

Efecto nematocida del extracto de *Canavalia ensiformis* y su potencialización con nanopartículas contra *Meloidogyne incognita*

Nematicidal effect of *Canavalia ensiformis* extract and its potentiation with nanoparticles against *Meloidogyne incognita*

Augusto Gil Ceballos-Ceballos¹, Yisa María Ochoa-Fuentes^{1*}, Ernesto Cerna-Chávez¹,
Arely Cano-García¹, Víctor Olalde-Portugal²

¹Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Calz Antonio Narro 1923, Buenavista, CP. 25315. Saltillo, Coahuila, México.

²Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN. Libramiento Norte Carretera Irapuato León Kilómetro 9.6, Carr Panamericana Irapuato León, CP. 36821 Irapuato, Guanajuato, México.

*Autor de correspondencia: yisa8a@yahoo.com

Nota científica

Recibida: 29 de marzo 2024

Aceptada: 03 de mayo 2024

RESUMEN. Se evaluó el efecto nematocida del extracto de semillas de *Canavalia ensiformis* combinado con nanopartículas de dióxido de silicio, en juveniles de segundo estadio (J2) de *Meloidogyne incognita*, nematodo fitopatógeno que afecta el cultivo de tomate. En el primer experimento, se probaron concentraciones del extracto al 2, 4, 6, 8 y 10%, observando que la concentración más efectiva fue del 10%, con una mortalidad del 90% a las 24 horas. En el segundo experimento, se combinaron concentraciones del extracto al 1.5, 2.0, 2.5 y 3.0% con nanopartículas de dióxido de silicio al 0.06, 0.08, 0.10, 0.12 y 0.14%, donde la más eficaz fue la de 1.5% de extracto con 0.14% de nanopartículas, que mostró una mortalidad del 94% a las 72 horas. Estos resultados sugieren que la combinación de extracto de *C. ensiformis* con las NP's puede ser una estrategia para el manejo de *M. incognita* en cultivos de tomate.

Palabras clave: Dióxido de silicio, *M. incognita*, mortalidad, tratamientos.

ABSTRACT. The nematicidal effect of *Canavalia ensiformis* seed extract combined with silicon dioxide nanoparticles was evaluated on second instar juveniles of *Meloidogyne incognita*, a phytopathogenic nematode that affects tomato crops. In the first experiment, concentrations of the extract were tested at 2, 4, 6, 6, 8 and 10%, observing that the most effective concentration was 10%, with 90% mortality at 24 hours. In the second experiment, concentrations of the extract at 1.5, 2.0, 2.5 and 3.0% were combined with silicon dioxide nanoparticles at 0.06, 0.08, 0.10, 0.12 and 0.14%, where the most effective was 1.5% extract with 0.14% nanoparticles, which showed a mortality of 94% at 72 hours. These results suggest that the combination of *C. ensiformis* extract with NP's can be a strategy for the management of *M. incognita* in tomato crops.

Keywords: Silicium dioxide, *M. incognita*, mortality, treatments, combinations.

Como citar: Ceballos-Ceballos AG, Ochoa-Fuentes YM, Cerna-Chávez E, Cano-García A, Olalde-Portugal V (2024) Efecto nematocida del extracto de *Canavalia ensiformis* y su potencialización con nanopartículas contra *Meloidogyne incognita*. Ecosistemas y Recursos Agropecuarios 11(2): e4112. DOI: 10.19136/era.a11n2.4112.

INTRODUCCIÓN

Los nematodos fitopatógenos afectan el cultivo de alimentos en el mundo. Se estimó en 2015 pérdidas en la producción mundial de un 7%, equivalente a 48 991.04 toneladas y a 173 mil millones de dólares (Heflish *et al.* 2021, Carmona-Hernández *et al.* 2022). Los géneros causantes de malformaciones de plantas en solanáceas y hortalizas son: *Globodera* y *Meloidogyne*, el segundo específicamente causa amarillamiento de las hojas, deformaciones en las raíces lo que ocasiona que no haya flujo de nutrientes al resto de la planta; además genera raquitismo y deficiencia en la producción de frutos (Demirbaş *et al.* 2020). Particularmente, *M. incognita* es una especie polífaga con distribución amplia y frecuente entre cultivos de solanáceas y resistente a condiciones desfavorables de temperatura, humedad relativa y suelos con bajo porcentaje de materia orgánica (Ayvar-Serna *et al.* 2018).

La modificación del medio y el uso desmedido de agroquímicos han generado que los nematodos, principalmente *M. incognita* y *M. javanica*, presenten resistencia a la mayoría de estos productos químicos (Wram y Zasada 2020). Algunas de las alternativas al uso de estos es la implementación de fermentados de plantas como *Lantana camara* L. para el control de *M. incognita* (Malahlela *et al.* 2021). Las nanopartículas (NP's) son estrategias de innovación tecnológica, se trata de materia que se encuentra dentro de una escala nanométrica de uno a cien nanómetros (Medina *et al.* 2015) En la búsqueda de estrategias de control, se ha innovado con el uso NP's como óxido de bismuto a las que se les atribuyen propiedades similares a las fitohormonas, mecánicas, térmicas y químicas que ayudan a la planta a asimilar los nutrientes del suelo (Álvarez-Constante y Rosero-Erao 2021).

Al respecto Cepeda *et al.* (2018) obtuvo extractos etanólicos y acuosos de ruezno y cáscara de nogal (*Carya illinoensis* W), que fueron aplicados a nematodos en condiciones *in vitro* extraídos de plantas con sintomatología causada por *M. incognita*, donde se contabilizó una reducción de individuos J2 de 97 y 99%, respectivamente. También se han estudiado los géneros de plantas de *Ageratum* y *Coccinia*, evaluando parámetros de eclosión de huevos y presencia de juveniles del estadio dos de individuos de *M. incognita in vitro* y con reportes de que las poblaciones se redujeron en un 65 y 50% en eclosión de huevos, siendo los metabolitos secundarios benéficos para el control de nematodos los flavonoides, fenoles y tanino (Asif *et al.* 2017). Existe evidencia de que las semillas de *C. ensiformis* contienen L-canavanina con propiedades de toxicidad, ya que se han suministrado a roedores causando afectaciones en el crecimiento y desarrollo de sus órganos, lo cual indica que causa efectos en los procesos fisiológicos en diferentes organismos (Ruiz-Bedolla *et al.* 2019). El extracto acuoso de semillas de *C. ensiformis* causó la muerte de hasta el 83% de J2 de *M. incognita*, la reducción de eclosión 87% de huevos *in vitro*, efectos asociados a la acción de la L-Canavanina, misma que fue determinada mediante HPLC (Rocha *et al.* 2017). La búsqueda de nuevas alternativas ha generado innovación con NP's, las cuales se han convertido en una alternativa para el control de diversas plagas, entre las que podemos encontrar nematodos de importancia agrícola como *Meloidogyne* spp, *Nacobbus* spp, *Globodera* spp, entre otros, por lo que la implementación de NP's de plata se ha estudiado y se la ha relacionado con daños a la cutícula de los nematodos, causando estrés oxidativo e interferencia en procesos biológicos relacionados con la mitocondria y la síntesis de proteínas (El-Habashy 2022). En la actualidad hay escasa información con relación a las NP's de dióxido de silicio

para el control de nematodos fitopatógenos, no obstante, se han hecho pruebas en diferentes plagas y se ha encontrado efectos favorables en la implementación de NP's de silicio contra plagas de diversos tipos (Thabet *et al.* 2021). Por lo anterior el objetivo de este estudio fue evaluar *in vitro* el efecto nematocida de las semillas de *C. ensiformis*, así como su potencialización con NP's de dióxido de silicio para el control de *M. incognita*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de inóculo

El experimento se realizó en el laboratorio de toxicología del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro ubicada en la ciudad de Saltillo Coahuila, México. Se colectaron muestras de suelo infestado de nematodos de la especie *M. incognita* en invernaderos de tomate en el ejido el salado del estado de San Luis Potosí; también se tomaron muestras de raíces de plantas de tomate con presencia de nódulos causados por *Meloidogyne*. Las muestras fueron transportadas en bolsas negras al laboratorio, se procesaron para obtener masas de huevos mediante el método de tamizado-centrifugado con la ayuda de tamices con mallas de calibre 50, 100, 400 y 500 para posteriormente centrifugar a 5 000 RPM durante 2 minutos; el sobrenadante se recuperó por decantación. Posteriormente se agregó una solución de sacarosa al 45% para centrifugar a 5 000 RPM durante 1 minuto, se decantó en el tamiz de 500 mallas y se enjuagó con agua destilada estéril, después se realizó un conteo en el microscopio estereoscópico (Cepeda 1995). Las masas de huevecillos se depositaron en tubos falcon y se mantuvieron a temperatura constante de 28 °C durante 12 días para obtener J2 (Pinzón *et al.* 2015).

Identificación de Nematodos

Se realizaron cortes perineales a hembras obtenidas de las raíces de plantas de tomate, las cuales se visualizaron en el microscopio compuesto y se observaron patrones como presencia de fásmidos bien definidos y ampliamente separados, línea lateral ausente y estrías altas finamente definidas con forma cuadrangular, así como ano y vulva distantes; estas características se describen en las claves taxonómicas de Cepeda (2016), García *et al.* (2004) y, Eisenback y Triantaphyllou (2020). Así mismo, fueron confirmadas por medio de la interactive diagnostic key to plant parasitic, freeliving and predaceous nematodes of university of Nebraska (Tarjan *et al.* 1977).

Obtención del extracto

La obtención del extracto de *C. ensiformis* se siguió la metodología descrita por Rocha, *et al.* (2017) modificada. Se agregaron 100 g de semillas, obtenidas de Leguminutre®, a un matraz de 500 mL al que se le adicionaron 200 mL de agua destilada estéril, y se colocó en un agitador oscilatorio durante 24 h a 130 RPM. Posteriormente las semillas junto con el agua fueron trituradas en un procesador de alimentos de la marca Ninja® con tres pulsos de 30 segundos, el producto resultante se dejó en el oscilador a 150 RPM durante 24 h y posteriormente se agregaron 400 mL de agua destilada. Con la ayuda de gasas se separó la fase sólida y líquida, la fase líquida se

centrifugó tres veces a 5 000 RPM a temperatura ambiente durante 20 minutos cada ciclo. Finalmente, se obtuvo un volumen total de 400 mL del extracto y se esterilizó por filtración utilizando filtros de 0.2 micras con la ayuda de una bomba de vacío y un embudo cónico de filtración. Las NP's de dióxido de silicio fueron obtenidas de la empresa CULTA®, las cuales fueron almacenadas a temperatura ambiente. Las diluciones se calcularon mediante la fórmula general de diluciones (Rajagopalan y Agrawal 2023).

Establecimiento de bioensayos

La evaluación *in vitro* se realizó mediante placas de cultivo celular de 24 cavidades con un diseño experimental de bloques completos al azar. Se hicieron diluciones de la solución madre donde se contenían los huevecillos eclosionados para obtener una solución stock en la cual cada 100 microlitros contenían 40 individuos \pm 5 J2 y posteriormente fueron depositados en cada pocillo. Se estableció un testigo con cinco tratamientos del extracto de *C. ensiformis* a 2, 4, 6, 8 y 10% que se determinaron mediante una ventana biológica tomando como base las dosis utilizadas por Rocha *et al.* (2017), con cinco repeticiones, y fueron incubados a $26^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}$. Se revisaron a las 24, 48 y 72 h posteriores a la inoculación con la ayuda de un microscopio estereoscópico, donde los criterios de muerte fueron cuerpo en posición recta o desintegración de los individuos (Figura 1A), y fueron comparados contra el tratamiento al 0% con agua (Figura 1B). Por último, se combinó el extracto de *C. ensiformis* con NP's de dióxido de silicio, donde se tomaron en cuenta los resultados obtenidos de los bioensayos previos basados en el extracto. En este experimento se utilizaron 35 individuos J2 (± 5) en cada pocillo bajo un esquema experimental de bloques completos al azar. Se implementaron cuatro tratamientos y un testigo con agua destilada, en los cuales se realizó un gradiente de concentraciones utilizando NP's al 0.06, 0.08, 0.10, 0.12 y 0.14%; cada una mezclada con el extracto al 1.5, 2.0, 2.5 y 3.0%. Los tratamientos fueron revisados a las 24, 48 y 72 h posteriores a la inoculación siguiendo los mismos criterios de muerte. Los datos obtenidos de mortalidad se procesaron mediante un análisis Probit con la ayuda del programa The SAS System Windows 9.0®. Los porcentajes de mortalidad por día se analizaron con análisis de varianza con el paquete estadístico Minitab® con un grado de significancia del 95% y una prueba de medias de Tukey.

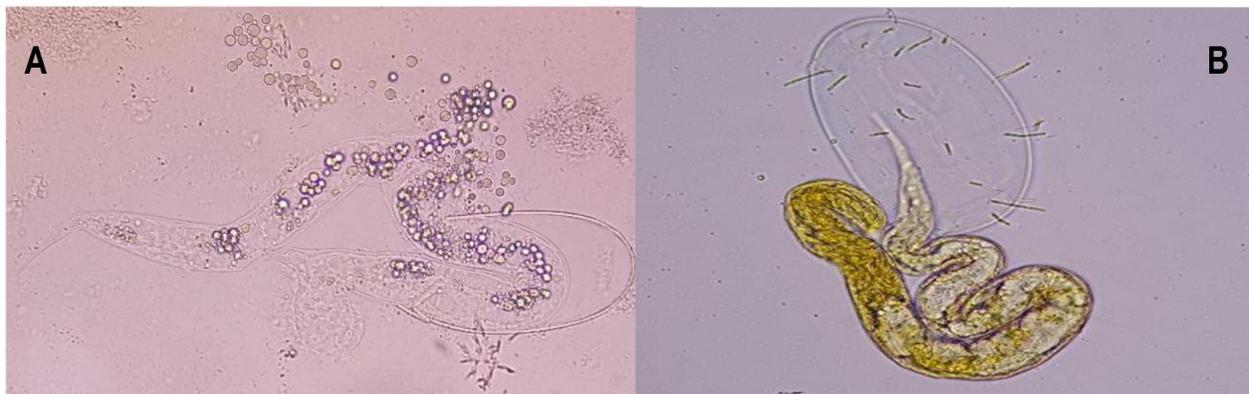


Figura 1. A) Individuo de *M. incognita* en proceso de desintegración causado por el extracto de *C. ensiformis*. B) Testigo de *M. incognita* teñido con lugol y azul de algodón.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante las primeras 24 h posteriores a la inoculación la dosis más baja al 2% de extracto de *C. ensiformis* no provocó mortalidad de los J2. Sin embargo, a las 48 h se tuvo una mortalidad mayor del 60% (Tabla 1). La concentración del 4% tuvo una mortalidad de 63% durante las primeras 24 h y a las 48 h la mortalidad se ubicó en 65% en promedio. Las dosis del 8 y 10% obtuvieron 85 y 90% de mortalidad, respectivamente a las 24 h posteriores a la inoculación (Tabla 1). El extracto de semillas de *C. ensiformis* presentó una evidente tasa de mortalidad en individuos J2 de *M. incognita* con bajas concentraciones, lo que coincide con el trabajo de Rocha *et al.* (2017) en donde reportaron mortalidades mayores al 80% en individuos del segundo estadio de nematodos del género *Meloidogyne*, mismos que, al igual que el presente trabajo, también presentaron formaciones de vacuolas en el cuerpo como efecto del extracto. Es necesario resaltar que en otros trabajos las evaluaciones se han realizado solo durante 48 h, mientras que en este trabajo las evaluaciones fueron hasta las 72 h (García-Munguía *et al.* 2016). La técnica de obtención del extracto utilizada en este estudio fue modificada con la finalidad de reducir costos y hacerla más accesible, sin embargo, los efectos causados son similares. Esto se debe a que el proceso originalmente se realizaba en frío con la ayuda de nitrógeno líquido y manteniendo en todo momento temperaturas no mayores a 4°C (Rocha *et al.* 2017). Para fines prácticos de este trabajo el proceso se realizó a temperatura ambiente de 24°C, no obstante, el extracto se sometió a más tiempo de centrifugado para garantizar la correcta separación de los anillos de lípidos con la fase acuosa. Lo anterior, indica que el metabolito se mantiene presente y conserva sus propiedades toxicidas. En algunos trabajos con *Tagetes*, se ha implementado extraer aceites de la planta para evitar afecciones por la temperatura, lo que podría hacer el extracto más estable a condiciones ambientales, mismo que ha mostrado ser más eficiente que extractos acuosos, incluso de la misma parte de la planta (Álvarez *et al.* 2016).

Tabla 1. Porcentaje de mortalidad por día de diluciones del extracto de semillas de *C. ensiformis* en J2 de *M. incognita*.

Concentración extracto de <i>C. ensiformis</i> (%)	24 horas	48 horas	72 horas
0 %	0	0	0
2 %	0	63	70
4 %	63	65	73
6 %	73	88	90
8 %	85	95	100
10 %	90	100	100

En el caso de las dosis combinadas, los resultados exponen que el efecto del extracto es potencializado cuando se aplican simultáneamente. En el primer tratamiento donde se aplicó el extracto al 1.5% con 0.08% de NP's de dióxido de silicio se logró una efectividad del 75%, a las 72 h posteriores de la aplicación (Tabla 2); teniendo en cuenta el tipo de solvente, agua destilada estéril, con el cual se obtuvo una tasa de efectividad mayor del 90%, lo encontrado es superior a lo reportado en otros extractos acuosos y etanólicos realizados con plantas del género *Capsicum*,

Hyoscyamus, *Estrumario* y *Achillea*, donde se utilizaron polvos obtenidos de las hojas, reportando mortalidades máximas de 60% (Kepenekçi et al. 2016). El segundo tratamiento indicó que las aplicaciones de extracto al 2.0% combinados con 0.08% de NP's a las 24 h de la aplicación tuvo mortalidades del 80%, no obstante, la mortalidad no aumentó significativamente en las siguientes 24 h posteriores y se puede observar que las dosis siguientes no tuvieron diferencias en las mortalidades (Tabla 2). El tercer tratamiento de 2.5% del extracto, con 0.06% de NP's tuvo una mortalidad del 77% a las 24 h y también se constató que en los días posteriores la mortalidad no aumentó significativamente hasta las 72 h, incluso algunos individuos no murieron (Tabla 2). El tratamiento del 3% de extracto expuso una mortalidad similar a la del primer tratamiento ya que la aplicación con 0.06% de NP's solo tuvo un 55% de efectividad y menos del 50% durante las primeras 24 h, hasta las 72 h no hubo cambios en la mortalidad; por otra parte, el tratamiento de 3.0% de extracto y 0.14% de NP's a las 72 h mostró mortalidad de 95%. Se puede comparar las mortalidades obtenidas con las dosis aplicadas del extracto solo y del extracto combinado con las NP's; las mortalidades aumentan en los tratamientos con concentraciones combinadas (Tabla 2), mientras que las aplicaciones con el extracto solo, se requiere mayor concentración para obtener el mismo porcentaje de mortalidad; no obstante, es importante resaltar la relación entre el aumento de las mortalidades y la disminución de las concentraciones en los tratamientos combinados. La mayor aplicación de NP's tuvo mortalidad de 95% durante las 72 h posteriores a la aplicación. Las concentraciones utilizadas para la evaluación en pruebas *in vitro* son aceptables considerando el método de extracción, puesto que, el metabolito L-canavanina se puede desnaturar bajo métodos de extracción con altas temperaturas, por lo que, para conservar las propiedades toxicológicas de la semilla el proceso se debe realizar en frío y no someterlo a temperaturas mayores a 50 °C (Rocha et al. 2017).

Tabla 2. Mortalidad por tratamiento 72 horas posteriores a la aplicación (%) del extracto de semillas de *C. ensiformis* combinado con Nanopartículas (NP's) de SiO₂ en J2 de *M. incognita*.

Extracto de <i>C. ensiformis</i> al 1.5 %		Extracto de <i>C. ensiformis</i> al 2.0 %	
NP's (%)	Mortalidad (%) 72 h	NP's (%)	Mortalidad (%) 72 h
0	0	0	0
0.06	43	0.06	63
0.08	75	0.08	77
0.10	86	0.1	89
0.12	89	0.12	90
0.14	94	0.14	91
Extracto de <i>C. ensiformis</i> al 2.5 %		Extracto de <i>C. ensiformis</i> al 3.0 %	
NP's (%)	mortalidad (%) 72 h	NP's (%)	mortalidad (%) 72 h
0	0	0	0
0.06	77	0.06	55
0.08	86	0.08	65
0.10	89	0.10	81
0.12	94	0.12	91
0.14	100	0.14	95

El análisis probit de la CL₅₀ y CL₉₅ del extracto se ubicaron en 2.41% y 10.01. Con respecto a las dosis combinadas el extracto fue potenciado por las NP's (Tabla 3). Se observa que se requieren 0.079, 0.045, 0.037 y 0.059% de NP's combinadas con el extracto de *C. ensiformis* al 1.5, 2.0, 2.5 y 3.0%, respectivamente; para alcanzar mortalidades efectivas para alcanzar la CL 50. Si se compara con las concentraciones del extracto, se puede observar como se requiere menos concentración una vez que se combina con las NP's.

Tabla 3. Análisis probit de bioensayos de semillas de *C. ensiformis* y NP's de SiO₂. Límites Fiduciales Inferiores (LFI), Dosis Letal 50 (DL50), Límites Fiduciales Máximos (LFM), Dosis Letal 95 (DL95).

Tratamiento	LFI	DL50	LFM	DL95	Valor de p
Extracto de <i>C. ensiformis</i>	1.98	2.41	2.79	10.01	0.0001
Extracto 1.5% y NP's	0.075	0.079	0.083	0.150	0.0001
Extracto 2.0% y NP's	0.031	0.045	0.054	0.158	0.0001
Extracto 2.5% y NP's	0.023	0.037	0.047	0.147	0.0001
Extracto 3.0% y NP's	0.050	0.059	0.065	0.148	0.0001

Se observan diferencias entre tratamientos, el experimento donde se evaluó solo el extracto de semillas de *C. ensiformis*, mostró que hay diferencias significativas en todos los tratamientos; mientras que, en el experimento con dosis combinadas, específicamente en los tratamientos de 1.5% de extracto con 0.06 y 0.012% de Np's no existen diferencias entre tratamientos. También es el mismo caso en el tratamiento de 2.5% del extracto con 0.12 y 0.08% de NP's, no existen diferencias significativas (Tabla 4).

Las diferencias con otros experimentos donde también se aplican extractos acuosos puede atribuirse al uso de las diferentes partes de la planta, es decir, los metabolitos están distribuidos en la planta y sus concentraciones pueden variar de acuerdo a la parte de la planta de donde se extraen, algunos pueden contenerse en mayor cantidad en hojas, en raíces o en semillas (Villegas *et al.* 2013). El extracto acuoso utilizado en este trabajo fue obtenido de semillas de *C. ensiformis*. Mismas que han presentado efectos antilarvarios en los que se han reducido hasta en 35% la presencia de larvas de *Callosobruchus maculatus*, confirmando así que la semilla por sí misma sin procesar presenta efectos de toxicidad (de Sá *et al.* 2017). Lo antes mencionado se puede constatar tomando en cuenta que se han comparado pruebas donde desarrollan productos con bases etanólicas y acuosas, en dichos ensayos con cáscara de ruezno reportan mortalidades del 97% para el caso del extracto acuoso y 87% para los etanolicos (Cepeda *et al.* 2018). Por lo que la importancia del presente estudio radica en la modificación y simplificación del método de obtención del extracto, así como la compatibilidad de este potencializado con NP's de dióxido de silicio, ya que actualmente solo existe un trabajo relacionado con *C. ensiformis* como agente de control aplicado a nematodos fitopatógenos (Rocha *et al.* 2017). No se realizó la detección de la L-canavanina, no obstante, al comparar los resultados de Rocha *et al.* (2017) se puede confirmar que a pesar de que se modificó la técnica de obtención del extracto, el producto obtenido conserva sus propiedades biocidas. Las NP's de dióxido de silicio no se han evaluado contra patógenos, es por ello que se debe resaltar que la compatibilidad de ambos productos mostró resultados favorables, lo que abre la posibilidad de nuevos estudios para entender y comprender los alcances que pueden tener.

El método modificado para la obtención del extracto de semillas de *C. ensiformis* exhibió niveles de efectividad contra *M. incognita* por sí solo, mostrando la mayor mortalidad las primeras 24 h y un incremento en algunas dosis en días posteriores. Es importante resaltar que el resultado de la potencialización con el uso de NP's de dióxido de silicio fue positivo y se requieren bajas cantidades combinadas, tanto del extracto como de las NP's. Es importante continuar con pruebas bajo diferentes esquemas, los cuales ayudarán a entender las diferentes aplicaciones que se le puede dar a la combinación de ambos productos.

Tabla 4. Análisis de varianza con los porcentajes de mortalidad 72 horas posteriores a la aplicación

	Tratamiento	N	Media ± DS
Extracto de <i>C. ensiformis</i> 72 h	10	5	38.6 ± 1.6 ^a
	8	5	37.2 ± 2.8 ^a
	6	5	34.8 ± 2.7 ^a
	4	5	26.6 ± 1.3 ^b
	2	5	17.8 ± 0.5 ^c
Medias extracto al 1.5% y NP's 72 h	0.14	5	33.0 ± 0.8 ^a
	0.12	5	31.2 ± 0.7 ^{ab}
	0.06	5	30.2 ± 2.8 ^{bc}
	0.10	5	28.0 ± 1.0 ^c
	0.08	5	33.0 ± 0.7 ^d
Medias extracto al 2.0 % y NP's 72 h	0.14	5	31.8 ± 2.1 ^a
	0.12	5	31.4 ± 0.7 ^a
	0.10	5	31.0 ± 1.0 ^a
	0.08	5	27.0 ± 1.1 ^b
	0.06	5	22.2 ± 1.4 ^c
Medias extracto al 2.5 % y NP's 72 h	0.14	5	35.0 ± 2.2 ^a
	0.12	5	32.8 ± 1.0 ^{ab}
	0.10	5	31.0 ± 2.3 ^b
	0.08	5	30.0 ± 1.9 ^{bc}
	0.06	5	26.8 ± 0.0 ^c
Medias extracto al 3.0 % y NP's 72 h	0.14	5	33.2 ± 0.8 ^a
	0.12	5	31.8 ± 2.5 ^a
	0.1	5	28.2 ± 0.8 ^b
	0.08	5	23.8 ± 0.8 ^c
	0.06	5	19.4 ± 0.8 ^d

CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores declaran que no tienen intereses en competencia.

LITERATURA CITADA

- Álvarez-Constante D, Rosero-Eraza C (2021) Potencial bactericida de nanopartículas de óxido de bismuto y dióxido de titanio. *Ciencias Técnicas y Aplicadas* 7(3): 822-836: <http://dx.doi.org/10.23857/dc.v7i3.2026>.
- Álvarez D, Botina J, Ortiz J, Botina L (2016) Evaluación nematocida del aceite esencial de *Tagetes zypaquirensis* en el manejo del nematodo *Meloidogyne spp.* *Revista de Ciencias Agrícolas* 33(1): 22-33. <https://doi.org/10.22267/rcia.163301.3>.
- Asif M, Tariq M, Khan K, Siddiqui M (2017) Biocidal and antinemic properties of aqueous extracts of *Ageratum* and *Coccinia* Against root-knot nematode, *Meloidogyne incognita in vitro*. *Journal of Agricultural Sciences* 12(2): 108. <https://doi.org/10.4038/jas.v12i2.8229>.
- Ayvar-Serna, Díaz J, Alvarado, O, Velázquez I, Peláez A, Tejeda M (2018) Actividad nematocida de extractos botánicos contra *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) en okra (*Hibiscus esculentus* L. Moench). *Biotecnia* 20(1): 13-19. <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v20i1.524>.
- Carmona-Hernández O, Martínez-Hernández M, Fernández M, Molina-Torres J, Ramírez-Chávez E, Barrientos-Salcedo C, Lozada-García J (2022) Actividad nematocida de extractos foliares de cuatro especies de Piper contra *Caenorhabditis elegans*. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios* 8(3): 1-12. <https://doi.org/10.19136/era.a8n3.2943>.
- Cepeda M (2016) *Nematología agrícola*. 2da reimpression. Ed. Trillas. México. 304p.
- Cepeda M (1995) *Prácticas de Nematología Agrícola*. Primera ed. Trillas. México. 112p.
- Cepeda SM, García CJ, Hernández JA, Ochoa FY, Cruz GF, Cerna CE, Dávila MM (2018) Toxicidad de extractos de *Carya illinoensis* (Fagales: Juglandaceae) contra *Meloidogyne incognita* (Tylenchida: Heteroderidae) en tomate. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios* 5(13): 143-148. <https://doi.org/10.19136/era.a5n13.1144>.
- De Sá L, Ventury K, Manchado O, Fernandes K, Filho J, Oliveira A (2017) Toxic effect of *Canavalia ensiformis* seed coat on larval development of *Callosobruchus maculatus*. *Journal of Pest Science* 9(1): 313–326. <https://doi.org/10.1007/s10340-017-0895-3>.
- Demirbaş H, Kaşkavalcı G, Kasapoğlu E, Toktay H, Elekcioglu İ (2020) Identification and prevalence of potato cyst nematodes and root-knot nematodes in the potato production areas of İzmir Province, Turkey. *Turkiye Entomoloji Derg* 44(2): 259-272. <https://doi.org/10.16970/entoted.683173>
- Eisenback JD, Triantaphyllou HH (2020) Root-knot nematodes: *Meloidogyne* species and races. *Manual of agricultural nematology*. 1st Edition. CRC Press. Boca Raton, Florida. 1052p. <https://doi.org/10.1201/9781003066576-6>.
- El-Habashy D (2022) Effectiveness of nanoparticles of some plant extracts against root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* on tomato plants. *International Journal of Agricultural Sciences* . 4(3): 46-57. <https://doi.org/10.21608/svuijas.2022.143524.1213>
- García F, Obando J, Betancourth G (2004) Reconocimiento de especies de *Meloidogyne* en tomate de árbol (*Solanum betacea*) y lulo (*Solanum quitoense*) en la zona norte del departamento de Nariño. *Revista de Ciencias Agrícolas* 21(1): 28-40. http://dx.doi.org/10.21930/rcta.vol18_num2_art:629
- García-Munguía AM, Contreras-Martínez RN, Ramos-Barreto CA, Pérez-Sato MG, Ferro WK, Pérez-Cabrera LE, Ibáñez-Martínez A (2016) Control biológico In vitro de nematodos agalladores (*Meloidogyne sp.*) a base de quitosano y fluensulfone. *Biologico Agropecuaria Tuxpan* 4(1): 25-32. <https://doi.org/10.47808/revistabioagro.v4i1.17>
- Heflish AA, Hanfy AE, Ansari MJ, Dessoky ES, Attia AO, Elshaer MM, Gaber MK, Kordy A, Doma AS, Abdelkhalek A, Behiry SI (2021) Green biosynthesized silver nanoparticles using *Acalypha wilkesiana* extract control root-knot nematode. *Journal of King Saud University Science* 33(6). <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2021.101516>.
- Kepekçi İ, Erdoğuş D, Erdoğan P (2016) Effects of some plant extracts on root-knot nematodes *in vitro* and *in vivo* conditions. *Turkish Journal of Entomology* 40(1): 3-14. <http://dx.doi.org/10.16970/ted.84688>
- Malahlela M, Thibane VS, Mudau FN (2021) Nematocidal activity of fermented extracts from *Lantana camara* plant parts against *Meloidogyne javanica* on tomato. *International Journal of Vegetable Science* 27(1): 20-28. <https://doi.org/10.1080/19315260.2019.1697981>.
- Medina M, Galván L, Reyes R (2015) La nanopartículas y el medio ambiente. *Universidad, Ciencia y Tecnología* 19(74): 49-58.
- Pinzón L, Candelero J, Tun J, Reyes V, Cristóbal J (2015) Control de *Meloidogyne incognita* en tomate (*Solanum lycopersicum* L.) con la aplicación de *Trichoderma harzianum*. *Fitosanidad* 19(1): 5-11.

- Rajagopalan S, Agrawal R (2023) Effects of silver nanoparticles on growth of *E. coli*: A study examining various antibiotic factors. *Journal of Student Research* 12(4): 1-11. <https://doi.org/10.47611/jsrhs.v12i4.5404>.
- Rocha TL, Soll CB, Boughton BA, Silva TS, Oldach K, Firmino AA, Callahan DL, Sheedy J, Silveira ER, Carneiro RM, Silva LP, Polez VL, Pelegrini PB, Bacic A, Grossi-de-Sa MF, Roessner U (2017) Prospection and identification of nematotoxic compounds from *Canavalia ensiformis* seeds effective in the control of the root knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Biotechnology Research and Innovation* 1(1): 87-100. <https://doi.org/10.1016/j.biori.2017.10.003>
- Ruiz-Bedolla E, López-Martínez B, Hernández-Alvarado R, Parra-Ortega I (2019) Evaluación del aminoácido L-canavanina en semillas y vegetales de consumo humano. *Medicina e Investigación Universidad Autónoma del Estado de México* 7(2): 41-46.
- Tarjan AC, Esser RP, Chang SL (1977) An illustrated key to nematodes found in fresh water. *Journal Water Pollution Control Federation* 49(11): 2318-2337.
- Thabet AF, Boraie HA, Galal OA, El-Samahy MF, Mousa KM, Zhang YZ, Tuda M, Helmy EA, Wen J, Nozaki T (2021) Silica nanoparticles as pesticide against insects of different feeding types and their non-target attraction of predators. *Scientific Reports* 11(1): 1-13. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-93518-9>
- Villegas RG, Dávila MF, Rodríguez EG, Villarreal RM (2013) Efecto insecticida de extractos vegetales, sobre larvas de *Culex tarsalis* (Diptera : Culicidae) en laboratorio. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 4(2): 273-284. <https://doi.org/10.29312/remexca.v4i2.1237>
- Wram CL, Zasada I (2020) Differential response of meloidogyne, pratylenchus, globodera, and xiphinema species to the nematicide fluzaindolizine. *Phytopathology* 110(12): 2003-2009. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-05-20-0189-R>.