

## TOXICIDAD DE EXTRACTOS VEGETALES DE *Ruta graveolens* Y *Chenopodium ambrosioides* SOBRE *Meloidogyne incognita*.

### TOXICITY OF *Ruta graveolens* AND *Chenopodium ambrosioides* HYDROALCOHOLIC PLANT EXTRACTS ON *Meloidogyne incognita*.

Salgado-Bravo. R.<sup>\*1</sup>, González V. R. D.<sup>1</sup>, Herrera L.H.<sup>1</sup>, Aguilar J. D.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Fitopatología, Universidad Tecnológica de Izúcar de Matamoros, Prolongación Reforma 168, Barrio de Santiago Mihuacán, Izúcar de Matamoros, Puebla, CP 74420, México. \*Autor de correspondencia: [rosalva.salgado@utim.edu.mx](mailto:rosalva.salgado@utim.edu.mx)

**Recibido:** 8/marzo/2022

**Aceptado:** 15/diciembre/2022

#### RESUMEN

*Meloidogyne incognita* es una de las plagas más devastadoras del cultivo de jitomate y su control químico es altamente tóxico. Los metabolitos secundarios obtenidos de plantas representan una alternativa para el control de plagas, ya que por su origen natural son de menor costo y amigables con el ambiente. Se realizó un experimento en cultivo de jitomate para estudiar el posible efecto nematocida de extractos hidroalcohólicos de *Chenopodium ambrosioides* y *Ruta graveolens* y posteriormente se realizaron pruebas *in vivo* para determinar porcentaje de mortalidad de *M. incognita* en condiciones de invernadero, efectuado tres aplicaciones a tres dosis. Se

evaluó el efecto acumulativo de las aplicaciones, las variables a evaluar fueron longitud y diámetro del tallo, determinación del nivel de infestación en la raíz y conteo total de nematodos en suelo. Se observó que el extracto de *R. graveolens* a dosis altas controla la infestación hasta en un 80% de *M. incognita*, sin afectar el desarrollo de la planta. El extracto de *C. ambrosioides* controla la infestación, pero genera efecto alelopático negativo en la planta de jitomate. Posteriormente, se evaluó la periodicidad de aplicación del extracto vegetal de *R. graveolens* comparado con un nematocida químico. Se evaluó la aplicación a 15 y 30 días durante tres meses, analizando altura y grosor de tallo, producción total, número total de

nematodos en suelo e índice de infestación. Los resultados obtenidos corroboran la efectividad nematicida del extracto sin generar daño a las plantas y no muestran diferencias entre los dos periodos de aplicación ensayados.

**Palabras clave:** plaga, extracto vegetal, metabolitos secundarios, nematicida, efecto alelopático.

## ABSTRACT

*Meloidogyne incognita* is one of the most devastating pests in tomato crops and its chemical control is highly toxic. Secondary metabolites, obtained from plants, represent an alternative for pest control, due to their natural origin, they are less expensive and ECO-friendly. To evaluate the possible nematicide effect of *Chenopodium ambrosioides* and *Ruta graveolens* plant extracts in tomato crops, three applications at three doses of each extract were tested in a greenhouse. It tested the accumulative effect of applications, the variables evaluated were length and stem diameter, determining the level of root infestation and total count of soil nematodes. High doses of *R. graveolens* extract showed that may be used as a nematicide for the control of *M. incognita* on tomato crops because it controlled infestation up to 80 % without affecting the normal growth of the plant. The

use of an extract of *C. ambrosioides* controlled the infestation but generated a negative allelopathic effect in tomato plants. Subsequently, the periodicity of the application of the plant extract of *R. graveolens* comparable with the application of a chemical nematicide was evaluated. The application was compared at 15 and 30 days for three months, and the length and stem diameter, total production, the total number of nematodes in soil, and the infestation index were analyzed. Results corroborated the nematicidal effectiveness of the extract without generating damage to the plants and by not finding differences between the two application periods tested.

**Key words:** pest, plant extract, secondary metabolites, nematicide, allelopathic effect.

## INTRODUCCIÓN

El jitomate *Solanum lycopersicum* L (Solanales: Solanaceae) es la hortaliza más cultivada en todo el mundo, en México es la que mayormente se siembra dentro de invernaderos, por la gran demanda en el mercado y la rentabilidad (SAGARPA, 2021). Como todo cultivo está expuesto a diversas plagas, siendo el nematodo agallador *Meloidogyne incognita* (Tylenchida: Heteroderidae) una de las plagas de suelo más

comunes (Agrios, 2005; Jones *et al.*, 2001). La hembra penetra completamente dentro de las raíces donde se alimenta, se desarrolla y pone sus huevos, dicho proceso causa una reacción en la células de las plantas afectadas, resultando en la muerte o debilitamiento de los extremos de las raíces y yemas, formación de lesiones y rompimiento de tejidos, abultamientos y agallas, arrugamiento y deformación en tallos y hojas (Manzanilla-López *et al.*, 2004; Seinhorst, 1981). El control químico de este fitoparásito es eficaz, pero requiere de aplicaciones masivas y presenta diversas desventajas, entre las que se encuentran los altos costos de los productos, amplio espectro de acción, desequilibrio ecológico, contaminación de suelo, mantos freáticos y cultivos, generación de resistencia de los nematodos hacia estos productos, entre otras (Porcuna, 2001). Debido a ello, surge la necesidad de crear alternativas menos agresivas con el ambiente y de menor costo para el control de nematodos, siendo los metabolitos secundarios una opción. Sasanelli (1992) y Sasanelli y D'Addabbo (1993, 1995) demostraron la actividad nematicida de extractos acuosos de *R. graveolens* (Sapindales: Rutaceae) sobre *Xiphinema index* (Dorilaymida: Longidoridae) y *Meloidogyne javanica* (Tylenchida: Heteroderidae),

señalando al flavonoide llamado rutina como el responsable del efecto nematicida de la planta. Aballay *et al.* (2004) reportan la efectividad de *R. graveolens* y *C. ambrosioides* (Caryophylleales: Amaranteceae) sobre *X. index* al incorporarlos como abono verde, indicando al ascaridol como el metabolito secundario de efecto nematicida en el epazote. (Quarles, 1992). Con base a lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de los extractos vegetales de *R. graveolens* y *C. ambrosioides* sobre el control de *M. incognita* en *S. lycopersicum* L *in vitro* e *in vivo* en condiciones de invernadero, para determinar dosis y tiempos de aplicación.

## MATERIALES Y MÉTODOS.

### *Localización.*

Las pruebas se realizaron en el laboratorio de Fitopatología (longitud 98°27'27.33" oeste, latitud 18°37'58.21" norte, 1326 msnm) e invernadero (longitud 98°27'0.47" oeste, latitud 18°37'2.68" norte, 1326 msnm) del Programa Educativo en Agrobiotecnología de la Universidad Tecnológica de Izúcar de Matamoros, Puebla, México.

### *Preparación de extractos vegetales.*

Para la obtención de extractos se empleó agua: etanol en una proporción 1:1 (como disolventes), 20 % material vegetal con base a

la metodología reportada por Sasanelli (1992), Sasanelli y D'Addabbo, (1993) y por Quevedo *et al.* (2010). Las plantas de *R. graveolens* y *C. ambrosioides* fueron cultivadas bajo un esquema convencional dentro de las instalaciones de la Universidad. Las partes aéreas (hojas y tallos) de las plantas en fresco, por separado, fueron molidas en mortero junto con los disolventes, se vertieron en un recipiente de ámbar de cristal para dejarse en reposo a temperatura ambiente y en oscuridad, durante una semana. Posteriormente, se filtraron a vacío utilizando discos de papel filtro No.1. El extracto obtenido fue sometido a destilación a 40° C para eliminar el etanol a 40° C en un rotavapor MINI, marca PRENDO, modelo MR1750 de fabricación y ensamblaje nacional. El extracto se guardó en oscuridad a 4°C en un refrigerador hasta su uso.

#### *Evaluación de toxicidad in vitro.*

Se utilizaron nematodos en segundo estadio juvenil (J2), recuperados de suelo infestado de manera natural, utilizando el método de embudo de Baermann (1917). Se usó solución salina isotónica (SSI, NaCl 0.9 %) como solución de recuperación para evitar el daño a los nematodos por cambio osmótico. Tomando como referencia la metodología de Quevedo *et al.* (2010), se recuperaron 10 mL de SSI de cada embudo y se colocó en cajas Petri de 9 cm

de diámetro aforando a 50 mL, fueron llevadas al microscopio para el conteo de nematodos viables a un tiempo cero. Los ensayos se realizaron por triplicado, agregando el extracto correspondiente hasta una concentración de 0.1% (extracto de *R. graveolens*, *C. ambrosioides* y mezcla 1:1 de extracto de *R. graveolens*: extracto de *C. ambrosioides*). Se dejaron en reposo a temperatura ambiente (23-28 °C) y se realizó el conteo de nematodos viables a las 3, 6 y 24 horas de reposo.

#### *Evaluación de extractos in vivo.*

Se establecieron cuatro tratamientos con *R. graveolens* (T1), *C. ambrosioides* (T2), *R. graveolens* + *C. ambrosioides* (T3) y el testigo (T4), cada uno con tres dosis (5, 10 y 15 mL /0.5 L/ por maceta) y tres repeticiones por dosis, todo en distribución completamente al azar.

Se llenaron macetas con 10 kg de suelo agrícola de invernadero infestado con nematodos de manera natural, previa recuperación y conteo (9 nematodos / 50 g suelo), se trasplantaron 2 plantas de *S. lycopersicum* L de la variedad Moctezuma, de la casa Harris Moran de 15 días de edad. La primera aplicación de los tratamientos se realizó 15 días después del trasplante, la segunda aplicación se realizó a los 19 días y la tercera a los 23 días. Las plantas fueron

arrancadas para su evaluación 15 días después de la última aplicación, midiéndose longitud y diámetro de tallo, además de determinar el nivel de infestación de las raíces según Bridge & Page (1980). Finalmente, se tomó muestreo de suelo de los diferentes tratamientos para realizar conteo total de nematodos.

#### *Periodos de aplicación.*

Para determinar el mejor periodo de aplicación del extracto de *R. graveolens*, se utilizaron camas de 190 cm de ancho por 22 m de largo con plantas de jitomate a doble hilera en invernadero, sembradas a distancia de 35 cm entre plantas y dejando 2 m a los extremos de las camas sin evaluar. La dosis efectiva considerada (15 mL de extracto/500 mL de agua/ por planta) se aplicó en periodos a evaluar de 15 y cada 30 días con 50 repeticiones por tratamiento o periodo de aplicación, considerando como testigo la aplicación de agua.

Veinte días antes del trasplante se aplicó Metam sodio como nematicida químico y se determinó como cero el número de nematodos en suelo al momento del trasplante (conteo mediante embudo de bearman). Se determinó número total de nematodos en suelo antes de la aplicación del extracto y dos días después de su aplicación. La altura y grosor de tallo a ras de

suelo de las plantas se determinó cada 30 días por 3 meses; la producción de jitomate se pesó por separado para cada tratamiento durante los cortes realizados y fue contabilizado el total. Al final del periodo de evaluación, las plantas fueron arrancadas y se determinó el nivel de infestación en raíces según Bridge & Page (1980).

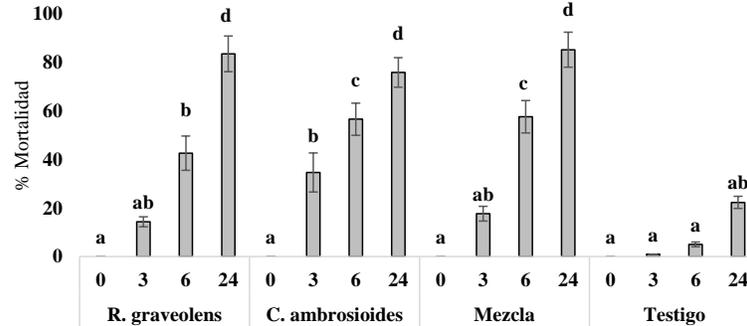
## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN.**

#### *Toxicidad in vitro.*

El análisis de varianza de datos del ensayo de mortalidad de los J2 de *M. incognita* nos muestra a tiempos cortos (3 y 6 h) que los tratamientos son estadísticamente diferentes, siendo el tratamiento de epazote el más efectivo, ya que elimina 34% y 56 % de la población de nematodos, respectivamente, a comparación de la ruda que elimina 14 % y 42 % y la mezcla 17 % y 58 %. Sin embargo, a las 24 h no existen diferencias estadísticas entre los tres tratamientos, ya que eliminan 80 % de la población de nematodos con respecto del testigo que solo eliminó el 20% (fig. 1), lo cual concuerda con los datos obtenidos en estudios similares con *M. incognita* y con otros nematodos (Sasanelli, 1992, 1993, 1995; Dias *et al.*, 2000; Vinueza *et al.*, 2006; Quevedo *et al.*, 2010; Corbani *et al.*, 2013).

**Figura 1.**

Ensayo de mortalidad *in vitro* de los J2 de *M. incognita* sometidos a los diferentes extractos y evaluados a 3, 6 y 24 h.



Nota: misma letra indica que no existen diferencias entre los tratamientos, aplica a todos los análisis.

*Toxicidad in vivo.*

El análisis estadístico muestra que no existen diferencias significativas en la longitud de tallos de las plantas en todos los tratamientos. Sin embargo, el grosor de los tallos fue significativamente menor en el tratamiento con extracto de epazote (cuadro 1) y la planta tuvo menor porte, lo cual concuerda con lo reportado por Jiménez (1996) quien reportó

disminución del 50% de la geminación de semillas de *Amaranthus hypochondriacus* y el muerte de la raíz principal de *Phaseolus acutifolius* con posterior atrofiamiento del crecimiento de la planta y Panzardi *et al.* (2003) mencionan que el epazote puede ejercer actividad alelopática negativa según sea la planta a la cual se aplica.

**Cuadro 1**

Efecto acumulativo de los extractos vegetales sobre el crecimiento de plantas de jitomate y nivel de infestación de raíces.

Tratamiento		Altura (cm)	Diámetro (cm)	Nivel de infestación
Testigo		63.5 a	0.98 b	5
5 mL	<i>R. graveolens</i>	69.8 a	0.88 ab	4
	<i>C. ambrosioides</i>	67.5 a	0.66 a	3
	Mezcla	64.8 a	1 b	1
10 mL	<i>R. graveolens</i>	63.8 a	1.04 b	4
	<i>C. ambrosioides</i>	68.6 a	0.78 ab	3
	Mezcla	70.8 a	1 b	1
15 mL	<i>R. graveolens</i>	65 a	1 b	4

	<i>C. ambrosioides</i>	71.1 a	0.64 a	3
	Mezcla	65.2 a	1.04 b	2

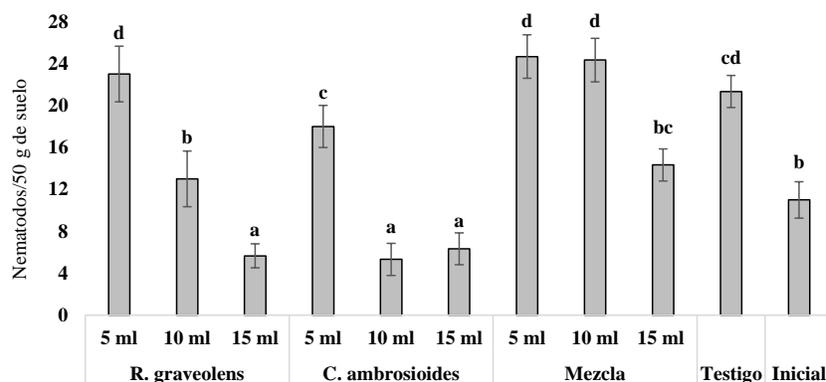
Nota: 15 días posteriores a la última aplicación. Misma letra indica que no existen diferencias entre los tratamientos, aplica a todos los análisis.

No existe diferencia entre los tratamientos en la variable conteo total de nematodos de suelo, siendo las dosis de 10 y 15 mL del extracto de epazote, así como la dosis de 15 mL del extracto de ruda los tratamientos que ejercen un mejor control sobre el fitoparásito, al controlar la infestación hasta 80 % con respecto del testigo (fig. 2). Lo anterior también se corrobora al analizar el nivel de infestación de las raíces, encontrando que las dosis altas de los tratamientos de la mezcla, a 5 y 10 mL, mostraron un nivel más bajo al encontrarse en

el nivel uno con respecto del testigo que se encontró en nivel 5 (cuadro 1). La combinación de ambos extractos no potencia su efecto sobre el control de J2 de *M. incognita*, ya que en conjunto controlaron el 40 % la población de nematodos con respecto del testigo en la dosis alta de 15 mL pero no mostró disminución de la infestación a dosis menores de 5 y 10 mL, por lo que se sugiere la existencia de antagonismo entre los metabolitos secundarios de efecto nematocida presentes en cada extracto.

## Figura 2

*Efecto acumulativo sobre el conteo final de nematodos en suelo recuperados de los diferentes tratamientos*



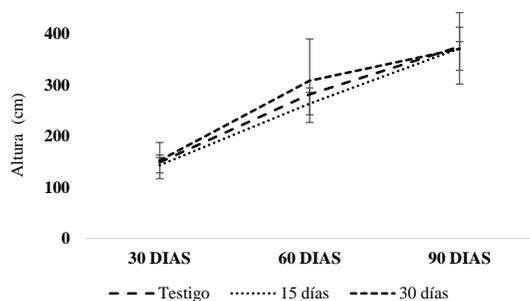
Nota: 15 días posteriores al establecimiento del ensayo.

### Periodos de aplicación.

En las pruebas de toxicidad *in vitro* e *in vivo*, no se encontró diferencia significativa sobre el control de nematodos con los extractos de *R. graveolens* y *C. ambrosioides*. Sin embargo, el porte de las plantas disminuyó y el grosor de tallo fue menor con el uso del extracto de *C. ambrosioides*. Por lo anterior, se evaluó solo el extracto de ruda en el control de *M. incognita*, para determinar los tiempos de aplicación. El análisis estadístico de datos demuestra que no existen diferencias significativas entre los tratamientos en cuanto a las variables altura de planta y grosor de tallo, evaluadas a 30, 60 y 90 días después del trasplante (fig. 3 y 4).

### Figura 3

Altura de planta de jitomate evaluada a 30, 60 y 90 días después del trasplante.

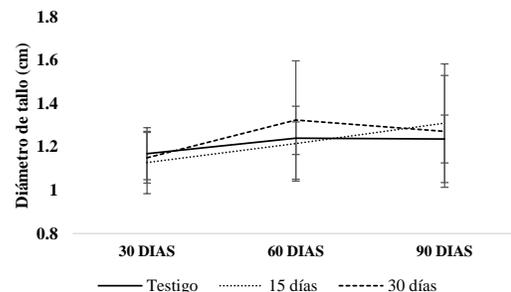


El conteo total de nematodos en suelo al final del experimento es 80% mayor en el testigo que en los tratamientos en que se aplicó extracto y coincide con los niveles de infestación de raíces (cuadro 2). En cuanto a la producción total de jitomate por tratamiento, se

observa que el tratamiento 3 tuvo mayor producción con respecto al resto de los tratamientos (cuadro 2).

### Figura 4

Grosor de tallo evaluado a 30, 60 y 90 días después del trasplante.



### Cuadro 2

Producción total de jitomate, nivel de infestación en raíces

Tratamiento	Producción (Kg)	Nivel de infestación	Nematodos totales
Testigo	121.1	2	101 ± 8.5 a
15 días	148.3	1	21 ± 3.5 b
30 días	192	1	16 ± 2.8 b

Nota: (90 días después del trasplante) y nematodos totales en 50 g de suelo después de la quinta aplicación (92 días después del trasplante). Misma letra indica que no existen diferencias entre los tratamientos.

### CONCLUSIONES

El extracto de *R. graveolens* constituye una alternativa viable para el control de *M. incognita* en el cultivo de jitomate en condiciones de invernadero sin ejercer actividad alelopática negativa sobre el cultivo. El efecto alelopático mostrado en plantas

tratadas con extracto de *C. ambrosioides* resulta contraproducente en sistemas productivos, ya que al disminuir el grosor del tallo de las plantas, reduce el área de xilema y floema en las mismas, afectando con ello el transporte de nutrientes y agua, siendo posible que la producción también se vea comprometida. Además, la combinación de extractos vegetales con actividad nematocida similar, no garantiza que el efecto se vea potenciado debido al posible antagonismo entre los metabolitos secundarios que cada extracto contiene.

La aplicación del extracto de ruda en periodos de 30 días garantiza el control del 80% del fitoparásito y se genera mayor rendimiento en producción con respecto del testigo (cuadro 2).

## REFERENCIAS

- Aballay, E., R. Sepúlveda & V. Inzunza. (2004). Evaluation of five nematode-antagonistic plants used as green manure to control *Xiphimena index* Thorne et Allen on *Vitis vinífera* L. *Nematropica*. 34: 45-51.
- Agrios, G.N. (2012). Plant diseases caused by nematodes. En *Plant pathology* 6th ed (pp 826-872). New York, EEUU: Elsevier Science.
- Baerman, G. (1917). Eine eifache Methode Zur Auffindung von Anklyostomum (Nematoden) larven in Erdproben. *Geneesk. Tijdschr.Ne.-Indie*. 57: 131-137.
- Bridge, J. & S.L.J. Page. (1980). Estimation of root-knoot nematode infestation levels on roots using a rating chart. *Tropical Pest Management*. 26: 296-298.
- Corbani, R. Z., & Mazzonetto, F. (2013). Efeito do Estrato Aquoso de Diferentes Espécies Vegetais no Manejo de *Meloidogyne incognita* em Tomateiro em Ambiente Protegido. *Revista Agrogeoambiental*, 5(2).
- Dias, C. G., A. V. Schwan, D. P. Ezequiel, M. C. Sarmiento & S. Ferraz. (2000). Efeito de extratos aquosos de plantas medicinais na sobrevivência de juvenis de *Meloidogyne incognita*. *Nematologia Brasileira, Piracicaba*. 24: 203-210.
- Jiménez-Osornio, F., Kumamoto, J., & Wasser, C. (1996). Allelopathic activity of *Chenopodium ambrosioides* L. *Biochemical Systematics and Ecology*, 24, 195-205.
- Jones, J. B., J. P. Jones & R. E. Stall. (2001). Plagas y enfermedades del tomate. *The American Phytopathological Society*. (M. Jiménez Trad.; R. Jiménez Rev.; pp: 25-30). Madrid, España. Ediciones Mundi-Prensa. (Obra original publicada en 1991).
- Manzanilla-López, R. H., K. Evans & J. Bridge. (2004). Plant diseases caused by nematodes. Capítulo 13. En *Chen, Z.X., S.Y.*

Chen, & D.W. Dickson. (eds) *Nematology Advances and Perspectives, Vol. 2, Nematode Management and utilization* (pp 637-716). Wallingford, UK: CAB International.

Panzardi. S.R., A.B. Della Pena y S. Leicach. (2003). Evaluación de efectos alelopáticos de *Chenopodium ambrosioides* sobre germinación de *Lactuca sativa* L. *Revista IDESIA*. 21 (3): 109-113.

Porcuna, J. L., J. A. Arnau, C. Ocón y A. Jiménez. (2001). El tomate: Planteamientos sanitarios de un cultivo muy vulnerable. *Revista Vida Rural*. 127: 22-26.

Quarles, W. (1992). Botanical pesticides from *Chenopodium*. *IPM Practitioner*. 14 (2): 1-11.

Quevedo, O., R. Crozzoli y G. Perichi. (2010). Uso de extractos acuosos y etanólicos de plantas para el control de *Meloidogyne enterolobii*. (Nematoda: Tylenchida). *Fitopatología Venezolana*. 23: 45-53.

SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación). (2021). Anuario estadístico de

la producción agrícola. SIAP (Servicios de Información Agroalimentaria y Pesquera). 8 p.

Sasanelli, N. (1992). Nematicidal activity of aqueous extract from leaves of *Ruta graveolens* on *Xiphinema index*. *Nematología Mediterranea*. 20: 53-55.

Sasanelli, N., & T. D'Addabbo. (1993). Potential application of the leaves of *Ruta graveolens* for controlling *Meloidogyne javanica* on sunflower. *Russian Journal of Nematology*. 1: 117-120.

Sasanelli, N., & T. D'Addabbo. (1995). Effect of aqueous solutions of Rutin on the beet cyst nematode *Heterodera schachtii*. *Nematología mediterranea*. 23: 31-34.

Seinhorst, J. W. (1981). Water consumption of plants attacked by nematodes and mechanisms of growth reduction. *Nematologica*. 27: 34-51.

Vinueza, S., R. Crozzoli y G. Perichi. (2006). Evaluación *in vitro* de extractos acuosos de plantas para el control del nematodo agallador *Meloidogyne incognita*. *Fitopatología Venezolana*. 19: 26-31.