familia que siempre convierte las reuniones en momentos épicos y dignos de recordar.
- ◇ A Sel que ha sido parte importante de este trabajo, y que ha hecho de mi vida una montaña de emociones.
- ◇ A Ing. Vero más que un docente es mi guía y mi ejemplo de superación.
- ◇ Al cuerpo académico que me guio para terminar este proyecto.

AGRADECIMIENTOS

En la vida tenemos un sinnúmero de cosas que agradecer, pero pocos los momentos en que nos damos un tiempo para hacerlo.

- ◇ A Dios por permitirme llegar hasta aquí y le pido este conmigo en la siguiente etapa de mi vida.
- ◇ A mis padres Ale y Ángel por apoyarme y guiarme en la vida, comparto este paso con ustedes, solo queda decirles que ha valido la pena cada esfuerzo que hicieron. No me alcanzara la vida para pagarles todo. Los amo.
- ◇ Óscar amor mío, me has ayudado enormemente, has estado a mi lado en los momentos más hermosos de mi vida (hasta ahora) y en aquellos cuando pensaba renunciar, he encontrado en ti a mi cómplice y compañero de aventuras. Te amo.
- ◇ Diego Alexander, mi niño hermoso, llegaste a cambiar mi mundo y me diste el Título de Mamá, eres y serás el motivo de mi existir, Te amo mi niño.
- ◇ Hermanas para cosas buenas o malas siempre me toman de ejemplo. Las quiero mucho.
- ◇ Sele, a pesar de tus quejas siempre compartimos ideas locas, gracias por llegar a alegrar mis días en el laboratorio y una disculpa por mi desorden, Tienes un rinconcito especial en mi corazón, Te quiero Sen.
- ◇ Ing. Vero siempre me motivo a dar lo mejor de mí, espero algún día ser la mitad de lo maravillosa que es usted.
- ◇ Mis tíos Israel y Juana, mis primas Lore y Fany que siempre me han apoyado con mi niño y motivado a seguir adelante.
- ◇ A mis suegros Rosa y Pascual que confiaron en mí y me apoyaron para lograr esta meta.
- ◇ A mis directores y asesores, que me permitieron aprender nuevas cosas y me apoyaron en cada momento:
- ◇ Dr. Gustavo: emprendimos un viaje hace años que ha llegado a su fin, solo queda agradecer su apoyo y espero en un futuro podamos volver a colaborar.

- ◇ Maestro Benja: gracias por todo su tiempo y ayuda (sobre todo paciencia).
- ◇ Maestro Alfredo: Gracias por su apoyo y comprensión.
- ◇ A todos mis maestros que me guiaron en la carrera y compartieron momentos inolvidables. Aunque pasamos una pandemia estuvieron atentos a la educación de sus alumnos.
- ◇ A doña Aurora, doña Chabe, don Trino que siempre compartieron su amistad y alegría a los días.
- ◇ Generación 2017, empezamos una aventura juntos y poco a poco vamos terminando, fue un placer coincidir con ustedes, en especial FANY, DANY, PAO, IVAN y GUS, aunque cada uno ya tomo su camino siempre serán mi grupito de la Uni.
- ◇ A las personas que se lleguen a interesar en este trabajo, espero les llegue a ser útil en su búsqueda.

RESUMEN

Los extractos alcohólicos (etanólicos y metanólicos) fueron obtenidos mediante shoxlet, trabajando durante 8 ciclos, la temperatura empleada fue acorde al punto de ebullición de cada disolvente, posterior a esto se pasó a destilación simple donde se destiló el 80% del disolvente logrando obtener 25mL de extracto, se procedió a hacer comparaciones de color, densidad y pH; así como solidos no disueltos en las muestras. Dados los resultados anteriores se optó por trabajar con etanol como disolvente además de que el metanol presento adherencia a los matraces de la destilación simple lo que sugiere que las propiedades de *Tagetes* quedaban atrapadas.

El extracto etanólico (EE) se emulsifico con lecitina de soya previamente acondicionada con etanol en relación 1:1 peso a peso (D1LS), esto debido a el grado de viscosidad de esta. Se diseño una matriz con distintos porcentajes de D1LS para lograr el mayor tiempo de estabilidad de la emulsión, donde se obtuvo que la formulación con lecitina de soya al 0.781% con EE al 2%, mostro menor adherencia a las paredes del contenedor, lo que indica mayor estabilidad. Una vez obtenida el porcentaje de emulsificante se agregó Alginato de sodio en indistintos porcentajes, para crear una goma de baja densidad que evite que las gotículas oleosas lleguen a coalicionar y se pierda la emulsificación, llegando a la formulación final con Alginato de sodio al 2% y extracto etanólico al 35% (A2EE3).

Se realizó una prueba experimental con plántulas de jitomate del hibrido Villa de Sakata Seeds de 35 días, los tratamientos a evaluar consistieron en un testigo, dos porcentajes de A2EE3 al 7.5% y al 5%, así como un tratamiento con nematocida comercial, donde se obtuvo que en las variables de peso aéreo, altura y peso fresco de raíz fueron significativamente superiores al testigo, en la variable de Índice de agallamiento no se obtuvo una diferencia, sin embargo, las medias de las formulaciones de A2EE3 fueron menores, lo que indica que si existe potencial nematocida en ellas. Resalta que al emplear estas dosis se encuentra fitotoxicidad en las plantas, generando clorosis en las hojas, esta puede ser controlada con la aplicación de anti estresante y una correcta nutrición.

Palabra clave: Extractos alcohólicos, Emulsificación, Estabilizante, Nematodos

SUMMARY

The alcoholic extracts (ethanolic and methanolic) were obtained by shoxlet, working for 8 cycles, the temperature used was according to the boiling point of each solvent, after this it was passed to simple distillation where 80% of the solvent was distilled achieving 25mL of extract, comparisons of color, density and pH were made; as well as undissolved solids in the samples. Given the previous results, it was decided to work with ethanol as a solvent, in addition to the fact that the methanol showed adhesion to the flasks of the simple distillation, which suggests that the properties of *Tagetes* were trapped.

The ethanolic extract (EE) was emulsified with soybean lecithin previously conditioned with ethanol in a 1:1 weight-to-weight ratio (D1LS), due to its viscosity grade. A matrix with different percentages of D1LS was designed to achieve the longest emulsion stability time, where it was obtained that the formulation with 0.781% soy lecithin with 2% EE, showed less adherence to the walls of the container, which indicates greater stability. Once the percentage of emulsifier was obtained, sodium alginate was added in indistinct percentages, to create a low-density gum that prevents the oily droplets from reaching a coalition and losing the emulsification, reaching the final formulation with 2% sodium alginate and 35% ethanolic extract (A2EE3).

An experimental test was carried out with tomato seedlings from the Villa de Sakata Seeds hybrid of 35 days, the treatments to be evaluated consisted of a control, two percentages of A2EE3 at 7.5% and 5%, as well as a treatment with commercial nematicide, where it was obtained that in the variables of aerial weight, height and fresh root weight were significantly higher than the control, in the Gall Index variable no difference was obtained, however, the means of the A2EE3 formulations were lower, which indicates that there is nematicide potential in them. He highlights that when using these doses, phytotoxicity is found in the plants, generating chlorosis in the leaves, this can be controlled with the application of anti-stressor and correct nutrition.

Keyword: Alcoholic extracts, Emulsification, Stabiliser, Nematodes

I. INTRODUCCIÓN

Al paso del tiempo la agricultura se ha enfrentado a un gran número de plagas que dificultan la producción, rentabilidad y calidad de los productos; en la última parte del siglo anterior la demanda de alimentos agrícolas aumento, así como las dificultades para dominar las formas de ataque de plagas por lo que se optó por el desarrollo y uso de químicos sintéticos para su control. Sin embargo, se ha registrado residualidad de estos productos que contaminan el suelo y mantos acuíferos.

Los nemátodos son organismos pseudocelomados, con forma de gusano, los cuales se alimentan de los tejidos internos de las plantas o partes cercanas de las raíces (Zepeda, 2018). Estos organismos poseen estiletes que emplean para alimentarse de las células de las plantas perforando las paredes de las estructuras, estos se caracterizan como ectoparásitos cuando se alojan y alimentan fuera de la planta, y como endoparásitos cuando llevan este proceso dentro de las estructuras vegetales (Porcuna, 2012).

Los agalladores se consideran como uno de los nematodos fitopatógenos más destructivos a nivel mundial, esto debido a los fuertes ataques que ocasiona en el sistema radicular de las plantas debido a la acción enzimática que secreta el nematodo, lo cual ocasiona deformaciones o agallas en las raíces, generando en la planta estrés hídrico, baja absorción de nutrientes, lo cual tiene como consecuencias disminución en los rendimientos y en la calidad de los frutos (Martínez *et al.*, 2019).

En el género *Nacobbus* se encuentran nematodos endoparásitos endémicos de América del Norte, lugar clasificado con ambientes predominantes secos o semiáridos, estos nematodos poseen una gran cantidad de herederos de importancia económica, que van desde solanáceas, crucíferas y leguminosas.

Una alternativa para el control de nemátodos es el empleo de nematicidas orgánicos o también conocidos como bionematicidas, los cuales tienen como base el empleo de productos naturales o ingredientes activos de plantas repelentes o propiedades nematicidas, como es el

caso del cempasúchil que se considera como una planta antagonista por excelencia, que ha retomado importancia en el ámbito agrícola frente a la necesidad de controlar comunidades de nematodos dañinas para el cultivo de jitomate.

Las emulsificaciones han sido estudiadas en los últimos años, mayormente conocidas por ser la coexistencia de aceite en agua, en la que la fase dispersa es el agente oleoso distribuido en microgotas en la fase dispersante (medio acuoso), esto se ha empleado como una alternativa para modificar la presentación de algunos compuestos; entre sus propiedades se encuentra la de proteger y encapsular sustancias para liberarlas de manera controlada (Jiménez, 2013).

Contar con una metodología de extracción de compuestos nematicidas provenientes de *Tagetes erecta* e incorporarlos en un sistema acuoso mediante emulsiones y estabilizadores para su fácil aplicación directa contribuiría en la reducción de lesiones en el sistema radical del cultivo de jitomate y la disminución de poblaciones de nematodos muy comunes en la Sierra Norte de Puebla, sino también en el tema ambiental al emplear productos permitidos dentro de la llamada química verde.

II. OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

Formular un nematocida orgánico en sistema acuoso, que disminuya los ataques de nematodos, mediante la extracción alcohólica, emulsificación y/o estabilización de compuestos activos provenientes de *Tagetes erecta*.

2.2 Objetivos específicos

- Obtener extractos alcohólicos de *Tagetes erecta* mediante soxhlet y destilación simple.
- Caracterizar fisicoquímicamente al extracto alcohólico de *Tagetes erecta* mediante: la determinación de densidad, color, pH, cromatografía en capa fina y mediante la descripción cualitativa de sólidos no disueltos en las muestras, para la elección del disolvente adecuado.
- Realizar pruebas de emulsificación ajustando proporciones de emulsificante y extracto alcohólico para obtener la mayor capacidad de carga.
- Realizar un diseño de experimentos añadiendo un estabilizador para asegurar el incremento en el tiempo de utilidad de la formulación final.
- Evaluar la eficacia del nematocida en plántulas de jitomate.

III. HIPÓTESIS

Los extractos alcohólicos de *Tagetes erecta* contienen propiedades nematicidas que pueden incorporarse a un sistema acuoso eficiente que al ser aplicado al suelo en el sistema radicular de jitomate disminuye las agallas producidas por la infección de *Meloidogyne* spp y *Nacobbus* spp.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1 Plagas

Una gran diversidad de plagas daña a los cultivos del hombre, defoliándolos, dañando tallos y frutos, afectando raíces, brotes, flores y/o semillas de los cultivos susceptibles (Rodríguez *et al.*, 2009). Estas forman la principal limitante de la producción agrícola (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, 2016) reduciendo cosechas, disminuyendo la calidad, disponibilidad de alimentos y materias primas, ejerciendo un impacto negativo en la población humana dependiente de la agricultura (Reyes- Tena *et al.*, 2015). Anualmente una tercera parte de la producción de alimentos debe destruirse, debido al ataque de plagas de cultivos y de productos mal almacenados (Celis *et al.*, 2008).

En la última parte del siglo anterior aumentaron las dificultades para dominar las formas de ataque de las plagas y además por la fuerte demanda de alimentos agrícolas se optó por el desarrollo y uso de químicos sintéticos conocidos como plaguicidas. (Zepeda, 2018). En los últimos años el uso de plaguicidas aumentó de manera constante, se ha establecido que solo el 0.1% de los biocidas aplicados llega a las plagas y el resto circula en el ambiente llegando a contaminar suelo, agua y la biota (Celis *et al.*, 2008).

4.2 Control químico sintético

En la actualidad se cuenta con una gran cantidad de compuestos insecticidas y otros plaguicidas con características toxicológicas, físicas y químicas muy diversas, estos han jugado un papel fundamental en la agricultura, gracias a sus efectos rápidos en el control de plagas y la facilidad de aplicación en el cultivo (Bustillo y López, 2020).

Una de las consecuencias más notables del uso excesivo de plaguicidas es que la especie objetivo genera biotipos resistentes a las formulaciones desarrollando mecanismos de defensa como resultado de la evolución y capacidad reproductiva estos (CDRSSA, 2020). Al emplear productos con la misma forma de ataque aumenta la resistencia de la plaga, provocando un

aumento económico en los sistemas de producción al emplear niveles de aplicación más altas y con mayor frecuencia.

En el caso de la exposición de humanos a estos químicos sintéticos se ha registrado una alta incidencia de enfermedades y cuadros clínicos de intoxicación relacionado a altos niveles del uso pesticidas (Torres y Capote, 2004).

4.3 Alternativas al control químico sintético

Como alternativa al uso exclusivo de productos químico como forma de control, se ha implementado el uso de sistemas como el Manejo Integrado de Plagas (MIP), donde se aprovecha la biodiversidad para hacer prevención, limitar o regular las poblaciones de organismos nocivos para el cultivo, es decir, manejar responsablemente los recursos y servicios ecológicos de manera que la naturaleza posee.

La idea principal del MIP es conservar el nivel de los daños de enfermedades y plagas por debajo del umbral económico, adoptando distintas formas de control; aunque este sistema tiene como objetivo el uso mínimo de productos químicos se recurre a ellos cuando se desea eliminar de forma rápida y precisa las plagas del cultivo, el control mecánico se basa en manejar temperaturas, inundaciones, barreras y trampas dentro de las parcelas de producción; en el caso del control biológico se recurre a la ayuda de depredadores naturales, parásitos y/o microorganismos entomopatógenos (hongos, bacterias y virus) que ayuden a disminuir las poblaciones de las plagas. La desventaja de este tipo de sistemas es que requiere mayor capacitación de los agricultores y técnicos para poder emplear y ejecutar correctamente el programa (Pérez, 2010).

Los biopesticidas forman parte de las alternativas al control químico sintético, el uso de estos permite tener una alta productividad en la agricultura sin tener agentes contaminantes y sin poner en riesgo la salud de aquellas personas que entren en contacto con este tipo de productos, que han demostrado ser excelentes en el control de las plagas (Nava *et al.*, 2012). Estos compuestos

son obtenidos a partir de materiales naturales como son animales, plantas, microorganismos y minerales, así su clasificación parte de ello.

Ondarza en el 2017 sostiene que el uso de bacterias en el control de plagas es ampliamente usado por su efectividad en el control de insectos, los hongos entomopatógenos o mico insecticidas infectan a los huéspedes penetrando su cutícula, produciendo toxinas y utilizando los nutrientes presentes, se considera muy útil en especímenes resistentes. Los pesticidas bioquímicos son sustancias naturales como extractos, ácidos grasos que hacen el aprovechamiento de sustancias que inhiben o alteran el crecimiento y la reproducción de las plagas, así como el uso de sustancias repelentes o atrayentes con ayuda de las feromonas que son empleados para detectar, monitorear o controlar las poblaciones de insectos.

4.4 Plaguicidas botánicos

Estos son obtenidos de partes de plantas o ingredientes activos de las mismas (Leng *et al.*, 2011), que emplean grandes cantidades del carbono que asimilan y la energía obtenida a la síntesis de moléculas orgánicas que no tienen relación directa en los procesos fotosintéticos y procesos vitales, que se denominan metabolitos o productos secundarios (Ojito y Portal, 2017) entre los que se encuentran los flavonoides, alcaloides, terpenos, entre otros. En este sentido, los aceites esenciales son fuentes de mezclas complejas de metabolitos secundarios lipofílicos volátiles, que son responsables de características de las plantas como el sabor o el aroma; son obtenidos a partir de fuentes vegetales mediante técnicas de arrastre de vapor y destilación con solventes (Benchaar y Greathead, 2011).

Las plantas generan diferentes compuestos originados en el metabolismo secundario que es la biosíntesis, la transformación y la degradación de los compuestos endógenos (García, 2004), como defensa ante el ataque de depredadores y patógenos potenciales (Sepúlveda, 2003).

En la naturaleza de los metabolitos secundarios se presentan mayormente como compuestos no polares, pero también encontramos metabolitos hidrosolubles y anfifílicos los cuales pueden

ser extraídos, hasta ahora con disolventes no polares como éter de petróleo y se espera que se extraigan otros compuestos con los alcoholes.

4.5 Aceites esenciales

Los aceites esenciales son mezclas complejas de metabolitos secundarios lipofílicos volátiles. Son extraídos de las plantas mediante técnicas de arrastre de vapor y destilación con disolventes, estos son responsables de características de las plantas como el sabor o el aroma (Benchaar y Greathead, 2011).

Algunos metabolitos tienen funciones ecológicas como atrayentes o repelentes de animales, Estos forman parte de pigmentos que dan el color o aroma a frutos y flores, ayudando a los procesos de reproducción sexual de las plantas; otros metabolitos forman parte de funciones protectoras, actuando como repelentes y/o pesticidas naturales, dando sabores no agradables para los organismos (Ávalos y Pérez, 2009).

Juegan un papel importante en la interacción con los insectos, tanto de atracción como de repulsión, irritabilidad y de toxicidad directa, presentando más de un mecanismo de acción. Pueden ser tóxicos para insectos, inhibir el crecimiento, la reproducción y la oviposición, actuar como anti alimentarios y/o repelentes.

Se tiene registro de algunos compuestos que son el resultado de los procesos metabólicos secundarios empleados en el control de diversas especies en distintos estadios; como ejemplo Muños *et al.*, en el 2014 realizaron un estudio con especies del género *Cymbopogon* spp (*C. nardus*, *C. flexuosus* y *C. Citratus*), en *Aedes aegypti*, dando como resultado una actividad larvicida y adulticida, por lo que concluye que el uso de estos aceites es beneficioso en el control de esta plaga.

Por su parte Marín en el 2017 evaluó aceites esenciales de *Salvia rosmarinus*, *Thymus vulgaris*, *Lavandula* y *Foeniculum vulgare*, donde encontró que *Thymus vulgaris* presenta mayor eficacia y puede ser usado como insecticida gracias a su toxicidad volátil, además de que

el resto de los aceites empleados también prometen, aunque en menor eficacia sobre el control de *Bemisia tabaco*.

El aceite esencial de *Tagetes lucida*, *Tagetes foetidissima* y *Tagetes erecta* tiene efecto en la inhibición del crecimiento micelial y esporulación de *Monilinia fruticula* (Barajas *et al.*, 2011). En el año 2012 Rincón *et al.*, trabajaron con *Tagetes heterocarpha* mostrando efectos inhibitorios sobre el crecimiento de bacterias *Erwinia chrysanthemi* y *Pseudomonas syringae* pv. *Phaseolicola* en condiciones *in vitro*.

4.6 Composición de los aceites esenciales

Son una mezcla química compleja pueden ser volátiles a temperatura y presión atmosférica normal (Zygadlo, sf) estos son fracciones líquidas volátiles que son sintetizados por algunas plantas concediéndoles el olor característico (Martínez, 2003)). Se han descrito cuatro grupos principales en los aceites.

4.6.1 Terpenos

Son compuestos muy abundantes en la naturaleza, registrando 4600 compuestos, entre los que se conocen hormonas, pigmentos o aceites esenciales. Poseen un gran potencial en la industria agroalimentaria, debido a que son un pilar principal como saborizantes, colorantes y odorantes; también han sido evaluados en el campo de agricultura y la biotecnología mostrando excelentes resultados como antibacteriales (González *et al.*, 2016).

Los terpenos poseen una potencial actividad en el control biológico de patógenos que afectan a los cultivos vegetales, actuando como repelentes e inhibidores de la alimentación y la oviposición de algunos insectos fitopatógenos, disminuyendo pérdidas económicas a nivel mundial, el uso de estos metabolitos disminuye el uso de agroquímicos sintéticos que se usan en el campo agrícola (González *et al.*, 2016). Un ejemplo de ellos con los terpenos de naranja que en su mayoría de encuentra el dextro-limoneno que trabaja en la inhibición de esporas de

Alternaria tenuissima en semillas de cártamo, así mismo como la disminución en el crecimiento de micelio del hongo (Quintana *et al.*, 2017)

4.6.2 Fenoles

Son compuestos hidroxilados que se manejan como anti alimentarios, los taninos poseen un sabor amargo formando una barrera para los insectos, las cumarinas poseen características toxicas para nematodos, ácaros e insectos, además; impiden el crecimiento de hongos (Nava *et al.*, 2012). Son un grupo que comprende desde moléculas sencillas hasta polímeros. Poseen actividad contra bacterias y hongos, los polifenoles poseen la capacidad para inhibir los procesos fisiológicos vitales, gracias a la oxidación de encimas específicas; también se reporta que estas sustancias pueden adherirse a las cadenas de ADN evitando la reproducción o procesos vitales para los microorganismos (Martín, 2017).

4.6.3 Flavonoides

Son compuestos que proporcionan color a las plantas y flores, por ejemplo, la rotenona. Actúan como inhibidores enzimáticos y tienen actividad repelente (Nava, 2012). Los flavonoides poseen funciones de defensa, de señal química y efecto sobre las enzimas (Cartaya y Reynaldo, 2001), aquello de naturaleza lipofílica tienen una actividad antifúngica relevante, conforma valiosas barreras ante la penetración de hongos dañinos.

4.6.4 Alcaloides

Son el grupo con mayor diversidad en cuanto a metabolitos secundarios, tiene una gran variedad de efectos tóxicos; un ejemplo de ellos es la nicotina. Algunas plantas liberan estos compuestos en el suelo de manera natural, durante su crecimiento, o como subproductos de la descomposición de los residuos; llevando a cabo un control nematológico de manera natural (Talavera, 2003).

4.7 Métodos de extracción de componentes activos

Existen diversos métodos de extracción de componentes, como la maceración, hidrodestilación, arrastre por vapor y extracción con disolventes.

La técnica de maceración se lleva a cabo sumergiendo la muestra vegetal hasta cubrir en su totalidad con el disolvente en un recipiente con tapa, protegido de la luz y dejando reposar a temperatura ambiente agitando constantemente. La extracción con disolventes también se conoce como extracción sólido-líquido, los disolventes comúnmente usados son agua acidificada, etanol, metanol, isopropanol, hexano, cloroformo (Tabio *et al.*, 2017), en este apartado se destaca el método de Soxhlet, en el que las muestras son sometidas a lavados constantes con disolventes calientes; esta es un trabajo de transferencia de masa, donde un disolvente extrae los compuestos activos de que se encuentran dentro de una matriz sólida, este método se ha empleado en la extracción de muchos compuestos, tales como de hojas de olivo, semillas de moringa entre otros (Jaime, 2021).

Camacho-Campos en el 2018, realizaron una extracción de componentes activos de flores y hojas de *Tagetes erecta* utilizando extractos acuosos y etanólicos, dando como resultado la extracción de flavonoides, terpenoides, taninos de forma abundante, glucósidos cardiotónicos, esteroides, concluyeron que el mejor solvente es el etanol para obtener estos compuestos.

4.8 *Tagetes erecta*

4.8.1 Taxonomía

Reino	<i>Plantae</i>
Phylum o división	<i>Tracheophyta</i>
Clase	<i>Magnoliopsida</i>
Orden	<i>Asterales</i>
Familia	<i>Compositae</i>
Género	<i>Tagetes</i>
Especie	<i>Tagetes erecta</i>
Nombre científico	<i>Tagetes erecta</i> L.

4.8.2 Morfología de *Tagetes erecta*

El género *Tagetes* es nativo de América, son plantas herbáceas de fragantes aromas y colores. Posee una presencia importante en la industria ornamental en la biomédica y en la agricultura. Gracias a sus componentes bioactivos se emplea como bactericida, fungicida, nematocida e insecticida.

Es una planta herbácea erecta anual de aproximadamente 1.8 m de altura, con un tallo acostillado o pubescente, sus hojas son opuestas, alternas llegando a medir 20 cm de largo, son pinnadas de 11 a 17 foliolos, lanceoladas de 5 cm de largo y 1.5 cm de ancho, agudas a acuminadas y posee una raíz fibrosa.

La inflorescencia se presenta en forma de cabezuelas solitarias o agrupadas por varias, sobre pedúnculos de hasta 15 cm de largo, provistos de brácteas pinnadas con segmentos cerdiformes en el ápice. La cabezuela mide de 13 a 20 mm de alto y 9 a 25 mm de ancho, contiene flores individuales de tipo tubulado o ligulado, presentan tonalidades que varían de naranjas o amarillas debido a la presencia de carotenoides y otros compuestos que le otorgan el aroma

característico a la especie. Las semillas de *Tagetes* son aquenios lineares de 7 a 10 mm de largo (CONABIO, 2009) (Figura 1).



Figura 1. Inflorescencia y cabezuela de *Tagetes erecta*

4.9 Antecedentes nematocidas de *Tagetes* sp.

El cempasúchil (*Tagetes erecta*) forma parte de la elaboración de bioproductos para el control de fungicidas, nematocidas e insecticidas, y como colorante natural en la industria alimenticia (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2022).

Existen diversos estudios donde se afirma la existencia de compuestos con efectos toxicológicos frente a algunas plagas, Avelar Mejía *et al.*, en el 2018 realizaron un estudio de control de nematodos *Meloidogyne* spp tomando como planta protectora y repelente al cempasúchil (*Tagetes erecta*) donde obtuvo una disminución del número de nematodos, redujo en mayor grado la presencia de agallas, adjudicado a los tiofenoles que la planta exuda. Además de que, al compartir espacio, agua y nutrientes, las raíces de cempasúchil no presentan negatividad en el crecimiento de las raíces del jitomate, por lo que concluyó que el uso de plantas de cempasúchil en cultivo de jitomate no presenta dificultad de manejo, y presenta mejoras en la calidad de las raíces del jitomate.

En su estudio Flores *et al.*, en el 2021 identificaron compuestos biosintetizados por *T. nelsonii* compuestos terpénicos mayoritariamente (E)-tagetona (43-9%) y dihidrotagetona (20.7%), también trans- β -ocimeno, eucaliptol, limoneno y β -cubebeno aunque en menor cantidad. Además de compuestos fragantes como α y β -pineno, trans- β -ocimeno, limoneno, linalool, (E) y (Z)-tagetona, dihidrotagetona y cis y trans-tagetona.

Por su parte Álvarez *et al.*, en el 2015, identificaron tres compuestos mayoritarios en el aceite esencial de *Tagetes zipaquirensis*: dihidrotagetona, E-tagetona y Trans-ocimenona. En su ensayo demostró que al aplicar el aceite esencial disminuyo la severidad de los ataques del nematodo *Meloidogyne* spp, afectando el número de huevos y juveniles. Por otro lado, Cedillo *et al.*, en el 2012 realizaron una extracción de aceite de *Tagetes lancera* donde obtuvo rendimientos de 25 mL en 10kg de material fresco, e identificó 6 componentes principales, encontrando E-tagetona (26.2%), crisantenona (24.8%), verbenona (22.1%) y α -thujeno (20.5%), en menor proporción β -pineno (3.1%) y α -pineno (1.9%), y elementos traza (1.4%), sustancias capaces de actuar como biocidas sobre ciertos organismos patógenos.

Pinzón *et al.*, en el 2015 realizaron un estudio de control de *Meloidogyne incognita* en tomate (*Solanum lycopersicum* L.) con *Trichoderma harzianum*, donde obtuvo mortandad completa de juveniles en el segundo estadio en las 24 horas posteriores después de la aplicación, además sostiene que cepas de *T. harzianum* de la rizosfera de lugares sin intervenciones agrícolas actúa como bioestimulante en el crecimiento y desarrollo de *S. lycopersicum*, además, de la inhibición de poblaciones de nematodos.

De acuerdo con Diaz *et al.*, 2012 la E-tagetona forma parte importante en el aceite esencial del género *Tagetes*. Este metabolito pertenece a los monoterpenos no cíclicos, que junto a la dihidrotagetona y la ocimenona que también se encuentran en la planta otorgan el olor característico a *Tagetes*, los cuales se hacen presentes al frotar o romper las hojas, tallos o inflorescencias.

4.10 Emulsiones

Se conoce como emulsificación a una dispersión de dos o más líquidos, la mayoría de estas se componen de fase acuosa y una parte oleosa (apolar) (Aranberri, 2006) además, de un surfactante mediante agitación, este último actúa como una extensión de la interfase mediante el proceso y también estabiliza la emulsión retrasando la coalescencia de las gotas de la fase dispersa.

Existen emulsiones simples, se tratan de dispersiones de aceite/agua (O/W) por sus siglas en inglés, y cuando se trata de agua en aceite (W/O). Así mismo las emulsiones múltiples son sistemas líquido/líquido dispersados en una emulsión (Marfisi, 2005).

A pesar de ser cinemáticamente inestables pueden estabilizarse con la presencia de tensioactivos que ayuden a la adsorción en la superficie de las gotas.

4.10.1 Factores que influyen en la emulsificación

Tensión superficial: Es el fenómeno que se encuentra en los líquidos, específicamente en la superficie, provocado por las fuerzas de cohesión de las moléculas, en este caso se encuentra en la interfaz de las fases.

Presencia de Surfactantes: Son sustancias denominadas anfipáticas, caracterizados por poseer una parte o cabeza hidrofóbica (polar) y la cola hidrofílica (apolar), lo que hace que se puedan interactuar con fases polares y apolares. Los surfactantes se adsorben en la interfaz de las fases, estabilizándolas mediante la reducción de la tensión superficial y la creación de repulsiones estéricas y eléctricas, se ha encontrado que la presencia de estos compuestos aumenta la viscosidad de las emulsiones, y por consecuencia la estabilidad (Pilotzi, 2015).

Viscosidad: La estabilización de las emulsiones está estrechamente relacionada con la concentración de la fase dispersa y el tamaño de las partículas, al aumentar la viscosidad se verifica un aumento en la concentración de las partículas por la disminución en el tamaño de

estas. Por lo que al aumentar la viscosidad de la fase continua retarda la coalescencia de las gotículas de la emulsión (Vivas *et al.*, 2013).

Tamaño de las partículas: Dependiendo del tipo de homogenizador empleado, la fuerza, el tiempo y las fases a emulsificar dependerá al tamaño de las gotículas, mientras menor tamaño tenga este mayor tiempo de estabilidad tendrá, debido a la presión según la Ley de Laplace.

4.11 Nematodos

4.11.1 Clasificación Taxonómica

- Dominio: *Eukarya*
- Reino: *Animalia*
- Filo: *Nematoda*

Los nematodos forman una de las principales plagas que agobian los cultivos, disminuyendo la productividad de estos y causando pérdidas económicas importantes; son animales acuáticos muy delgados generalmente cilíndricos que viven en la película de agua que rodea las partículas de suelo.

Son seres microscópicos constituyentes del mayor grupo de animales multicelulares en la tierra, pueden ser localizados en la mayoría de los hábitats (Talavera 2003). Se asocian al desarrollo de las plantas y por ende a la producción del cultivo, Se han realizado estudios donde avalan que los factores edafoclimáticos y prácticas de agricultura como son los monocultivos favorecen los daños causados por estos (Salazar, 2013).

La presencia de nematodos en jitomate se asocia a la daños de la infección inicial, en casos donde la presencia es alta se limita el desarrollo y crecimiento de las plantas, llegando a perdidas de la plantación, por el contrario si la población es baja, se irán desarrollando en la manera en la que se desarrolle el cultivo, presentando reducción en el rendimiento y calidad de los frutos, además de clorosis, marchitez, enanismo, falta de vigor, todo esto puede confundirse con

deficiencia de nutrientes, mientras que el sistema radical presenta nódulos y atrofia de las raíces por lo que se dificulta la absorción de agua y nutrientes, además de que al penetrar la raíz facilita la intromisión de agentes patógenos (Vicente, 2007).

4.11.2 Morfología

Son organismos cilíndricos con extremos agudos, las dimensiones varían dependiendo de la especie, el sexo y con el estadio en el que se encuentren; van desde los 150 μm hasta 1000 μm . En ciertas especies el tamaño de la hembra es relativamente superior al del macho. Algunas especies de nematodos suelen diferenciarse las hembras de los machos al hincharse cuando logra encontrar la forma de introducirse a la raíz para alimentarse, de esta forma pierde su movilidad, por su parte los machos mantienen su forma cilíndrica delgada para poder encontrar a hembras inactivas (Bongers y Esquivel, 2015).

Poseen una simetría bilateral, vermiformes en su mayoría, carecen de apéndices, tienen sistemas digestivo, excretor, nervioso, muscular y reproductor, carecen de sistema circulatorio y respiratorio (Alcasio, 2014).

4.11.3 Cutícula y estructuras internas

Es elástica y está formada por distintas capas, la más externa a menudo es eliminada en el proceso de muda, puede ser lisa o provista de incisuras longitudinales y / o anulaciones. En algunas especies parecen estar segmentados, pero esto es únicamente externo.

Los encargados de la función quimiorreceptora son los anfidios, se localizan en la parte anterior del espécimen. Este varía en ubicación y forma, las especies fitoparásitos tienen anfidios sobre sus labios y son difíciles de observar, esta es una característica importante en su identificación (Bongers y Esquivel, 2015).

4.11.4 Sistema digestivo

La cavidad bucal y el esófago son empleados en la caracterización de los hábitos de alimentación de los nematodos, de acuerdo con algunos autores la forma de la boca era tubular, el cual se compone de cinco elementos. En el caso de nematodos fitoparásitos evolucionaron hasta cambiar su estructura y en su lugar poseer un estilete hueco, este es esclerotizado (Bongers y Esquivel, 2015).

4.11.5 Intestino y esófago

El lumen del odontoestilete penetra proximalmente en el lumen del esófago y éste a su vez en el intestino, la faringe o esófago es muscular y posee tres o cinco glándulas. Posee un bulbo medio o *metacarpus* que se localiza a mitad del esófago y además de un aparato bulbar, el primero ejerce presión sobre los alimentos para llevarlos hacia el intestino.

El istmo se ubica en la región posterior al esófago, en este se encuentra el anillo nervioso, que se conecta al nervio ventral por medio del hemizonidio. Finalmente, la abertura de la glándula excretoria ventral o poro excretorio.

En el trayecto del alimento entre el esófago y el intestino se ubican los cardias, que son las encargadas de evitar que el contenido del intestino regrese al esófago. La función del intestino es principalmente el almacenamiento de alimento. Una vez terminado el proceso de digestión, los desechos son excretados vía rectum y abertura anal (Bongers y Esquivel, 2015).

4.11.6 Sistema genital femenino

Los nematodos adultos poseen un genital bien desarrollado, el caso de las hembras tienen dos gónadas u ovarios alargadas o flexibles, donde se producen los huevos, que antes de ser fecundados pasan por la espermioteca donde son fertilizados, estos adquieren la cáscara crustiforme y son depositados vía vagina y vulva (Bongers y Esquivel, 2015).

4.11.7 Sistema genital masculino

Se compone de uno o dos testículos, el esperma se conduce hacia la cloaca mediante el vaso deferente a la cloaca. Posee dos piezas esclerotizada denominadas espículas, cuya función es abrir la vulva para crear un acceso para el paso del esperma hacia la espermateca. Además de dos incisuras en la pared dorsal de la cloaca, que ayudan a guiar a las espículas, estas tienen diversas formas, denominadas *gubernaculum* (Bongers y Esquivel, 2015).

4.12 Diseminación

El ciclo de vida de los nematodos conlleva una fase de huevo, seis estadios juveniles y un estadio de adulto reproductivo (Cantera, 20019). Esta plaga tiene la facilidad de diseminarse y propagarse fácilmente, las formas más comunes son en riego por inundación, material biológico (plántulas) contaminadas, herramienta de trabajo sin esterilización de un sitio de trabajo a otro.

4.13 Control

El objetivo principal es evitar pérdidas significativas de la calidad y el rendimiento de las plantas, y/o mantener las poblaciones de nematodos por debajo del umbral económicamente dañinos.

4.13.1 Control físico

Una práctica utilizada es la de solarización que consiste en elevar la temperatura del suelo, ya sea calentando el suelo eléctricamente o con vapor, aunque la desventaja de ambas es el consumo de energía. Otra opción consta de colocar películas plásticas en el suelo y permitir que el sol eleve la temperatura de este. La principal ventaja de la solarización es la ausencia de residuos químicos en el suelo, asociados con los métodos de control químico sintético.

4.13.2 Control químico

Los productos químicos que paralizan o matan se denominan nematicidas, debido a su forma de vida de los nematodos estos pasan la mayor parte en el suelo, esto crea una ventaja para el empleo de estos productos. Actualmente se tiene registro de algunos productos que fueron o son utilizados como nematicidas que llegan a dejar residuos peligrosos no solo en el suelo, si no también afectando a todo el ecosistema.

Los fenamifos: 0-etil-0-(3-metil-4-metiltiofenil) isopropilamido-fosfato o etil-metiltio-m-tolil isopropilamidofosfato que se encuentran en el grupo químico de los organofosforados, presentan toxicidad en abejas, peces y aves. En el caso de etoprofos: O-etil S, S-dipropil fosforoditioato pueden provocar intoxicaciones dando paso a convulsiones, temblores, ansiedad, alergias, alteración de conciencia, irritación de la piel y del tracto digestivos, dolor y enrojecimiento de los ojos y a largo plazo anorexia, náuseas y vómitos (Hurtado *et al.*,2005).

4.13.3 Control biológico

Los nematodos fitopatógenos tienen enemigos naturales como virus, hongos, nematodos depredadores, ácaros y bacterias que pueden ser utilizados en los sistemas de Manejo Integrado de Plagas (MIP), reduciendo así a las poblaciones de nematodos.

4.13.4 Control cultural

Son prácticas que ayudan a mantener las poblaciones de nematodos bajas empleando medidas como rotación de cultivos que es de las prácticas más utilizadas, uso de cultivos trampa, incorporación de materia orgánica al suelo, incorporación de crucíferas para biofumigación, alelopatía de algunos cultivos y saneamiento del terreno para eliminar la cantidad de inóculo presente.

4.14 *Nacobuus aberrans*

4.14.1 Taxonomía *Nacobus aberrans*

- Phylum: *Nematoda*
- Clase: *Chromadorea*
- Orden: *Panagrolainidae*
- Género: *Nacobbus*
- Especie: *Nacobbus aberrans*

4.14.2 Morfología de *Nacobuus aberrans*

Las hembras poseen un fuerte dimorfismo sexual, son vermiformes alargadas, con cutícula anulada, posee un estilete de 21 a 25 μ de largo; la hembra adulta es migratoria en el suelo y en las raíces. Generalmente parasitan de manera individual causando las agallas de rosario. Los machos son veriformes, posee un estilete de 23 μ de largo y un testículo único extendido.

4.14.3 Ciclo de vida *Nacobuus aberrans*

Depende de las condiciones edafoclimáticas, de esto depende si poseen generaciones más cortas o largas, la hembra secreta una matriz gelatinosa donde deposita los huevos, y dentro de este el primer estadio juvenil del nematodo se desarrolla, la tercera muda se genera dentro o fuera de la raíz, una vez establecida la hembra en la raíz y fecundada se vuelven sedentarias y se reinicia el ciclo que puede durar menos de un mes. Pueden sobrevivir largos periodos sin alimento, cuando las condiciones mejoran y el alimento está disponible vuelven a emerger.

4.14.4 Daños de nematodos *Nacobuus aberrans*

Una vez parasitada con las hembras secretan una enzima para generar una atrofia del crecimiento apical, atrofiada la raíz la planta carece de nutrientes y agua, lo que lleva a una baja

calidad de la planta y de la producción: así como clorosis en las hojas y marchitamiento, pueden parasitar las raíces principales, así como las secundarias, se distribuyen a lo largo de la raíz y generan nódulos que adquieren la forma de rosario.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Ubicación

Los ensayos se llevaron a cabo en las instalaciones de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, en el Complejo Regional Norte, Sede Tetela de Ocampo. Con las coordenadas geográficas 19° 43' 00" y 19° 57' 06" de latitud norte y los meridianos 97° 38' 42" y 97° 54' 06" de longitud occidental.

5.2 Material Vegetal

Con el objeto de evitar residuos de agroquímicos sintéticos en el material vegetal, este se cultivó en parcelas con riego de temporal entre los meses de junio a noviembre, se realizó siembra directa al voleo y con control manual de malezas (Figura 2). La cosecha se realizó de forma manual, se tomaron al azar dos lotes de 10 flores, de las cuales con una regla de 30cm se les tomó el diámetro (cm) y con una báscula analítica marca OHAUS Adventurer, se tomó el peso de la inflorescencia (g), se separó el cáliz y semillas para tomar el peso de los pétalos frescos (g), posteriormente en una estufa de secado marca RIOSSA se deshidrataron a 38°C por 48 h, se tomó el peso seco (g). Los pétalos deshidratados se almacenaron en bolsas con cierre ziploc con 5 g por bolsa, resguardándolos de la humedad y la luz.

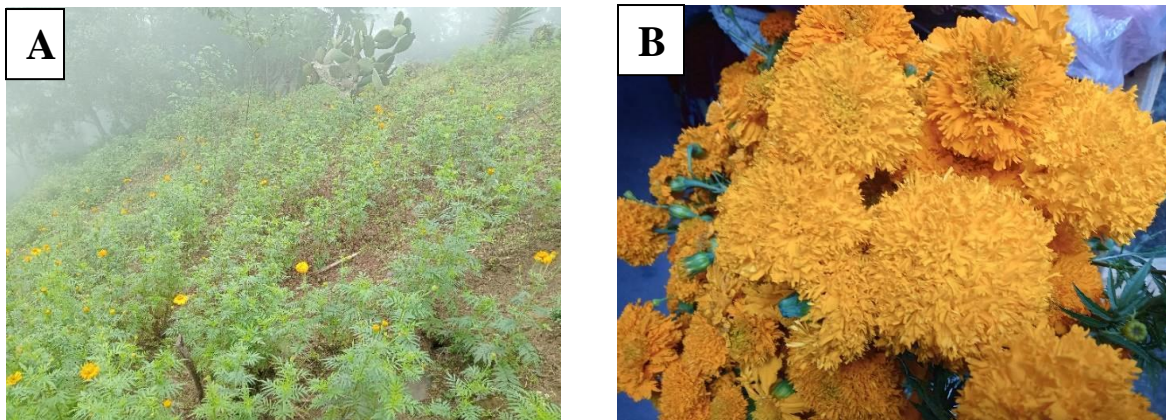


Figura 2. Parcela de *Tagetes erecta* (A), corte de cabezuelas maduras (B)

5.3 Extractos alcohólicos

Para la extracción, se utilizaron dos disolventes alcohólicos, etanol y metanol absolutos marca MEYER, esto con la finalidad de poder elegir el disolvente que mostrara las mejores características de manejo y extracción de componentes activos. Para ello, se realizó una maceración de 2 g de flor deshidratada en 100 mL de disolvente (esto debido a la capacidad del filtro de Soxhlet), resguardando del sol cubriéndolo con papel aluminio y agitando constantemente por 24 horas antes de realizar la extracción por Soxhlet; para ésta, se agregó 150 mL más de disolvente, completando así hasta un volumen final de 250 mL. El sistema trabajó hasta obtener 8 ciclos, conocidos también como “sifoneo de Soxhlet”.

En el caso del metanol se llevó a cabo con una temperatura constante de 64°C y el etanol se trabajó a una temperatura de 78° C, esto debido a las diferentes temperaturas de ebullición de los disolventes. Se logró destilar el 80% del disolvente, obteniéndose 25 mL de extractos por cada corrida, los cuales fueron guardados en frascos ámbar, sellados con papel Parafilm y roturados, estos se mantuvieron en refrigeración, aislados de la humedad y de la luz hasta su uso. Se denominó Extracto Etanólico (EE), Extracto Metanólico (EM) o Extracto alcohólico (EA), según el caso.

5.4 Caracterización fisicoquímica de extractos alcohólicos de *Tagetes erecta*

5.4.1 Densidad

Se obtuvo mediante picnometría, se empleó un picnómetro, marca KIMAX, con capacidad de 25 mL y una báscula analítica, obteniéndose la relación masa sobre volumen, a 20 °C.

5.4.2 Determinación del color

Se realizó con un colorímetro marca CHROMA Meter Pro; se utilizó como blanco de calibración el incluido internamente en el mismo equipo, de acuerdo con su manual de usuario. Para realizar la medición, fue necesario preparar la muestra por capilaridad, para ello, el extracto

se homogenizó manualmente y con jeringas estériles de 2.5 mL se tomó 0.2 mL que fueron depositados en hojas blancas de un grosor de 0.21 mm, a una altura de dos centímetros y dejando secar sobre un vaso de precipitados, evitando que la muestra se altere con la superficie.

5.4.3 Determinación del pH

Se empleó un potenciómetro marca HANNA instrument, calibrando este previamente con soluciones de pH 4 y 7. Cada muestra se depositó en un eppendorf de 1 mL.

5.4.4 Descripción cualitativa de sólidos no disueltos en las muestras

En tubos de ensaye de 6 mL se colocaron 1.5 mL de extracto etanólico, agitar vigorosamente y observar comportamiento al transcurrir 1, 3 y 12 horas en refrigeración.

5.4.5 Cromatografía por capa fina

Se empleo la técnica de cromofotografía por capa fina, usando para la mezcla de elución: cloroformo (C), etanol (E) y benceno (B) absolutos marca Mayer. Con la finalidad de modificar la polaridad de la disolución eluyente, se usaron tres combinaciones con dos repeticiones, manteniendo las siguientes proporciones: 6:3:1 y con cada una de las siguientes combinaciones: 1) Benceno, Cloroformo y Etanol (BCE); 2) Cloroformo, Etanol y Benceno (CEB); y 3) Etanol, Benceno y Cloroformo (EBC). Para ello, se emplearon placas de TLC Silica Gel 60, de medidas de 1 X 20 cm y una cámara de elución. Con un lápiz del No. 2 se marcó una línea suave a 1 cm de distancia entre los extremos que se llamaron marca de inicio y frente final. Se tomo una pequeña cantidad de extracto previamente diluido en 1 parte de etanol por 2 de extracto. Después de que la muestra se secó, se colocó en la cámara de elución asegurándose de no sumergir la maraca de elución al área de aplicación de la mezcla. Se registro la línea de avance (frente del eluyente) y el avance de cada fracción para poder calcular el Rf, el cual es un cociente entre valor de desplazamiento de los pigmentos (Dm) con respecto a la distancia recorrida de frente del eluyente (Dd).

5.5 Emulsificación: Pruebas cualitativas

5.5.1 Acondicionamiento de lecitina de soya

La lecitina de soya utilizada contaba con valor ácido de 26 - 30 mg KOH/g, humedad 0.8 % y con viscosidad de 12,000 cps; debido a su naturaleza de alta viscosidad, para facilitar su aplicación con micropipetas, fue necesario realizar una dispersión inicial de lecitina de soya y etanol, 1:1 peso/ peso , la cual se homogeneizó a 1000 rpm durante 5 minutos, a dicha disolución se denominó Disolución 1 de Lecitina de Soya (D1LS), considerar que se tomó la muestra mientras se llevaba a cabo agitación constante evitando así la decantación.

5.5.2 Preparación de disoluciones de alginato de sodio (AS) a distintas concentraciones

Para realizar las disoluciones de AS a distintas concentraciones, fue necesario hidratarlo con 24 horas de anticipación, para ello, se pesó la cantidad porcentual del AS en polvo y se reservó, posteriormente, en un vaso de precipitado se agregó la cantidad de agua purificada correspondiente a temperatura ambiente, con un agitador magnético, se puso en la parrilla de agitación. En el lapso de 20 minutos, se adiciono pequeñas cantidades de AS en polvo, hasta su incorporación total en el agua, hecho esto, con ayuda de una espátula plana se deshizo los aglomerados hasta reducir su tamaño al mínimo en agitación continua a 1500 rpm, a temperatura ambiente por 24 h o hasta su total disolución.

5.5.3 Emulsificación: Dispersión de extracto alcohólico en agua

Se utilizó la D1LS como emulsificante para lograr, al menos una formulación final de la dispersión entre el extracto alcohólico con compuestos bioactivos en agua, a un volumen final definido; para ello, se realizaron los cálculos necesarios y a partir de éstos, se agregó el % de agua correspondiente en el vaso de precipitados y se incorporó poco a poco cada uno de los porcentajes definidos de emulsificante utilizando en cada formulación, esto mediante un

homogeneizador FSH-2^a, High Speed Homogenizer Alemania, seguido de esto, se añadió el EA de la misma manera.

La emulsificación se realizó en tres etapas:

Etapa I. Se realizó una primera prueba de emulsificación extracto alcohólico en agua, con un volumen final de 80 mL, añadiendo 2 % EA y variando distintos % de D1LS (0 %, 0.78 %, 1.56 % y 2.34 %).

Etapa II. Se aplicaron variaciones de % de D1LS (0.0%, 0.195%, 0.390%, 0.585%, y 0.781%) e incremento del % de extractos etanólicos, siendo éste del 2 al 15 %.

Etapa III. Incremento de EE emulsificado y estabilización de formulación con una goma, alginato de sodio (ver inciso 5.2.2.). Ésta última etapa consistió en generar un diseño, que permitiera analizar el efecto en la estabilidad de la emulsión al combinar 4, porcentajes de EE que son: 15%, 25%, 35% y 45%, con distintos porcentajes de estabilizante alginato de sodio en disolución, en concentraciones del 0%, 1%, 2% y 3% respectivamente (ver preparación de disoluciones de alginato de sodio), dando un total de 16 muestras.

Una vez obtenidas las emulsiones fueron guardadas en condiciones de refrigeración y sacadas únicamente para su monitoreo en microscopio.

5.5.4 Monitoreo de estabilidad de emulsión al microscopio.

Con micropipeta se tomó una gota de las muestras y se depositó en portaobjetos, cuidadosamente se colocó el cubreobjetos, se agregó sobre la superficie de este una gota de aceite de inmersión para reducir la dispersión de la luz y obtener mejores resoluciones en las imágenes obtenidas en con el objetivo de 100X.

Se monitoreo cada tres días, agitando ligeramente previo a la toma de muestra y colocando una gota con ayuda de un gotero en el portaobjetos, la supervisión se llevó a cabo con un

microscopio binocular con aceite de inmersión y tomando una foto como registro de su proceso. La muestra final con los mejores valores se denominó Emulsificación de Tagetes (ET).

5.5 Determinación de la cantidad de gotículas en un área determinada (Densidad)

Una vez obtenidas las imágenes se utilizó el software Image J-1.8.0 previamente calibrado con una imagen de un portaobjetos graduado a micrómetros tomado con el objetivo 100x. Tomando un área de $600,000\mu^2$, con las herramientas del programa se tomó el número de gotículas y el diámetro de estas.

5.6 Obtención de nematodos por Macerado-Tamizado-Centrifugado

Se realizó una colecta de suelo la Zona de Cuapancingo, Municipio de Tetela de Ocampo, Sierra Norte de Puebla, las muestras se tomaron en distintos puntos del suelo de invernaderos con plantas infectadas, específicamente en la zona de raíces con agallas, esto con la finalidad de tener distintas texturas y homogenizarlas para tener un solo sustrato. A partir de ello, se tomaron tres muestras, cada una de ellas de 100g y se les aplicó la metodología modificada de Rosas en el 2014 para determinar la cantidad de nematodos presente, la cual consiste en que las muestras se depositan en recipientes de 5 litros de capacidad, reducir el tamaño de partícula mediante agitación vigorosa y pasar por distintos tamices: 20, 60, 100, 250 con el fin de retirar todos los residuos de material vegetal o rocas de mayor tamaño presentes en la muestra.

Al terminar de pasar por los tamices se colectaron las arcillas del tamiz de 250 en tubos de centrifugas de 15 mL, mediante lavados con piseta. Las cuales se llevaron a centrifugar por 5 minutos a una fuerza de centrifuga de 5000 rpm, se descarta el sobrenadante, para agregar 15 mL de solución azucarada a 16° Brix y centrifugar a 2900 rpm por 2 minutos, para finalizar se coloca en tamiz de 250 y eliminar el exceso de azúcar a través de lavados con agua. Se colecto la muestra en cajas Petri para su conteo a través del microscopio.

5.7 Pruebas experimentales en invernadero con cultivo de jitomate

Se llevo a cabo una prueba para comprobar la eficacia de la Emulsión hecha con el extracto de Tagetes (ET), así como la dosis para lograrlo. Se preparo un tratamiento previo al trasplante, el cual se llevó a cabo con la metodología que emplean los productores de la zona, el cual consiste en remojar 30 segundos los cepellones en medio litro de agua con el nematicida. Las plantas se obtuvieron del semillero de la empresa Teza, del hibrido Villa de Sakata Seeds de 35 días. Los productos se aplicaron nuevamente al tercer y al octavo día del trasplante siguiendo la metodología de Solano en el 2013, donde indica aplicar en la zona de la rizosfera de las plantas.

Se emplearon contenedores de viveros donde se colocó 1 kg de sustrato previamente colectado, trabajando con 5 tratamientos siendo estas dos concentraciones de ET (5 y 7.5%), un tratamiento comercial a base de *Purpureocillium* sp y un testigo.

A los 30 días de trasplante se lavaron las raíces de las plantas, una vez separadas la parte aérea y el sistema radicular se tomaron las variables de altura, longitud de raíz (con una regla de 30 cm), peso aéreo fresco, peso fresco de raíz, y peso seco de ambos (llevados a la estufa de secado a 50°C por 48 h), además de numero de agallas contabilizados manualmente antes del secado.

5.8 Análisis estadístico

Una vez obtenidos los datos, se emplearon análisis de varianza (ANOVA), y pruebas de Tukey con un nivel de confiabilidad del 95%, utilizando software Minitab 19.1.0.1 y Excel.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Material vegetal de *Tagetes erecta*

Las flores de cempasúchil contaron con un peso promedio 8.75 g por flor fresca, esto incluyendo cáliz y semillas, poseen un diámetro promedio de 5.9 cm (Figura 3). La Figura 4 muestra el peso promedio del peso fresco de pétalos de *Tagetes*, dando como resultado que cada inflorescencia posee un peso de 6.98 gramos de pétalos frescos (Figura 5), que al ser deshidratada se reduce a un peso de 0.68 gramos, indicando una humedad del 92.26%. Con esto se dice que 5 flores que tienen un peso de 40.95 g de pétalos frescos, nos dan un rendimiento aproximado del 9.75 % en peso seco (4 g flor deshidratada).

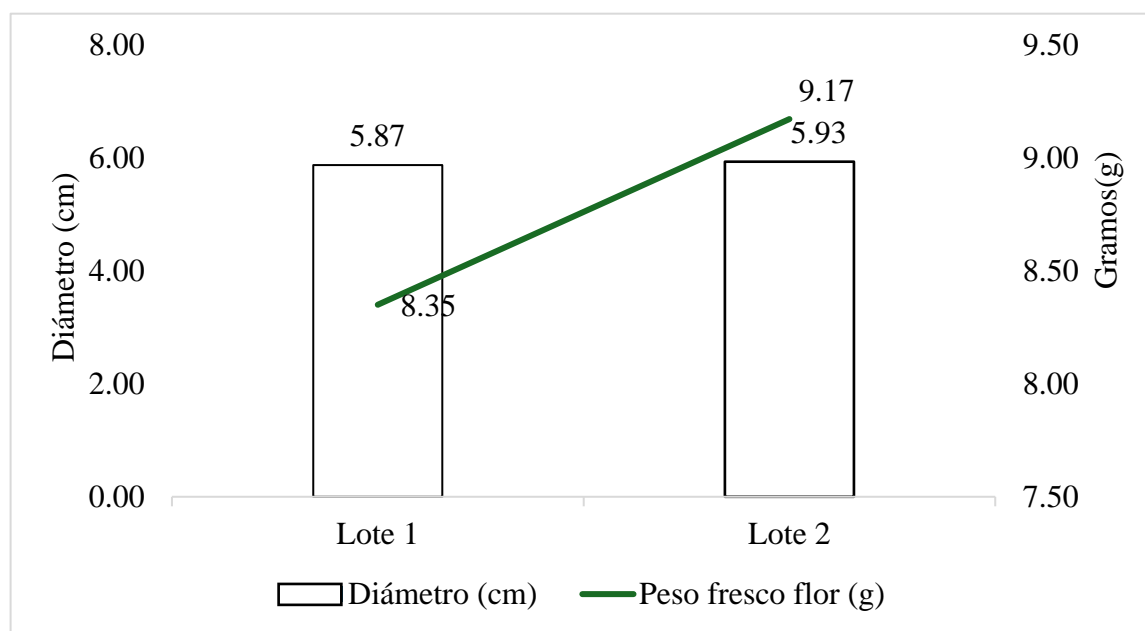


Figura 3. Diámetro y peso fresco de inflorescencias. Se muestra el diámetro (cm) y peso fresco (g) de inflorescencias maduras de *Tagetes erecta*.

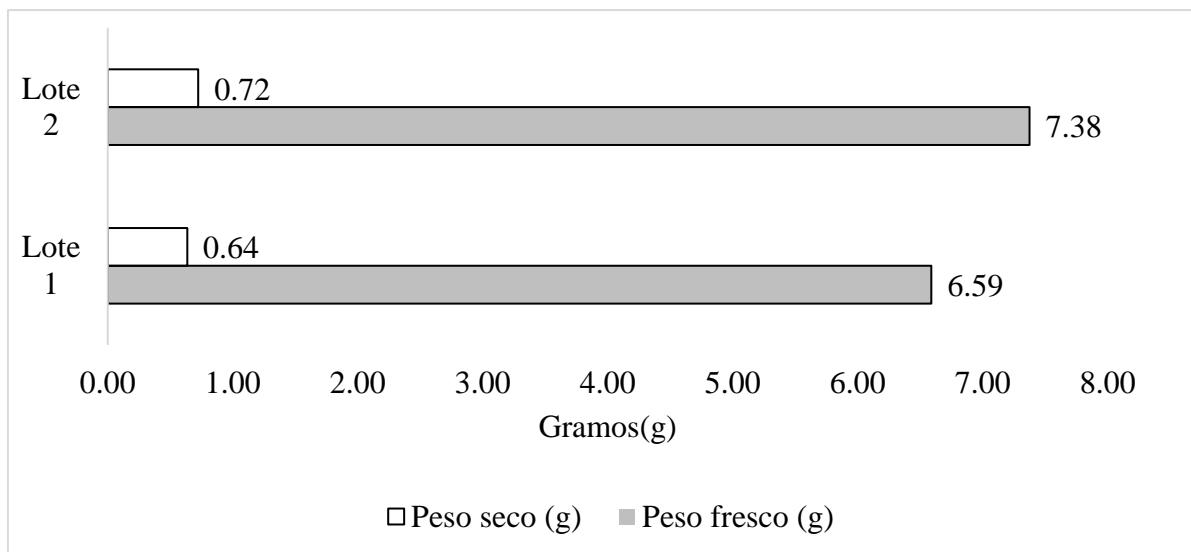


Figura 4. Peso fresco y seco de pétalos de *Tagetes*. Muestra la comparación de los pesos promedio de pétalos de *Tagetes erecta* frescos y deshidratados, reduciendo un total del 92.26% de su peso fresco.

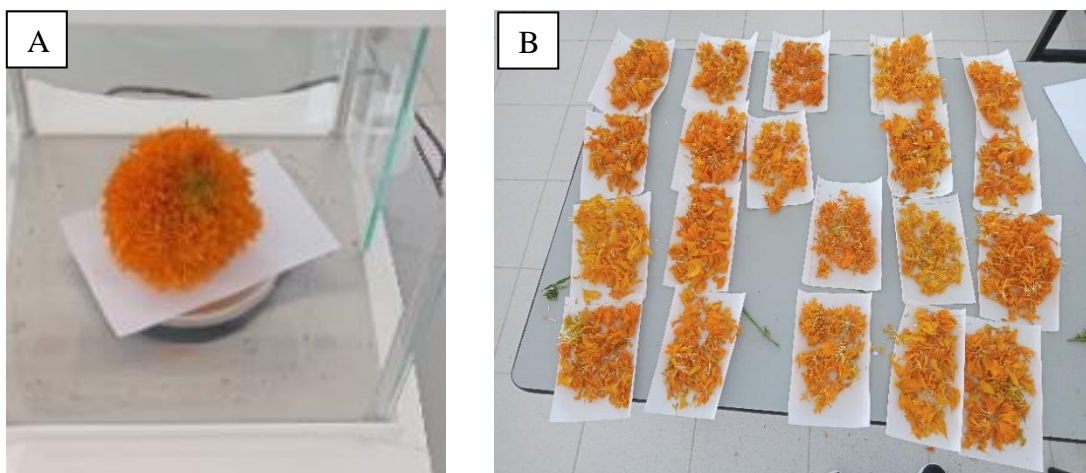


Figura 5. Peso fresco inflorescencia de *Tagetes erecta*. A la izquierda (A): Cabezuela fresca y completa. A la derecha (B): pétalos frescos separados del cáliz y semillas

6.2 Extractos alcohólicos: metanólico (EM) y etanólico (EE)

El resultado de la extracción del aceite esencial y otros compuestos bioactivos provenientes de la flor de cempasúchil mediante Soxhlet (Figura 6) y destilación simple (Figura 7) fueron los siguientes:



Figura 6. Extracción de Compuestos activos mediante método Soxhlet, para lo cual fueron necesarios 8 ciclos de “sifoneo”







Figura 7. Destilación simple. Este método se ajustó a la temperatura de ebullición de cada disolvente y con ello se obtuvo cada extracto alcohólico.

El extracto metanólico (EM) presentó adherencia de los aceites a las paredes del matraz de destilación, por lo que su manejo fue complicado; pese a ello, el extracto presenta apariencia amarilla hasta que fue calentado y una cantidad pequeña de sólidos no disueltos. Por su parte, el extracto etanólico (EE) mostró una coloración naranja desde el primer contacto con *Tagetes*, y aumentando su intensidad en la extracción y concentración por Soxhlet, donde se obtuvo un extracto de 25 mL; en cuanto a los sólidos no disueltos, con el etanol se presentó mayor cantidad, en una proporción de 1 a 4 aproximadamente.

6.2.1. Atributos fisicoquímicos de los extractos alcohólicos

El pH del extracto etanólico fue de 4.5, mientras que el del extracto metanólico fue de 5.7; es de considerarse que, si hay presencia de pH's ácidos extremos, pudieran provocar isomerizaciones de los carotenoides cis/trans en ciertos enlaces dobles, además de reagrupamientos y desesterificaciones (Antonio *et al.*, 2004). En cuanto a la densidad, éstas fueron de 0.81392 g/mL y 0.7968 g/mL, etanólico y metanólico respectivamente, ambos a una temperatura de 26°C, y demostrándose que el primero fue más denso, Cachi y Góngora en el 2021 describen la densidad del aceite de *Tagetes* como un indicador importante para inferir su composición química, si este es menor a 0.9 se dice que tiene un alto porcentaje en hidrocarburos terpénicos, si este es mayor a 0.9 existe presencia de compuestos oxigenados alifáticos y si este es mayor a 1 este contiene aceites esenciales de naturaleza fenólica, esto empleando éter de petróleo como disolvente. En cuanto al color que se muestran presentes en los extractos, siendo el metanólico predominantemente amarillo, con valores de L*: 85.5 a*-0.2 y b*: 54.4; mientras que para el etanólico, se presentaron dos colores, el primero es Amarillo rojizo (anaranjado), con valores de L*: 75.5 a*: 15.0 y b*64.1 y el segundo, predominantemente amarillo, L*: 83.9 a* -2.8 y b*: 54.9); cada uno con los códigos correspondientes que arroja el equipo al respecto, existen reportes de los compuestos encontrados en *Tagetes sp.* en el que se indican que varían en tonalidades que van de incoloros a amarillos. En la tabla 1, se observa un resumen de los parámetros obtenidos al medir pH, densidad y color, de ambos extractos alcohólicos, y tanto los monoterpenos, como los carotenoides (anaranjado), fueron mayormente extraídos por los alcoholes; ambos colores son característicos de *Tagetes erecta* (Serrato *et al.*, en el 2008).

Tabla 1. Características fisicoquímicas de extracto metanólico (EM) y etanólico (EE): pH, densidad y color

Variable	Extracto metanólico (EM)	Extracto etanólico (EE)
Registro de comportamiento de los extractos en reposo	 <p>Presentó coloración amarilla y menos sólidos no disueltos, pero en forma de aglomerados de gran tamaño incrementando su viscosidad, se destaca que los sólidos solubles presentaron gran adherencia a las paredes</p>	 <p>Presentó una tonalidad más anaranjada y 4 veces más sólidos insolubles, más bien, con aspecto coloidal, pese a ello, fue más fácil de manipular por no presentar tanta adherencia a las paredes.</p>
pH	5.7	4.5
Densidad	0.7968 g/mL a 28 °C	0.81392 g/mL a 26°C
Color	<p>L*: 85.5 a*-0.2 y b*: 54.4 (Predominantemente amarillo) Código: #ecd067</p>	<p>L*: 75.5 a*: 15.0 y b*64.1 (Amarillo rojizo, anaranado) Código: #F1ad3e L*: 83.9 a* -2.8 y b*: 54.9 (Predominantemente amarillo) Código: #ecd067</p>
Código		

En el caso del α -pineno varia de incoloro a amarillo pálido, β -pineno incoloro, el α -tujeno incoloro con un ligero tinte amarillo. El limoneno se describe como incoloro, con un agradable olor a naranja, se oxida fácilmente si no es protegido de la luz, puede ser destilado normalmente sin descomponerlo (Gallardo e Isabel, 1959). A partir de lo anterior, se sugiere que los mono terpenos (incoloros a amarillos) han sido mayormente extraídos por el metanol. En la tabla 1, se observa que en el en EM hay un solo tono color amarillo, mientras que, con el EE, se muestran dos tonalidades; una de mayor intensidad siendo amarillo rojizo o anaranjado (en medio) y otra de menor intensidad, este de color más amarillo (derecha), la cual coincide con la del extracto etanólico.

Al realizar la prueba cualitativa de sólidos no disueltos (Figura 8), se observó que después de agitarse vigorosamente, ambas se comportaron como mezclas homogéneas por un periodo de 20 minutos, sin embargo el extracto metanólico comenzó a mostrar a los primeros 30 minutos un precipitado compacto, mientras que el extracto etanólico mostró indicios de floculación, con forme pasó el tiempo, las cantidades de aglomeración aumentaron, tal que, al transcurso de 4 horas, el primero precipitó una séptima parte del volumen total, mientras que en el segundo caso, por tratarse de un coloide, éste se difuminó como una vaga nube en una cuarta parte del tubo, hasta depositar una parte de ella en el fondo.

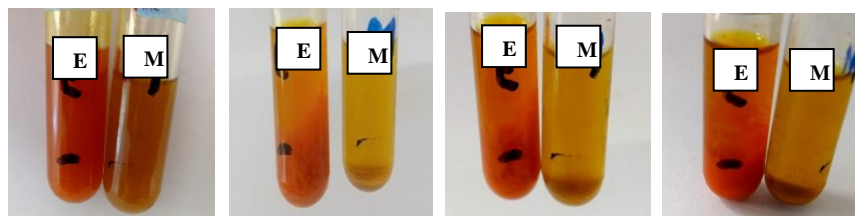


Figura 8. Comparación cualitativa de sólidos disueltos. Izquierda a derecha: 1. tiempo 0, mezclas homogéneas, 2. tiempo 1 h. diferenciación de pequeños solutos; 3. Tiempo 3h, aumento de precipitados y flóculos y 4. Tiempo 4h, muestras estables. Se considera a (E) como extracto etanólico y (M) como extracto metanólico.

Lo anterior sólo hace referencia a la interacción de los solutos con cada uno de los disolventes estudiados, tal como se explicará en el ensayo de cromatografía en capa fina; recordemos que la mayor parte de estos son hidrofóbicos y el etanol por su cadena alifática más larga, es más afín a estos, en contraste, el metanol, pudiera estar dejando de interactuar con otros compuestos,

favoreciendo así su precipitación. Por ello, para tomar cualquier muestra para otros estudios o para la emulsificación, será necesario agitarla vigorosamente antes de ello.

6.3 Criterios de elección de disolvente para una mejor extracción y emulsificación

Sin duda, el uso de distintos disolventes influyó en la presencia final de un solo componente colorido, amarillo rojizo por la diferente capacidad de solvatación, que en contraste con el extracto etanólico, se identificaron claramente dos pigmentos, anaranjado y amarillo. Por ello se decidió descartar al extracto metanólico, por:

- a) Alta sensibilidad térmica antes de que se complete el ciclo de extracción por soxhlet, generando interacciones soluto-disolvente y probablemente soluto-soluto, lo que en consecuencia genera:
- b) Alta viscosidad
- c) Dificultad para su manejo en el laboratorio, por lo que fue necesario re suspenderlo en más disolvente
- d) Pérdida de pigmento, sólo estuvo presente uno solo, en vez de dos
- e) Por el tipo de precipitados

En relación con la homogeneización, considerando que es de nuestro interés que la mayor parte de las moléculas se encuentren suspendidas al momento de realizar la emulsificación, es decir, que su carga y masa facilite este proceso para que no se rompa la emulsión, se esperaba que su presencia dé como resultado baja estabilidad, por ello, se decidió trabajar para los siguientes estudios, únicamente con el extracto etanólico, esto debido a:

- a) Facilidad de manipulación en el laboratorio, que en consecuencia permitió:
- b) Uso directo por baja viscosidad.
- c) Sin pérdidas de pigmentos.
- d) Partículas de menor tamaño y peso, mejor homogeneización para toma de muestras en ensayos cromatográficos y para su emulsificación.

6.4 Análisis de cromatografía en capa fina del extracto etanólico (EE)

Se obtuvieron para cada una de las mezclas de los disolventes (eluyentes) (Figura 9) el valor de Rf, siendo de 0.957, 0.98 y 0.964, con diferencias significativas entre ellas y con tiempos de 4'55", 4'57" y 5'05" respectivamente para BCE, CEB y EBC, sin diferencias significativas entre los dos primeros. Recordemos B es benceno, C es cloroformo y E etanol y en todos los casos, cuentan con la siguiente proporción, de izquierda a derecha: 6:3:1. Esto significa que todas mezclas del frente de elución o fase móvil interactuaron eficientemente con los pigmentos, que fueron arrastrados casi de manera simultánea, desde la marca de inicio, hasta el final.

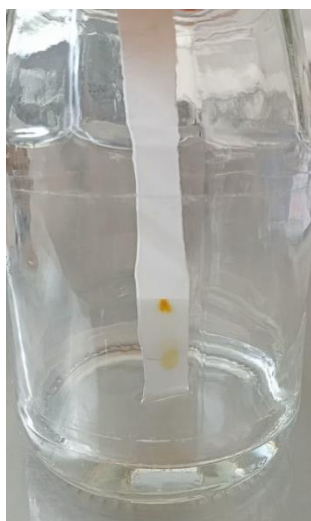


Figura 9. Cromatografía por capa fina del extracto etanólico de *Tagetes erecta*

Se observa lo siguiente; cuando el disolvente mayoritario es no polar, como el benceno (BCE), el arrastre de pigmentos anaranjados no polares hasta el final es mayoritario, aquí podríamos suponer la presencia de moléculas tales como los siguientes monoterpenos: α – Pineno, α -Thujeno y β - Pineno; también se esperaría la presencia de β -carotenoides, color anaranjado, todos ellos carecen de átomos con atributos polares; nótese una línea de trayectoria de arrastre de pigmentos amarillos, probablemente polares. En contraste, ocurre lo contrario cuando predomina el disolvente polar, EBC, es decir, con mayor proporción de etanol, ahora al final de la trayectoria tiene pigmentos amarillos, altamente concentrados y es notorio la secuela

que se generó por un arrastre deficiente de pigmentos anaranjados, presumiblemente se trate de las moléculas no polares. Es posible que, debido al arrastre de la mezcla de elusión, se encuentren al final de la línea, aquellas moléculas que tengan presentes algún o algunos átomos a los cuales se les atribuya un incremento en su polaridad, pudiera ser el caso de flavonoides amarillos, los cuales cuentan con un número importante de átomos de oxígeno, pudiendo ser la quercitina y el kaempfero; de manera adicional, se estima también, aunque con un arrastre menos eficiente el de aquellas moléculas que cuentan con un solo átomo de oxígeno, pudiendo estar aquí pigmentos amarillos - anaranjados como las xantofilas o algunas cetonas incoloras pero sí con aroma, tales como E-tagetona, la verbenona y la crisantenona (Cachi y Góngora, 2021). Finalmente, con la mezcla con una porción intermedia de etanol y mayoritaria de cloroformo, CEB, se favoreció el arrastre limpio de todos los pigmentos, definiendo un número de manchas puntuales al final del recorrido de la mezcla de elusión. Dicha proporción (6:3:1) de cloroformo, etanol y benceno respectivamente, genera un equilibrio de arrastre del mayor número de moléculas, tanto polares, como no polares, la cual se recomendaría si se deseara incrementar la mayor cantidad y variedad de los compuestos o bien, para análisis más específicos; sin embargo, dado que la visión del éste trabajo tiene un enfoque de química verde, se dará prioridad a la reducción de daños colaterales al suelo, sobre la eficiencia de extracción de compuestos del extracto, evitando así, el contacto de otros disolventes orgánicos con los suelos de cultivo (Figura 10).

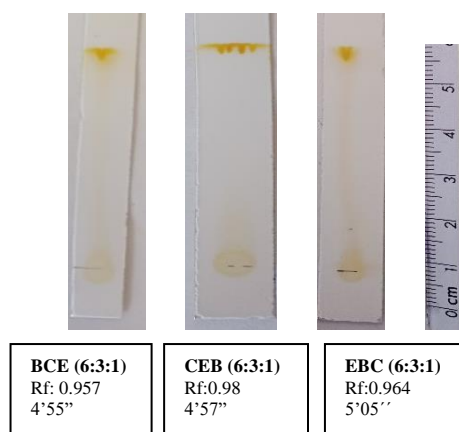


Figura 10. Cromatogramas obtenidos a partir del extracto etanólico. Se usaron tres combinaciones con dos repeticiones, manteniendo las siguientes proporciones: 6:3:1, con cada una de las siguientes combinaciones, de izquierda a derecha: a) Benceno, Cloroformo y Etanol (BCE), Predominantemente No polar. b) Cloroformo, Etanol y Benceno (CEB), polaridad intermedia y c) Etanol, Benceno y Cloroformo (EBC), polar de baja intensidad.

Para todo lo anterior, es necesario considerar que, por un lado, es difícil diferenciar a simple vista el amarillo del anaranjado a bajas concentraciones, pudiendo confundir el primero, con una concentración muy diluida del segundo, sin embargo, gracias a las pruebas colorimétricas previamente realizadas, logramos dar cierta certeza a este análisis. Adicionalmente, también se entiende que el alcance de esta metodología es muy limitada, más bien exploratoria, pues hay algunos pigmentos que muestran tonos que van del amarillo al anaranjado, por lo que deberá de realizarse estudios cromatográficos con mayor certeza en el futuro.

6.5. Emulsificación

6.5.1 Estrategia de formulación para una emulsión estable.

Para la homogeneización de lecitina de soya con etanol relación 1:1 peso a peso, D1LS, se elaboró con un día de anticipación para una dispersión más eficiente (Figura 11)



Figura 11. Homogeneización de lecitina con etanol relación 1:1 peso a peso

Se generó una estrategia para obtener una emulsión estable, la cual consistió en tres etapas:

Etapa I. Definición del rango de la cantidad de emulsificante.

Consistió en realizar una emulsificación a volumen final fijo, % de extracto a etanólico (EE) fijo y variación de % de emulsificantes. Para lograr la emulsificación de EE en agua fue necesario:

- a) Fijar un volumen final; este lo define el tipo de homogeneizador que se usó, el cual se limitó a 80 mL.
- b) Se inició fijando el % de EE, siendo éste de 2%, esto con la finalidad de analizar en primera instancia, el grado de solvatación e interacción con el medio.

La variación de los distintos porcentajes de emulsificante, D1LS, con relación al volumen total de dispersión, 80 mL; estos fueron: 0 %, 0.78 %, 1.56 % y 2.34 % respectivamente. Tanto el % D1LS que estuvo en agitación a 1000 rpm durante su uso, como % EE fueron agregados en los primeros 3 minutos a 1000 rpm, hecho esto, se dejó reposar por 5 minutos y se realizó un ciclo final de 1500 rpm por 5 minutos. Se observó el comportamiento de las dispersiones para definir o acotar el rango de la cantidad mínima de emulsificante a usar, sin que éste precipite.

Se realizaron pruebas cualitativas, en la que los criterios fueron:

- a. Incorporación de aceite en forma de gotículas observadas al microscopio
- b. Aceite no incorporado a la emulsión y adherido a las paredes del vaso.

Se observó que, para la muestra con 0 % de D1LS, mostró adherencia del aceite en las paredes y una separación de fases, es decir, en ausencia del emulsificante, como era de esperarse, no hubo incorporación del aceite en agua; para el resto, en todos los casos se observó la formación de gotículas de aceite emulsificado; se identificaron a las gotículas que presentaron menor tamaño y con menor cantidad de aceite adherido a las paredes fue la formulación con 0.78 % de D1LS, lo que representa mayor incorporación de EE y mayor estabilidad de la emulsión, mientras que lo contrario, gotículas de mayor tamaño, tienden a coalescer y por lo tanto, separarse de la emulsión (McClements, 2004), justo lo que ocurrió en el resto de las

formulaciones, de las cuales presentaron gotículas aproximadamente 5 veces mayor y con mayor cantidad de aceite adherido a las paredes del recipiente (Figura 12).

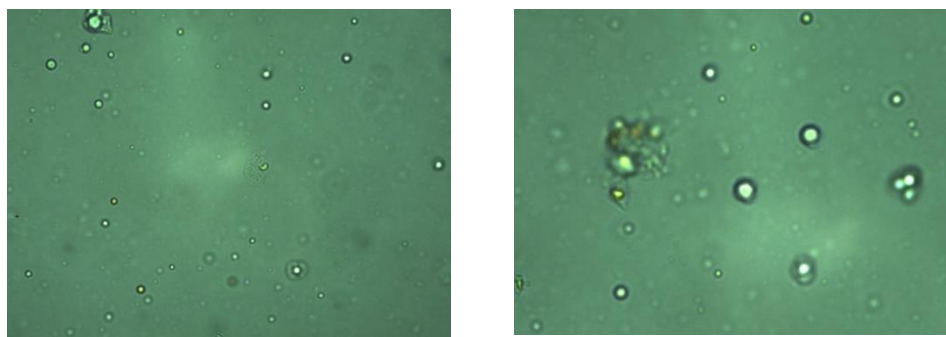


Figura 12 Vistos al microscopio 100 x, Izquierda: 2 % de aceite emulsificado con 0.78 % de D1LS; derecha, 2% de aceite sin D1LS, las gotículas de aceite coalescen al instante.

Etapa II. Ajuste de condiciones para incrementar el % EE emulsificado, considerando nuevo rango de emulsificante.

En la etapa I se analizaron los siguientes porcentajes de D1LS: 0 %, 0.78 %, 1.56 % y 2.34 %, y acorde a su comportamiento, fueron descartados los mayores: 1.56 % y 2.34, debido a que en los extractos alcohólicos se generaron precipitados indeseables, que, al parecer sirvieron de núcleo para generar precipitados más grandes con el excedente de lecitina de soya. A partir de ello, sólo se consideraron las primeras dos concentraciones para así establecer un nuevo rango, el cual se desglosó de la siguiente manera: 0.0%, 0.195%, 0.390%, 0.585%, y 0.781%. Se consideró el mismo volumen final fijo, 80 mL y también se incrementó el % de EE, siendo éste de 2 hasta un 15, también se incrementó la homogeneización de 15000 a 2000 rpm, con mayor número de ciclos, ahora a 3 de 5 minutos con descanso de 5 minutos entre ellos (Figura 13).



Figura 13 Ajuste de condiciones para incrementar la eficiencia. Variación de % de D1LS (0.0%, 0.195%, 0.390%, 0.585%, y 0.781%), incremento hasta el 15 % del extracto etanólico, con 5 ciclos de homogeneización a 2000 rpm, con 10 minutos de receso entre

En la figura 14, se muestran las 5 formulaciones antes mencionadas, mostrando el registro realizado cada 15 días, durante 45 días, observando lo siguiente:

1. A 0% de D1LS, se separaron las fases y el aceite se adhirió en las paredes del recipiente que lo contenía.
2. En todas las formulaciones restantes, a mayor concentración de D1LS, mayor tiempo de estabilidad en la emulsificación.
3. Al inicio, en todas las formulaciones con D1LS, ninguno presentó adherencia del aceite en las paredes. A menor cantidad de D1LS, menor tiempo de estabilidad, el cual se hace evidente con la presencia e incremento de aglomerados hidrofóbicos de aceite y mayor aceite adherido a las paredes del contenedor.
4. Si duda, las mejores formulaciones con un mes de estabilidad fueron las que contenían entre (0.585 y 0.781) % de D1LS, con una capacidad de carga de 15 % de extracto etanólico (EE) con componentes activos provenientes de cempasúchil (*Tagetes erecta*) emulsificado.
5. Debido a que hay una mayor densidad de gotículas en la formulación con 0.781 %, en relación con la 0.585 % de D1LS, se eligió esta primera para continuar trabajando.
6. Evidentemente, después de un mes, las emulsiones empezaron a desestabilizarse, por lo que es conveniente coadyuvar al mejoramiento de su estabilidad.

D1LS (%)	Día 0	Día 15	Día 30	Día 45
0				
0.195				
0.312				
0.585				
0.781				

Figura 14. Ajuste de condiciones para incrementar porcentaje de fase dispersante emulsificada, considerando nuevo rango de emulsificante. Se considera un volumen fijo de 80 mL, 15 % de EE, variando el % de D1LS: 0.0%, 0.195%, 0.390%, 0.585%, y 0.781%. Se le dio seguimiento cada 15 días, durante 45 días y se tomaron fotografías a las imágenes microscópicas. A 30 días fueron aún estables las emulsiones para 0.585%, y 0.781%, pero después de este tiempo se desestabilizaron.

Etapa III. Incremento de EE emulsificado y estabilización de formulación con una goma.

Se realizó un diseño experimental para incrementar el % de fase dispersante (EE), variando el % de concentración de alginato de sodio como estabilizante.

De acuerdo con los resultados de la etapa II se decidió optar por trabajar con D1LS al 0.781%, así como realizar el trabajo las mismas condiciones, siendo éstos de 2000 rpm, trabajando 3 ciclos de 5 minutos en intervalos de 5 minutos con descanso de 5 minutos entre ellos). La diferencia es que ahora se incorporará alginato de sodio como estabilizante, hidratado con 24 h de anticipación, (Figura 15), con el fin de aumentar el tiempo de vida de la emulsión.

Se sabe que el alginato de sodio es un biopolímero ($C_6H_7O_6Na$) no tóxico, biodegradable y soluble en agua, cumple con lo requerido en los principios de la química verde. Es empleado en biotecnología en liberación controlada, inmovilización de enzimas y células, aglutinante y espesante en la elaboración de alimentos y bebidas, así como estabilizador de espuma de cerveza (Hurtado *et al.*, 2020 y Lozano, 2015).

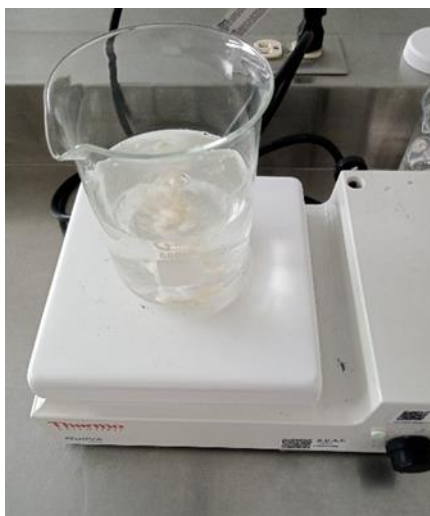


Figura 15. Hidratación de alginato de sodio

Para esta etapa, el diseño consistió en trabajar con 4 porcentajes de EE que son: 15% (EE1), 25%(EE2), 35% (EE3) y 45% (EE4), usando como estabilizante alginato de sodio, en concentraciones del 0% (A0), 1% (A1), 2% (A2) Y 3% (A3) respectivamente, quedando 16 muestras con su código asignado (Tabla 2). Una vez obtenidas las emulsiones fueron guardadas en condiciones de refrigeración y sacadas únicamente para su monitoreo, este se realizó cada tercer día durante un mes (se denominaron D0 a D8, haciendo referencia al número de muestras tomadas).

Tabla 2: Matriz de diseño experimental con distintos porcentajes de EE y estabilizante /Alginato de sodio)

EE (%) Alginato (%)	EE1 (15)	EE2 (25%)	EE3 (35%)	EE4 (45%)
A0 (0%)	A0EE1	A0EE2	A0EE3	A0EE4
A1 (1%)	A1EE1	A1EE2	A1EE3	A1EE4
A2(2%)	A2EE1	A2EE2	A2EE3	A2EE4
A3(3%)	A3EE1	A3EE2	A3EE3	A3EE4

Se observó efecto sobre la estabilidad de la emulsión aceite en agua entre las distintas combinaciones de las variaciones de concentración de % de EE y los distintos % de estabilizante, a saber, la muestra que presentó mayor estabilidad es A2EE3, porque en el día 12 incrementaron la densidad de gotículas y posteriormente se mantuvo estable, puede decirse que la goma empleada ayudo a evitar que las gotas estuvieran en movimiento constante, es decir, que al limitar su movimiento, redujo la probabilidad de chocar entre ellas, reduciendo así la unión de estas por coalescencia. Las muestras sin alginato perdieron estabilidad, esto puede ser posible porque se llegó al periodo estacionario descrito por McClements en el año 2004, donde postula que la distribución del periodo de la gota mantiene una forma independiente del tiempo y se desplaza hacia arriba aumentando el tamaño de la partícula.

Se hicieron formulaciones con disoluciones al 3 % de alginato, pero dada su alta viscosidad, fueron eliminadas por su difícil manejo. Dicho lo anterior, las muestras sin alginato y las disoluciones con 3% de alginato, fueron descartadas para la formulación final.

En cuanto a las muestras con 1% y 2% de alginato, A1% y A2 % respectivamente, se observó que ambas se mantuvieron más estables tanto cualitativamente, ya que no se observó residuos de extracto visible en las paredes, como cuantitativamente, por lo que estos porcentajes de alginato son apropiados en su uso como estabilizante en la emulsión, por incremento de la viscosidad en la formulación.

5.6 Determinación de la cantidad de gotículas en un área determinada (Densidad)

De acuerdo con la metodología descrita, se evaluaron a las formulaciones sin alginato (A0), con 1% de alginato (A1) y con 2% de alginato (A2) con los distintos % de EE 15% (EE1), 25% (EE2), 35% (EE3) y 45% (EE4), con el objeto de identificar aquella de mayor densidad, y mayor estabilidad a lo largo del tiempo. En la figura 16 se muestra la densidad determinada para cada formulación a los 27 días. La prueba de Tukey con un nivel de confianza del 95%, muestra una diferencia significativa indicando variaciones en la densidad en una superficie de $600,000\mu^2$, las muestras con alginato al 2% (A2EE2, A2EE3 Y A2EE4) y al 1% (A1EE2, A1EE3 y A1EE24) no muestran diferencia entre estas, sin embargo, podemos rescatar las muestras con menor carga de EE y sin estabilizante muestran una densidad es menor, esto se puede adjudicar al rompimiento de la emulsificación y pérdida de EE. Sin embargo, la muestra A2EE3 obtuvo una mayor densidad con media de 101.9 gotículas/ μm^2 , seguida de A2EE4 de 90.5, dando un contraste claro las muestras A0EE4 que mostraron las densidades más bajas con 21.2 gotículas, dando soporte a la necesidad de contar con un estabilizante para los compuestos extraídos en el medio acuoso. De acuerdo con Li Yan en el 2012 a mayor cantidad de lípidos pueden provocar inestabilidad y coalescencia de las gotas, lo cual pudo ser el motivo de los resultados de A0EE4, mientras que con la incorporación de alginato ayudo a disminuir, siendo estas estadísticamente iguales.

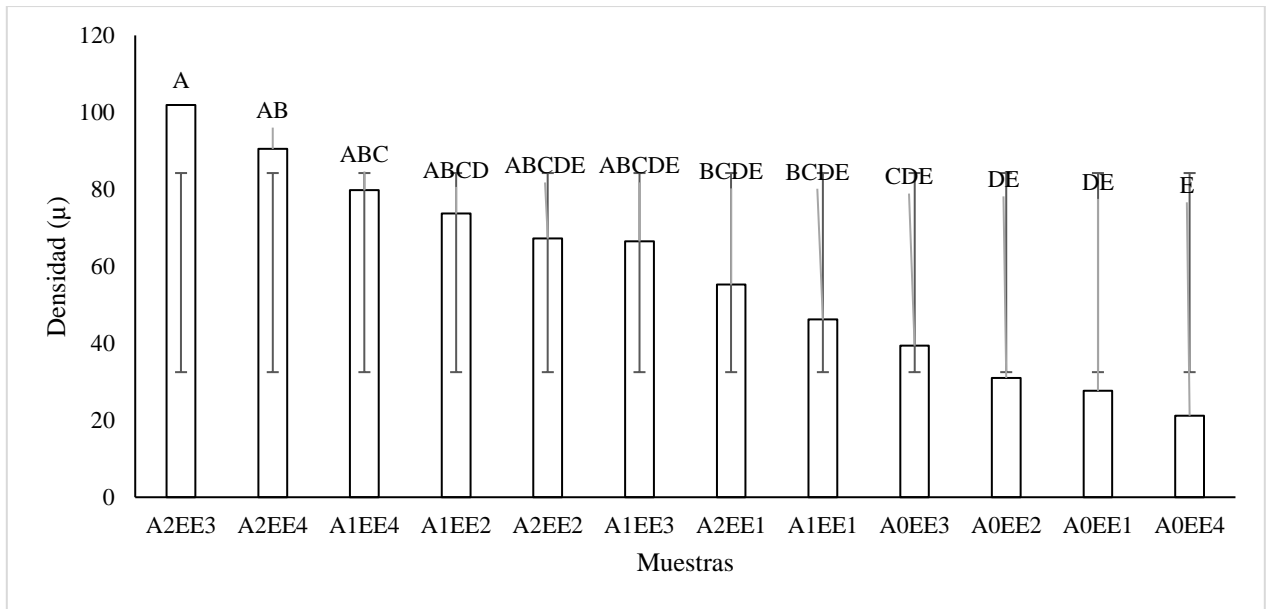


Figura 16. Densidad de las muestras, # de gotículas/600,000 μ^2 . Identifica 2 muestras estadísticamente distintas. Las determinaciones se hicieron a los 27 días. Se distinguen las variaciones entre la muestra A2EE3 con la mayor densidad y en el extremo derecho la muestra A0EE4 con la densidad más baja registrada.

La muestra A2EE3, alginato al 0.2% y una concentración del 35% de EE, es quien cumple estas características, esto de acuerdo con la prueba de Tukey, en la que se analizó el diámetro de la gotícula y se observó que su diámetro se mantuvo constante a lo largo del tiempo (Figura 17). El objetivo es contar con una formulación cuya emulsión sea fluida, estable y con una elevada concentración de EE, para asegurar el contacto de los compuestos activos con los nemátodos que infectan las raíces del jitomate (Figura 18).

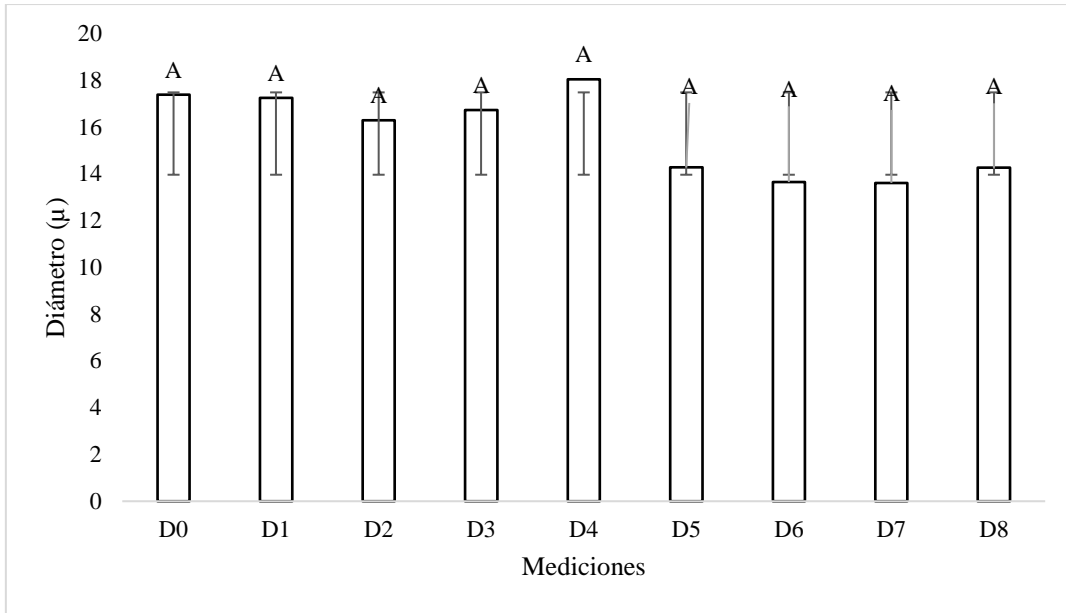
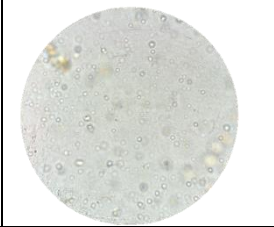
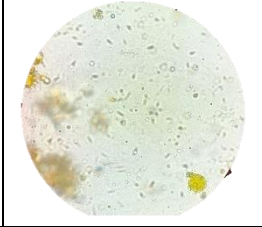
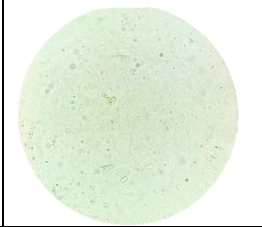
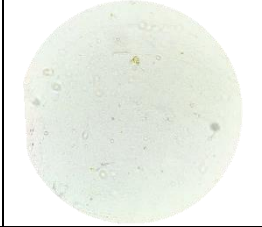
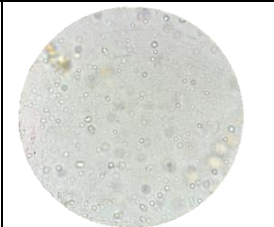
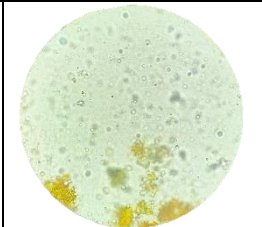
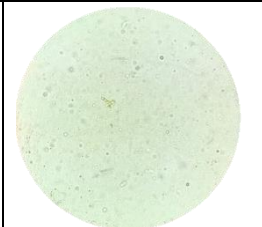
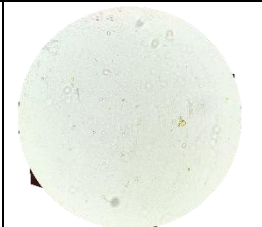
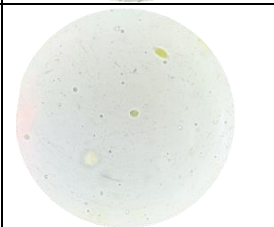
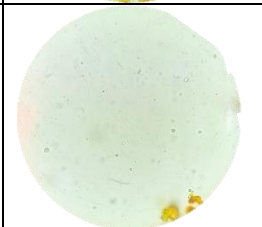
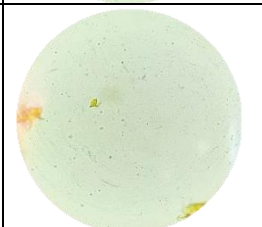
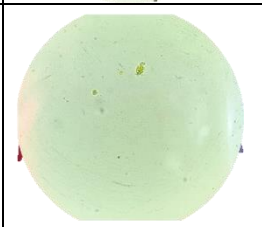
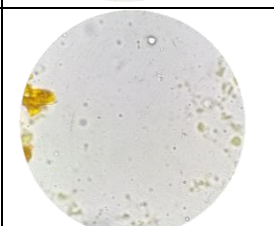
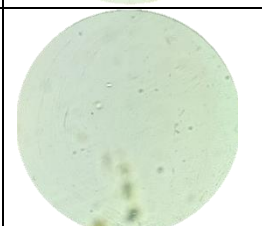
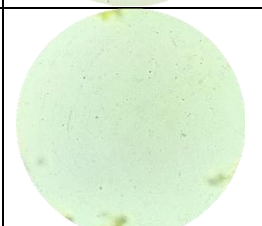
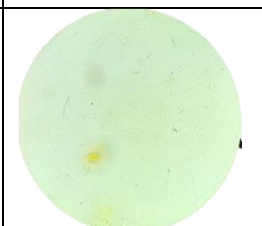
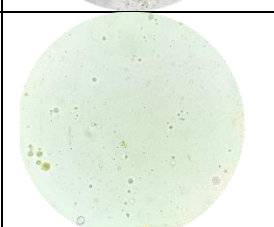
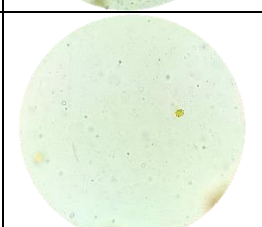
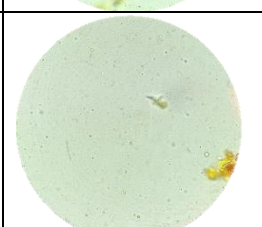
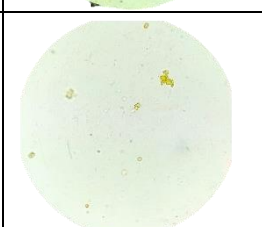
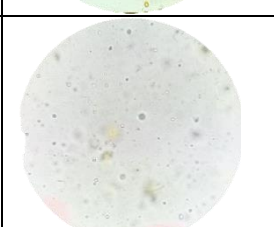
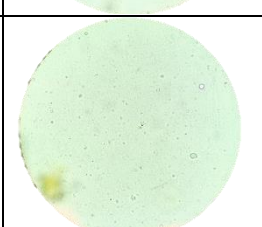
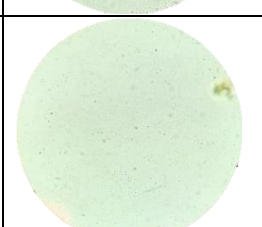
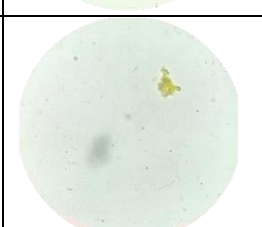

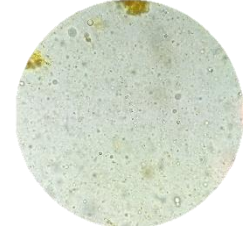

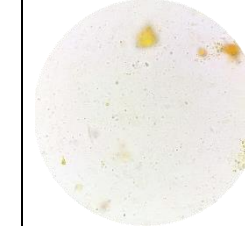



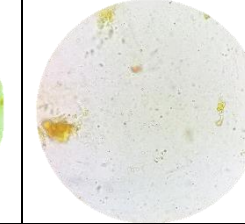


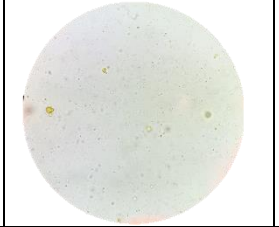
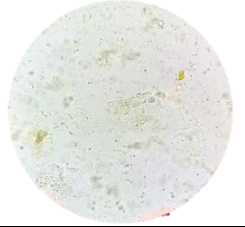
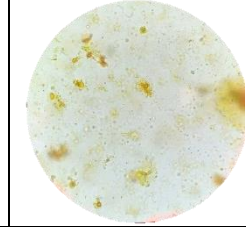

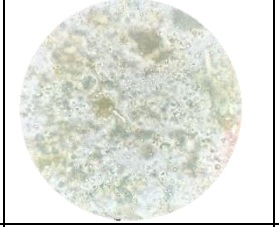
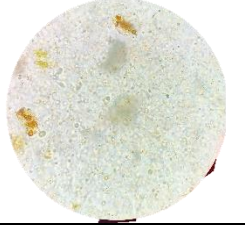
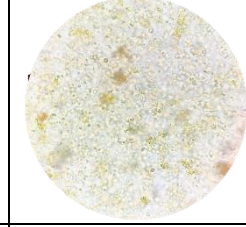
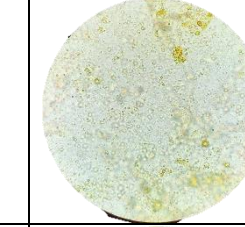
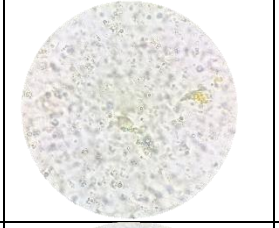
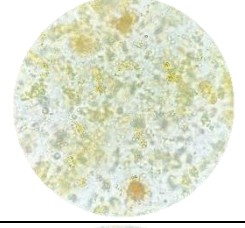
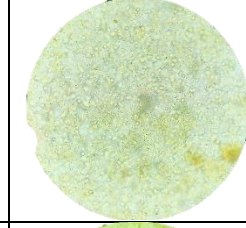
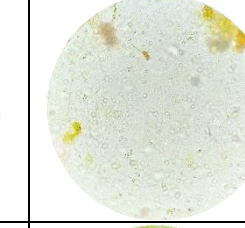
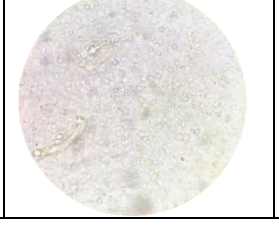
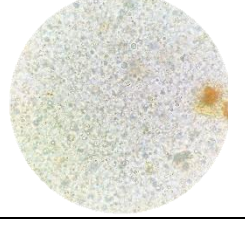
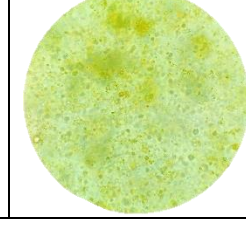
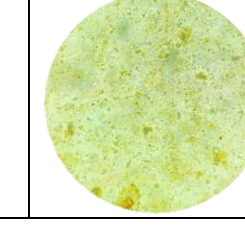
Figura 17. Diámetro de gotículas de A2EE3, Se mantuvo contante, entre 18.3(en la medición 4) y 13.6 medición 7), de acuerdo con la prueba de Tukey no existe diferencia significativa en este periodo de tiempo dando un rango entre 13 y 18 μ de diámetro.

Muestra Día	A0EE1	A0EE2	A0EE3	A0EE4
D0				
D1				
D2				

D3				
D4				
D5				
D6				
D7				
D8				

Muestra Dia	A1EE1	A1EE2	A1EE3	A1EE4
D0				
D1				
D2				
D3				
D4				
D5				
D6				

D7				
D8				

Muestra Dia	A2EE1	A2EE2	A2EE3	A2EE4
D0				
D1				
D2				
D3				

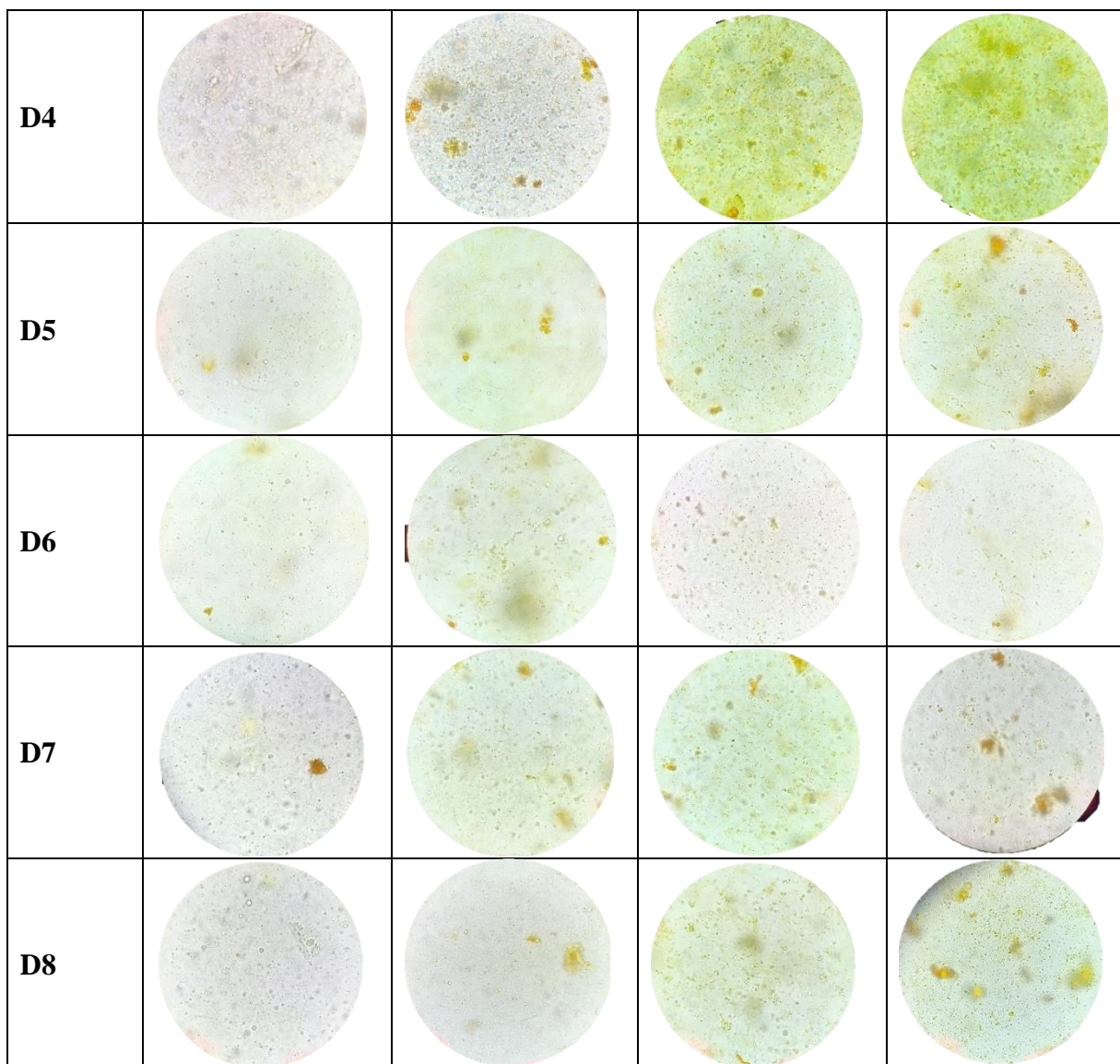


Figura 18: Línea del tiempo grafica presenta las muestras con distintos porcentajes de Alginato de sodio y EE, la parte superior derecha el día 0 y sucesivamente hasta llegar al día 27.

5.7 Pruebas experimentales en invernadero con cultivo de jitomate

El suelo empleado como sustrato para la fase experimental con jitomate se contabilizaron 15 nematodos por cada 100 g de sustrato, lo cual es equivalente a 150 nematodos presentes por cada kilogramo de sustrato.

La formulación para utilizar fue A2EE3, que contiene 35 % de extracto etanólico de *Tagetes erecta*, emulsificado con 0.781 % de dispersión de lecitina de soya (D1LS) y estabilizado con 2 % de alginato previamente dispersado; a partir de ello, se aplicaron a 2 tratamientos con 5% (A2EE3/5) y 7.5% (A2EE3/7.5) (Figura 19). A los cinco días del trasplante, las plantas tratadas con dichos extractos etanólicos, empezaron a mostrar signos de fitotoxicidad, manifestada por clorosis de las hojas y defoliación de las hojas maduras. Para lograr contrarrestar estos signos, se aplicó una fertilización edáfica utilizada en invernaderos comerciales, la cual se aplicó en todos los tratamientos, además de un producto antiestresante orgánico, para ayudar a las plantas a sobrevivir. Para este apartado se utilizó el método LSD de Fisher y una confianza de 95%.



Figura 19. Tratamientos en campo. Donde el tratamiento testigo presenta clorosis y menor altura, en comparación a los tratamientos con nematicida.

Visiblemente a los 20 días del trasplante y con ayuda del tratamiento, estas mostraron mayor vigorosidad, una altura mayor en comparación al testigo y el nematicida comercial. Esto se confirma con la variable de altura (Figura 20) donde se verifica que A2EE3/5 y A2EE3/7.5 son estadísticamente iguales, con medias de 30.41 y 30.68 cm, respectivamente.

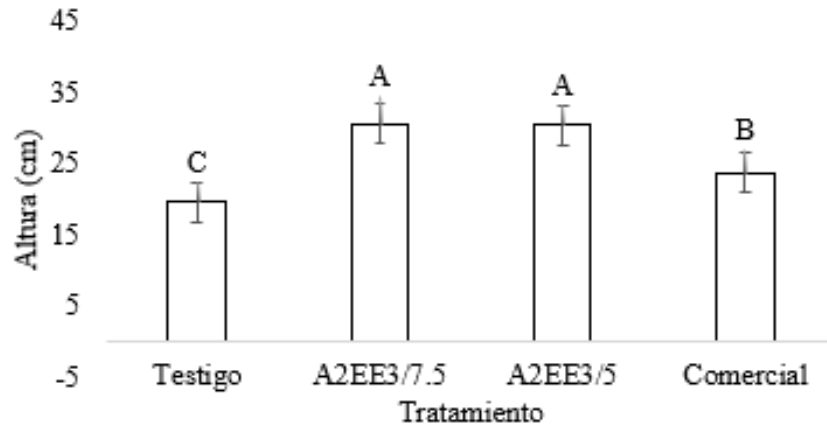


Figura 19: Altura de plantas, demuestra que los tratamientos A2EE3/7.5 Y A2EE3/5 son estadísticamente similares, con una desviación estándar baja.

En el caso de la variable de peso (Figura 21), ambos tratamientos A2EE3 presentaron medias similares de 25.08 y 26.98 g, superiores al tratamiento testigo y comercial. Se debe destacar que visualmente estos tratamientos tenían mayor pigmentación y vigorosidad, menores ataques de plagas como mosquita blanca (*Bemisia tabaco*).

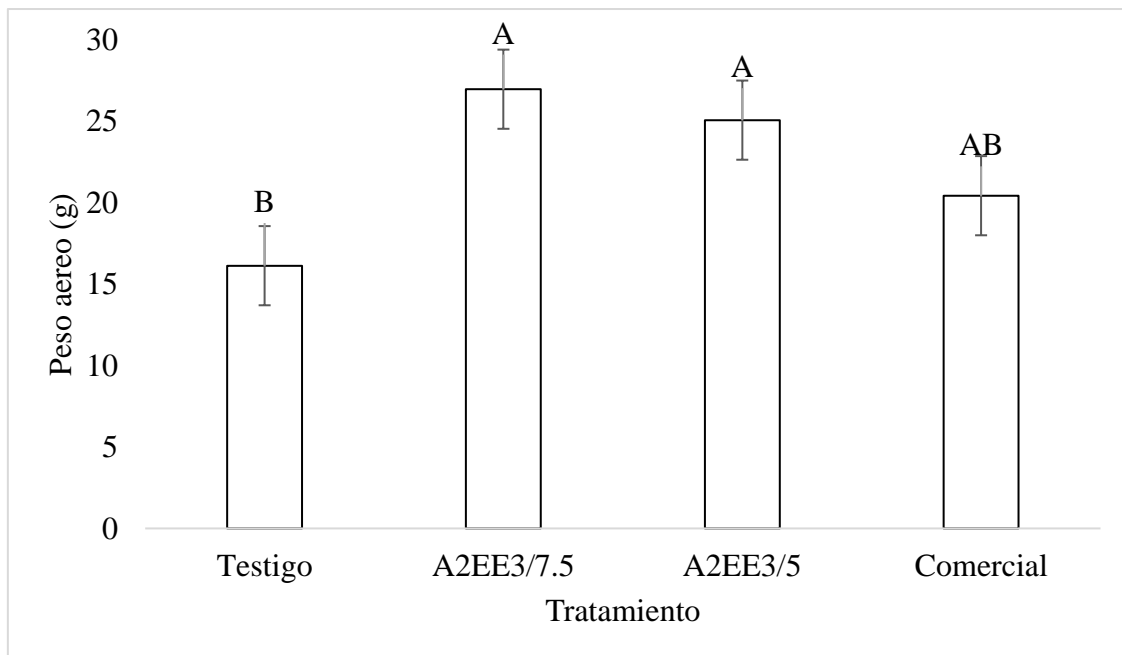


Figura 21. Peso fresco aéreo, las medias muestran mayores valores en los tratamientos con A2EE3 siendo estadísticamente similares.

Para la variable longitud de raíz, los tratamientos obtuvieron resultados similares, y variaron en un rango de 30 a 35 cm de longitud (Figura 22), lo cual pudo ser influenciado por el volumen del contenedor utilizado; sin embargo, la cantidad de raíces secundarias generadas en los tratamientos mostraron que en la variable del peso fresco se encontró una diferencia significativa para el caso de los tratamientos de A2EE3 (Figura 23).

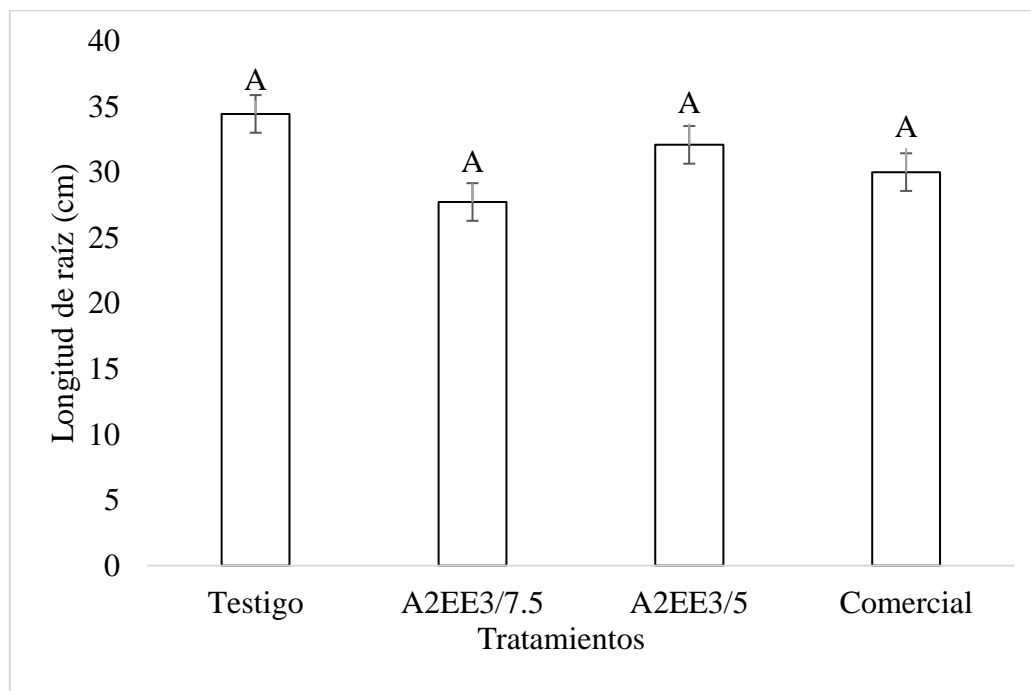


Figura 22. Longitud de raíces sin diferencia significativa entre tratamientos.

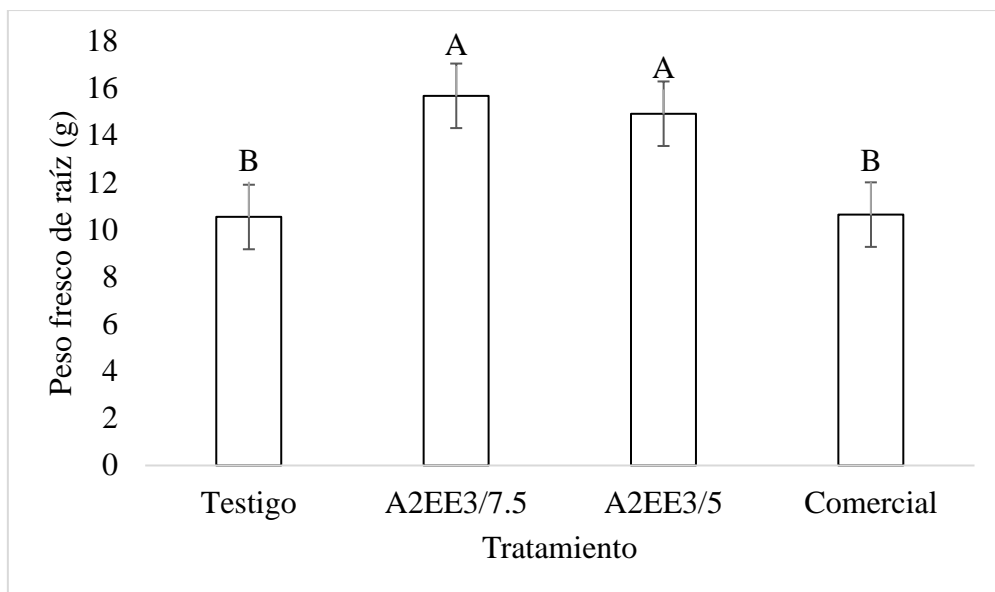


Figura 23. Peso fresco de raíces, donde muestra a los tratamientos con A2EE3 con una diferencia significativamente superior al testigo y el comercial.

La contabilización de agallas en las raíces se emplea para obtener el Índice de Agallamiento (número de agallas/gramo) (Guzmán *et al.*, 2008) (Figura 24), donde los datos demuestran que no existe diferencia significativa, sin embargo, se muestran medias menores en ET1, seguida por el tratamiento comercial, lo que indica que puede ser posible que llegue a actuar como nematocida o tal vez preventivo a dosis del 7.5%. Solano *et al.*, en el 2013 determinaron que al utilizar extractos de *Tagetes erecta* disminuye el índice de agallamiento en un 20%. Mientras que Zarate *et al.*, el 2018 encontraron una disminución del 80% de agallas de *Nacobbus* al emplear aceite de *Tagetes lucida*.

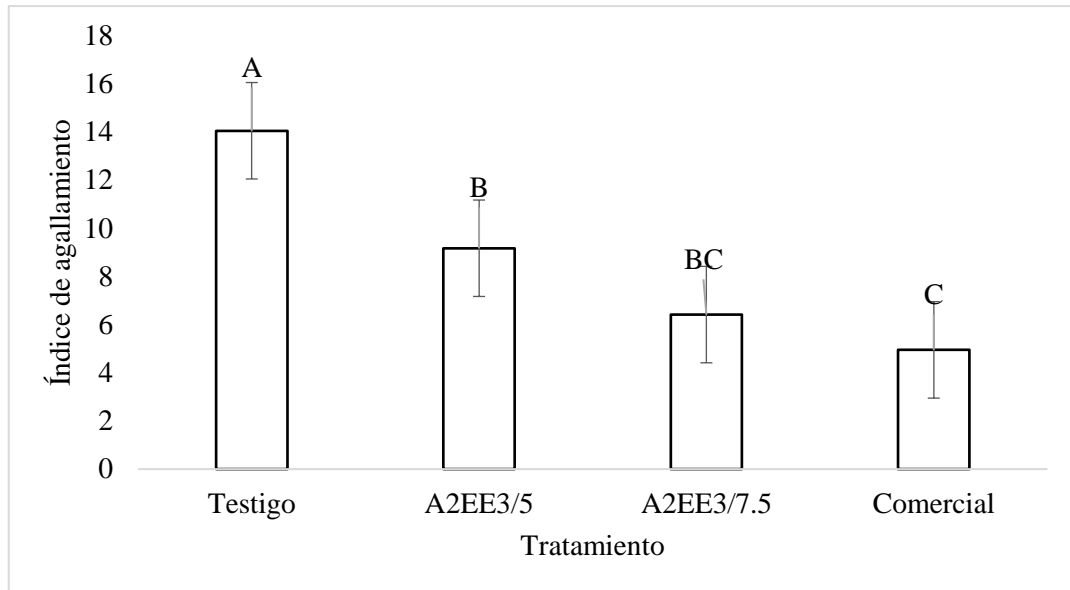


Figura 23. Índice de agallamiento (No. Agallas/g de raíz). El tratamiento ET1 al igual que el comercial tuvieron niveles similares, mientras que el testigo supero en agallas a los tratamientos, indicando disminución de ataques de nematodos.

VII. CONCLUSIÓN

Al comparar los disolventes metanol y etanol se encontró que este último presentó mejores características para su manejo, por lo tanto, la decisión de trabajar con este para seguir con el experimento; dado que en el estudio fisicoquímico mostró mayor densidad, colores naranjas y cuatro veces mayor cantidad de sólidos insolubles, además de que al pasar por destilación simple los lípidos no se adhirieron a las paredes del matraz.

La cromatografía en capa fina indicó posible presencia de moléculas predominantemente no polares, pero con cierto grado de polaridad afines al etanol. A partir de esto se creó una matriz experimental para obtener una formulación final (A2EE3) con mayor carga de extracto etanólico y mayor tiempo de estabilidad, lo cual fue logrado al incorporar 0.781 % de dispersión de lecitina de soya y con 2 % de alginato previamente dispersado; al ser aplicado al 7.5% en jitomate bajo condiciones controladas género en un principio cierto grado de fitotoxicidad, sin embargo, las variables de altura, pero aéreo y peso raíz obtuvieron mayores medias, sin embargo, aunque en el índice de agallamiento no se presentan diferencias estadísticas, la formulación anterior es igual de eficiente que el producto comercial, en ambos casos, se reduce aproximadamente 6 unidades de agallas por gramo de raíz. Se requieren mayores estudios para contrarrestar sus efectos fitotóxicos y aumentar la eficiencia como nematocida.

VI. BIBLIOGRAFÍA

Alcasio Rangel, Salomé. "Generalidades de los nematodos fitopatógenos". XVI Congreso Internacional y XLI Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología. Laboratorio de Nematología. Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria Revista Mexicana de Fitopatología 32 (2014).

https://www.smf.org.mx/rmf/suplemento/docs/Volumen322014/Taller/TALLER_NEMATODOS_ALCASIORANGEL.pdf.

Aranberri, I., B. Binks, J. H. Clint y P.D.I Fletcher. "ELABORACION Y CARACTERIZACIÓN DE EMULSIONES ESTABILIZADAS POR POLIMEROS Y AGENTES TENSIOACTIVOS". *Revista Iberoamericana de Polímeros* 7, n.º 3 (2006). <https://reviberpol.org/wp-content/uploads/2019/08/2006-aranberri.pdf>.

Ávalos García, Adolfo y Elena Pérez-Urria Carril. "Metabolismo Secundario De Plantas". *Reduca (Biología)* 2, n.º 3 (2009): 119–45. <https://docta.ucm.es/rest/api/core/bitstreams/26b94db5-92de-4aaf-8822-8f063c180904/content>.

Avelar Mejía, J. Jesús, Alfredo Lara-Herrera y J. Jesús Llamas Llamas. "Alternativas física, química y natural para controlar *Meloidogyne* spp. en tomate de invernadero". *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 2 (2018). <https://scielo.org.mx/pdf/remexca/v9nspe20/2007-0934-remexca-9-spe20-4115.pdf>.

Benchaar, Chaouki y Henry Greathead. "Aceites esenciales y oportunidades para mitigar las emisiones de metano entérico de los rumiantes". *Ciencia y Tecnología de la Alimentación Animal* 166-167 (2011): 338–55. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S037784011100143X>.

Bongers, Tom y Alejandro Esquivel. "MANUAL MORFOLOGÍA DE LOS NEMATODOS. MORFOLOGÍA DE LOS NEMATODOS CURSO DE IDENTIFICACIÓN". Universidad

Nacional de Costa Rica,
2015. <http://nemaplex.ucdavis.edu/Courseinfo/Curso%20en%20Español/Costa%20Rica%20Course/Esqivel%20ManualIdentif%202015.pdf>.

Bustillo, Enrique y Juan Carlos Lopez Nunez. "Los insecticidas en el control químico de plagas. Nematodos entomopatógenos para controlar la broca del café. Los insectos y su manejo en la caficultura colombiana. Editorial Banecolor Ltda. " Researchgate.ne, 2020. https://www.researchgate.net/publication/340661268_Los_insecticidas_en_el_control_quimico_de_plagas_Nematodos_entomopatogenos_para_controlar_la_broca_del_cafe.

Cantera Xiomara. "Nematodos, seres ocultos. 2019. https://www.mncn.csic.es/sites/default/files/2019-12/nm22_08_nematodos.pdf.

Cartaya, O. y Inés Reynaldo. "Flavonoides: Características químicas y aplicaciones". Cultivos Tropicales 22, n.º 2 (2001): 5–14. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193215009001>.

Celis Álbarado. "Extractos vegetales utilizados como biocontroladores con énfasis en la familia Piperaceae". Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. Agronomía Colombiana, 2008. <http://www.scielo.org.co/pdf/agc/v26n1/v26n1a12.pdf>.

Centro de Estudios para el Desarrollo Rural Sustentable y la Soberanía Alimentaria. "MANEJO INTEGRADO DE PLAGAS, UNA ALTERNATIVA ANTE EL USO DE LOS PLAGUICIDAS". Palacio Legislativo de San Lázaro, 2020. http://www.cedrssa.gob.mx/files/b/13/3Manejo_Integrado_Plagas.pdf#:~:text=Otra%20consecuencia%20de%20su%20uso%20es%20el%20desarrollo,evolución%20y%20la%20capacidad%20reproductiva%20de%20las%20plagas.

Comisión Nacional de Biodiversidad. Asteraceae, Compositae Tagetes erecta L. Sitio Malezas de México. (2009). <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/2inicio/home-malezas-mexico.htm>

Espinosa Andrews, Hugo, Eristeo García Márquez y Elida Gastélum Martínez. "Los compuestos Bioactivos y Tecnologías de Extracción". NanoBio, 2016, 33–49. https://www.researchgate.net/publication/328262044_2016_Gonzalez_et_al_terpenos.

García, D, E. "Los metabolitos secundarios de las especies vegetales". Pastos y forrajes 27, n.º 1 (2004). <https://biblat.unam.mx/es/revista/pastos-y-forrajes/articulo/los-metabolitos-secundarios-de-las-especies-vegetales>.

Guzman Plazola, R. A., B. Hernandez Flores, F. Franco Navarro y M. Cadena Hinojosa. "NEMATODOS AGALLADORES EN LA VEGA DE METZTITLAN, HIDALGO, MEXICO: IDENTIFICACION, DISTRIBUCION ESPACIAL Y RELACION CON FACTORES EDAFICOS". 38, n.º 1 (2008). <https://journals.flvc.org/nematropica/article/view/64447>.

Hurtado, Alejandro, Rafael Selgas y Ángel Serrano Aroca. "El alginato y sus inmensas aplicaciones industriales". Nereis. Revista Iberoamericana Interdisciplinar de Métodos, Modelización y Simulación 12 (s. f.): 137–49. https://www.researchgate.net/publication/343007850_El_alginato_y_sus_inmensas_aplicaciones_industriales.

Jaime Gato, María José. "REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA SOBRE NUEVAS TÉCNICAS DE OBTENCIÓN DE EXTRACTOS A PARTIR DE SUSTRATOS VEGETALES". CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS, 2021. https://dehesa.unex.es/bitstream/10662/13171/1/TFGUEX_2021_Jaime_Gato.pdf.

Jiménez Colmenero, Francisco. "Emulsiones múltiples; compuestos bioactivos y alimentos funcionales". *Nutrición Hospitalaria* 28, n.º 5 (2013). https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-

Martínez Gallardo, José Ángel, Tomas Díaz Valdés, Raúl Allende Molar, José Enrique Retes Manjarrez y José Armando Carrillo Fasio. "Identificación y distribución de Meloidogyne spp. en tomate de Sinaloa México". Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas 10, n.º 2 (2019). <http://www.scielo.org.mx/pdf/remexca/v10n2/2007-0934-remexca-10-02-453.pdf>.

Martínez M, Alejandro. "ACEITES ESENCIALES". Facultad Química Farmacéutica, 2003. https://med-informatica.com/OBSERVAMED/Descripciones/AceitesEsencialesUdeA_esencias2001b.pdf.

Meléndez Martínez, Antonio J., Isabel M. Vicario y Francisco J. Heredia. "Estabilidad de los pigmentos carotenoides en los alimentos". Archivos Latinoamericanos de Nutrición 54, n.º 2 (2004). https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222004000200011.

Nava-Pérez Eusebio García-Gutiérrez Cipriano Camacho-Báez Jesús Ricardo Vázquez-Montoya Elva Lorena. "BIOPLAGUICIDAS: UNA OPCIÓN PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE PLAGAS". Ra Ximhai 8, n.º 3b (2012): 17–29. <https://www.redalyc.org/pdf/461/46125177003.pdf>.

Quintana Obregón, Eber Addí, Reyna Isabel Sánchez Mariñez, Mario Onofre Cortez Rocha y Gustavo Alfonso González Aguilar. "Actividad antifúngica in vitro de mezcla de terpenos de naranja contra Alternaria tenuissima". Revista mexicana de micología 45, n.º 1 (2017). https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-31802017000100007.

Pérez Consuegra, Nilda. "Alternativas al control químico de plagas". Revista Virtual REDESMA 4, n.º 1 (2010). https://www.researchgate.net/publication/330324850_Alternativas_al_control_quimico_de_plagas.

Pilotzi Xahuentitla, Arturo. "Comportamiento de la tensión superficial en la interfase agua-aceite y su influencia sobre la estabilidad de emulsiones". *Benemérita Universidad Autónoma de Puebla*, 2015. <https://repositorioinstitucional.buap.mx/server/api/core/bitstreams/d9dab7ee-ce2c-4b48-8001-5e55fd6a2c94/content>.

Pinzón Espinoza, Leny F., Juan Candelero de la Cruz, Jose Maria Tun Suárez, Vicente Reyes Orege y Jairo Cristóbal Alejo. "Control de *Meloidogyne incognita* en tomate (*Solanum lycopersicum* L.) con la aplicación de *Trichoderma harzianum*". *Fitosanidad* 19, n.º 1 (2015): 5–11. <https://www.redalyc.org/pdf/2091/209146971001.pdf>.

Reyes Tena, Alfredo, Gabriel Rincón Enríquez, Zahaed Evangelista Martínez y Evangelina Quiñones Aguilar. "LUCHA ENTRE MICROBIOS: UNA HERRAMIENTA PARA EL CONTROL DE ENFERMEDADES DE PLANTAS". *rdu revista digital universitaria* 16, n.º 11 (2015). <https://www.revista.unam.mx/vol.16/num11/art92/>.

Rincón Enríquez, Gabriel, Evangelina Esmeralda Quiñones Aguilar, Miguel Angel Serrato Cruz y Juaquin Alejandro Qui Zapata. "Efectividad Biológica de Extractos de *Tagetes* spp sobre Bacterias Fitopatógenas". Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, 2012. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/225097/Folleto_tagetes_vs_bacterias_fitopatogenas_VF.pdf.

Rodriguez Carrillo Jose Cruz Vásquez Ortiz Romualdo Adelfo Ríos Díaz Jerez Salas Martha Patricia y. Yuri Villegas Aparicio. "EXTRACTOS VEGETALES PARA EL CONTROL DE PLAGAS DEL FOLLAJE DEL TOMATE (*Solanum lycopersicum* L.) EN OAXACA, MEXICO". Instituto Tecnológico Del Estado De Oaxaca, 2021. <https://1library.co/document/q0x68j3q-extractos-vegetales-para-el-control-de-plagas-del-follaje-del-tomate-solanum-lycopersicum-l-en-oaxaca-mexico.html>.

Salazar Antón, Wilber y Tomás de Jesús Guzmán Hernández. "Nematodos fitoparásitos asociados al tomate en la zona occidental de Nicaragua". *Agronomía Mesoamericana* 24, n.º 1

(2013). https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1659-13212013000100003.

Secretaría de Agricultura y. Desarrollo Rural. "Cempasúchil, flor de tradición prehispánica". gob.mx, 2022. <https://www.gob.mx/agricultura/es/articulos/cempasuchil-flor-de-tradicion-prehispanica?idiom=es#:~:text=Fuera%20del%20rito%20ornamental%20y%20simbólico,%20el%20cempasúchil,los%20alimentos%20para%20ganado,%20aves,%20peces%20y%20crustáceos>.

Sepúlveda Jiménez Gabriela Porta Ducoing Helena Rocha Sosa Mario. "La Participación de los Metabolitos Secundarios en la Defensa de las Plantas". Revista Mexicana de Fitopatología 21, n.º 3 (2003): 355–63. <https://www.redalyc.org/pdf/612/61221317.pdf>.

Servicio de Información Agroalimentaria y. Pesquera. "El impacto de las plagas y enfermedades en el sector agrícola". gob.mx, 2016. <https://www.gob.mx/siap/articulos/el-impacto-de-las-plagas-y-enfermedades-en-el-sector-agricola>.

Solano Castillo, Tulio F., Guido B. Agurto Córdova, Cristian R. Quezada Zapata, Jeamel Ruiz Toledo y Elio M. Del Pozo Núñez. "Efecto de extractos de tres especies vegetales sobre el nematodo *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) Chitwood". Centro Agrícola 41, n.º 1 (2013). <https://biblat.unam.mx/hevila/Centroagricola/2014/vol41/no1/12.pdf>.

Talavera Rubia, Miguel. "MANUAL DE NEMATOLOGÍA AGRÍCOLA". Consejería de agricultura y pesca, 2003. <https://infoagronomo.net/manual-nematologia-agricola-pdf/>

Tabio García, Danger, Yosvany Díaz Domínguez, Maylin Rondón Macias, Elina Fernández Santana y Ramon piloto Rodriguez. "Extracción de aceites de origen vegetal". researchgate.net, 2017. https://www.researchgate.net/publication/317007345_Extraccion_de_aceites_de_origen_vegetal.

Vicente, Nydia. "Conjunto Tecnológico para la Producción de Tomate. NEMATODOS". Recinto Universitario de Mayagüez Colegio de Ciencias Agrícolas, s. f. <https://www.uprm.edu/eea/wp-content/uploads/sites/177/2016/04/TOMATE-Nematodos-v2007.pdf>.

Vivas, Marisabel; Briceño, María Isabel; Celis y María Teresa. "Influencia de la formulación en la estabilidad de suspensiones arcilla/aceite/agua". *Ciencia e Ingeniería* 34, n.º 3 (2013): 173–79. <https://www.redalyc.org/pdf/5075/507550800006.pdf>.

Zarate Escobedo, Johana, Elba Lidia Castañeda González, Jesús Axayácatl Cuevas Sánchez, Calixto Leopoldo Carrillo Fonseca, Edgar Eduardo Mendoza García y Miguel Ángel Serrato Cruz. "Concentraciones e intervalos de aplicación del aceite esencial de *Tagetes lucida* Cav. contra *Nacobbus aberrans*". *Revista mexicana de ciencias agrícolas* 9, n.º 3 (2018). https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342018000300589.

Zepeda Jazo, Issac. "Manejo sustentable de plagas agrícolas en México". *Agricultura, sociedad y desarrollo* 15, n.º 1 (2018). https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-54722018000100099.

Zygadlo, Julio. "ACEITES ESENCIALES. ACEITES ESENCIALES. Química, ecología, comercio, producción y salud." Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal, s. f. https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/160088/CONICET_Digital_Nro.4d2e6b04-b220-44cc-a40d-58159253ae2d_B.pdf?sequence=5.



Oficio No. CRN-SAC/TIT 031/2025
Asunto: Impresión de Tesis

C. Alma Yazmín Mora Arriaga
Alumna del Complejo Regional Norte
Benemérita Universidad
Autónoma de Puebla
PRESENTE

Con base en el dictamen emitido por el M. C. Benjamín Barrios Díaz (**Director de Tesis**), Dr. Gustavo Lozano Vázquez (**Codirector de Tesis**), Ing. Verónica Torres Valencia y M. C. Alfredo Báez Simón (**Revisores**), en su calidad de Consejo Particular, se autoriza la impresión de la tesis titulada:

**“ELECCIÓN DE DISOLVENTE ALCOHÓLICO PARA LA EXTRACCIÓN DE COMPONENTES
ACTIVOS PROVENIENTES DE CEMPASÚCHIL (*Tagetes erecta*)
Y SU EMULSIFICACIÓN PARA USO COMO NEMATICIDA”**

Correspondiente a la Licenciatura en Ingeniería Agroforestal.

Sin otro asunto en particular, quedo de usted.

Atentamente

“Pensar bien, para vivir mejor”

H. Ciudad de Zacatlán, Pue. a 28 de enero de 2025.

Dr. Erik Moisés González Castillo
Secretario Académico



c.c.p. archivo
D.EMGC/T/mmg*