



*Nota Fitopatológica*

## Extracto de semillas de *Canavalia ensiformis* con nanopartículas de SiO<sub>2</sub> como ovicida en *Meloidogyne incognita*

Augusto Gil Ceballos-Ceballos, Yisa María Ochoa-Fuentes\*, Ernesto Cerna-Chávez, Arely Cano-García, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Departamento de Parasitología Agrícola. Calzada Antonio Narro 1923, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. C.P.25315.

\*Autor de  
correspondencia:

Yisa María Ochoa-Fuentes  
yisa8a@yahoo.com

Sección:  
Edición periódica

Recibido:  
18 Abril, 2024  
Aceptado:  
18 Diciembre, 2024  
Publicado:  
31 Diciembre, 2024  
Adelantada, 2025

Cita:  
Ceballos-Ceballos AG,  
Ochoa-Fuentes YM, Cerna-  
Chávez E y Cano-García A.  
2025. Extracto de semillas  
de *Canavalia ensiformis*  
con nanopartículas de  
SiO<sub>2</sub> como ovicida en  
*Meloidogyne incognita*.  
Revista Mexicana de  
Fitopatología 43(1): 49.  
[https://doi.org/10.18781/R.  
MEX.FIT.2404-5](https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2404-5)

### RESUMEN

**Antecedentes/Objetivo.** Los extractos de semillas de *Canavalia ensiformis* han demostrado efectos antiparasitarios y repelentes contra plagas. El objetivo fue evaluar la efectividad del extracto combinado con nanopartículas (NP's) de dióxido de silicio contra los huevos de *Meloidogyne incognita*.

**Materiales y Métodos.** Se llevaron a cabo experimentos *in vitro* para evaluar los efectos de los extractos de semillas de *C. ensiformis*, tanto por sí solos como combinados con NP's de dióxido de silicio, en la eclosión de juveniles de *M. incognita*. Se utilizaron 150 huevos y se aplicaron concentraciones de 0, 2, 4, 6, 8 y 10 % del extracto. Además, se evaluaron concentraciones del extracto al 0, 1.5, 2.0, 2.5 y 3.0 %, cada una combinada con concentraciones de NP's al 0.06, 0.08, 0.10, 0.12 y 0.14 %.

**Resultados.** Ninguno de los tratamientos logró evitar la eclosión más del 30 % de juveniles. La modificación de la técnica de obtención del extracto de semillas de *C. ensiformis* puede causar un efecto ovicida complementario; sin embargo, al aumentar las concentraciones del extracto, puede propiciar la proliferación de hongos saprofitos y otros microorganismos.

**Conclusión.** Los tratamientos no mostraron efectos ovicidas significativos arriba del 40 %.

**Palabras clave:** Nematodos, bioensayos, concentraciones, eclosión.



## INTRODUCCIÓN

Los nematodos fitopatógenos que en la actualidad causan grandes pérdidas en la producción de jitomate (*Solanum lycopersicum*), pepino (*Cucumis sativus*), chile (*Capsicum annuum*), café (*Coffea arabica*), entre otras; también son organismos poco estudiados, con resistencia a productos nematocidas químicos sintéticos debido a su uso indiscriminado y que éstos a su vez generan residualidad en alimentos y afectaciones a la salud humana (Trujillo-Rugamas *et al.*, 2022). Las plantas de forma adaptativa y evolutiva han desarrollado defensas como una respuesta a factores bióticos y abióticos; algunas de estas adaptaciones son cambios fisiológicos, defensas químicas y producción de metabolitos secundarios (Camacho-Escobar *et al.*, 2020). Es por tal motivo que se han buscado nuevas tecnologías con la finalidad de mitigar los efectos secundarios de los agroquímicos y para ello se han desarrollado extractos fitoquímicos que ayuden al control de los nematodos (Cándor-Golec., 2019). Es importante identificar los metabolitos en las plantas y conocer los métodos y solventes para su obtención, ya que algunas plantas como las fabáceas contienen altos contenidos de metabolitos secundarios como flavonoides, compuestos fenólicos y alcaloides con diversos efectos que ayudan al control de plagas (López *et al.*, 2022). Los metabolitos se encuentran distribuidos en diferentes partes de la planta y se pueden encontrar en diferentes concentraciones dependiendo de donde se extraigan, algunas de las partes de la planta donde se encuentran son hojas, raíces, semillas, flores y tallos (Guillén-Andrade *et al.*, 2019). *C. ensiformis* es una fabácea que se utiliza como alimento para ganado, sin embargo, contiene diversos metabolitos secundarios como L-canavanina, que cuando se suministra a roedores, causa afectaciones en el desarrollo de algunos de sus órganos (Ruiz-Bedolla y López-Martínez., 2019). Los extractos acuosos de semillas de *C. ensiformis* fueron evaluados en nematodos fitopatógenos, los efectos del extracto alcanzaron al menos el 90 % de efectividad en juveniles de segundo estadio (J2) y evitaron la eclosión de juveniles en 80% en individuos de *M. incognita* (Rocha *et al.*, 2017). El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto ovicida de los extractos de *C. ensiformis*, así como su potencialización combinada con NP's de dióxido de silicio.

El trabajo se estableció en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro en el laboratorio de Toxicología del departamento de Parasitología Agrícola, ubicados en la ciudad de Saltillo Coahuila, México. Se colectaron cinco muestras de suelo y raíces infectadas con nematodos del género *Meloidogyne* de una parcela de chile serrano en la localidad Cristo Rey municipio de Escuinapa, Sinaloa. Las muestras se procesaron y obtuvieron J2 mediante el método de tamizado-centrifugado con la ayuda de tamices con mallas de calibre 50, 100, 400 y 500 para posteriormente centrifugar a 5000 rpm durante dos minutos; posteriormente se agregó una solución de sacarosa al 45 % y centrifugó a 5 000 rpm durante un minuto, se decantó en el tamiz

de malla 500, se enjuagó con agua destilada estéril (Cepeda, 1995). Las masas de huevos se obtuvieron con la técnica de Mc Clure *et al.* (1973) a partir de raíces, en la cual se utilizó un procesador de alimentos de la marca Ninja®. Se utilizaron 100 gramos de raíz previamente lavadas con agua de grifo para posteriormente agregar agua destilada hasta cubrir la raíz, se molieron con tres pulsos de 15 segundos, con ayuda de las mallas de 50, 100, 400 y 500 se eliminaron los restos de raíz y se incubaron a 28 °C durante seis días (Cristóbal-Alejo *et al.*, 2018).

Para la identificación de la especie de *Meloidogyne* se realizaron montajes en lactofenol con azul de algodón con los individuos extraídos de las raíces y suelo; a las hembras se les realizó un corte perineal, dichos montajes se visualizaron en el microscopio compuesto para observar sus estructuras internas y fueron identificadas con las claves de García *et al.* (2004). También se utilizaron las claves taxonómicas de Cepeda (2016), y se identificó la especie de individuos J2 que fueron confirmadas por medio de la Interactive Diagnostic Key to Plant Parasitic, Freelifing and Predaceous Nematodes of the University of Nebraska (Tarjan *et al.*, 1977). Para la obtención del extracto de semillas de *C. ensiformis*, se compraron semillas en la empresa distribuidora Leguminutre®. Se siguió la metodología descrita por Rocha *et al.* (2017) modificada, en la cual se agregaron 100 g de semilla en un matraz, se adicionaron 200 mL de agua destilada y se dejó en un agitador oscilatorio durante 24 horas 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 horas. Con la ayuda de gasas fueron separadas la fase sólida y líquida, la fase líquida se centrifugó tres veces a 5000 rpm a 24 °C durante 20 minutos cada ciclo. Finalmente, el extracto se esterilizó por filtración mediante filtros de 0.2 micras y se almacenó a 4 °C.

Las NP's de dióxido de silicio fueron obtenidas de la empresa Cultra®. Se evaluaron dos experimentos y en ambos experimentos se utilizaron placas de cultivo celular a las cuales se agregaron 100 µL de solución, la cual contenía 150 huevos del nematodo. En todos los experimentos los huevos fueron expuestos a las dosis seis días después de su extracción y se realizaron tres observaciones seis días posteriores a las aplicaciones hasta que se cumplieran 12 días desde su extracción, ya que es el periodo de tiempo que tardan en eclosionar los juveniles. En todo momento los huevos fueron incubados a 28 °C. En el primer experimento se aplicaron seis concentraciones al 0, 2, 4, 6, 8 y 10 % de los extractos de semillas de *C. ensiformis* con cinco repeticiones por tratamiento, dichas concentraciones fueron determinadas por los trabajos previos de Rocha *et al.* (2017). En el segundo experimento se implementaron cinco experimentos con las siguientes combinaciones: 0.0 1.5, 2.0, 2.5 y 3.0 % del extracto de semillas de *C. ensiformis* y cada una combinadas con 0.0 0.06, 0.08, 0.10, 0.12 y 0.14 % de NP's con cinco repeticiones cada uno,

mismas que fueron determinados previamente mediante una ventana biológica. Los datos obtenidos de eclosión se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) para evaluar las diferencias significativas entre las medias de los tratamientos. Posteriormente, se aplicó la prueba de comparaciones múltiples de Tukey con un nivel de significancia de 0.05 para identificar específicamente qué grupos diferían entre sí.

Se encontró que ninguna de las dosis del extracto de semillas de *C. ensiformis* evitaron la eclosión de juveniles; sin embargo, ninguna de las dosis probadas superó el 30 % en la reducción de la eclosión. En el Cuadro 1 se muestran los porcenta-

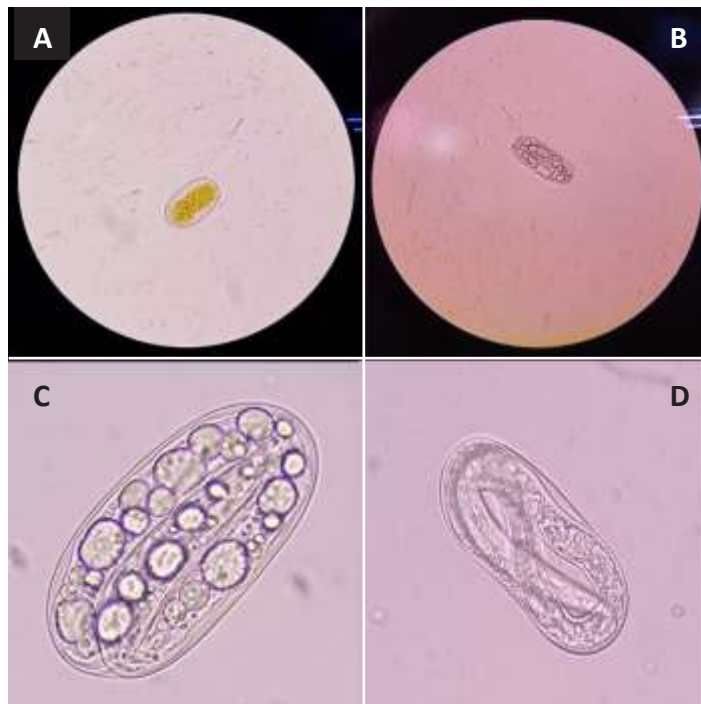
**Cuadro 1.** Comparación de medias del efecto de los tratamientos del extracto de semillas de *Canavalia ensiformis* y NP's de dióxido de silicio en huevos de *Meloidogyne incognita*.

	T	N	M±DS	A
<b>Extracto <i>C. ensiformis</i></b>	2	5	23.6±1.517	B
	4	5	30.6±2.191	A
	6	5	27.2±1.924	A B
	8	5	25±0.080	B
	10	5	25±0.080	B
<b>Extracto al 1.5 % y NP's</b>	0.06	5	29±1.414	A B
	0.08	5	30.6±2.191	A
	0.10	5	30.4±1.140	A B
	0.12	5	27.4±1.673	B
	0.14	5	30.2±1.789	A B
<b>Extracto al 2.0 % y NP's</b>	0.06	5	33.2±1.304	A
	0.08	5	33±2.350	A B
	0.10	5	31.8±1.304	A B
	0.12	5	30.2±1.483	B
	0.14	5	30.4±1.140	A B
<b>Extracto al 2.5 % y NP's</b>	0.06	5	34.8±2.168	A B
	0.08	5	37.2±1.924	A
	0.10	5	33.4±1.517	A B
	0.12	5	31.2±1.304	A B
	0.14	5	31±0.707	B
<b>Extracto al 3.0 % y NP's</b>	0.06	5	34±1.225	A
	0.08	5	32.8±1.643	A
	0.10	5	29.6±0.894	B
	0.12	5	29.4±0.894	B
	0.14	5	29.8±1.095	B

T= Treatments, N= Repetitions, M=Means, DS= Standard Deviation, A= Statistical differences.

jes de reducción de eclosión obtenidos después de las aplicaciones del extracto de *C. ensiformis*, se puede apreciar que el extracto por sí solo presentó baja reducción en la eclosión de J2 (menor al 30 %), siendo la concentración del 4 % en donde se observó la mayor disminución en la eclosión. Las dosis combinadas mostraron mejor efectividad en la reducción de la eclosión con relación a las aplicaciones no combinadas. En el caso de las aplicaciones del extracto al 1.5 %, el porcentaje de reducción se obtuvo en la combinación con el 0.08 % con un 30.6 % de huevos no eclosionados. En el experimento con el tratamiento al 2.0 %, la combinación que mejores resultados mostraron fueron de 0.06 y 0.08 % de NP's, que redujo la eclosión en un 33.2 %. En el caso de 2.5 y 3.0 % de extracto combinado con 0.08 % de NP's disminuyó la eclosión en 34.8 y 32.8 %, respectivamente. El cuadro 1 muestra las diferencias estadísticas significativas entre tratamientos, es decir, las agrupaciones muestran que existen diferencias significativas entre ellos. El análisis de varianza mostró que el extracto de *C. ensiformis* por sí solo en la única concentración en donde no presentó diferencias fue en la de 6 %. El análisis señaló que en las aplicaciones combinadas tuvieron diferencias significativas con 1.5 % de extracto con 0.08 y 0.12 % de NP's, mientras que en las otras combinaciones no. La combinación de 2.0 % con 0.06 y 0.12 % de NP's existen diferencias significativas en la eclosión. En el caso de 2.5 % con 0.08 y 0.14 % de NP's se registran diferencias entre aplicaciones con respecto a la eclosión, mientras que para el caso del 3.0 % con sus combinaciones existió diferencias significativas. Por otra parte, se observaron algunos efectos sobre el corión (cáscara) de los huevos, en donde se formaron vacuolas dentro de éstos, dichas formaciones se observaron a partir de los seis días posteriores a la inoculación de los tratamientos (Figura 1B y C). También en la imagen de uno de los testigos se aprecia la formación del juvenil de *M. incognita* (Figura 1A); del mismo modo, se observó la formación del juvenil en huevos inoculados con el extracto, en donde se observó el cuerpo completo desarrollado; sin embargo, este juvenil no eclosionó (Figura 1D).

Ninguno de los tratamientos alcanzó el 50 % de efectividad de la eclosión; sin embargo, se observaron diferencias significativas entre tratamientos. El extracto por sí solo de semillas de *C. ensiformis* presentó baja reducción en la eclosión de juveniles, a pesar de que si existe una reducción en la eclosión esta no representó un porcentaje significativo, esto puede deberse a que el extracto no contuvo coadyuvantes estabilizadores; ya que se trata de un extracto acuoso. Si consideramos el punto anterior, este se puede comparar con otros extractos obtenidos mediante solventes de agua, etanol, diclorometano y hexano obtenidos de *Embelia schimperi*; en dichos experimentos los extractos acuosos no superaron el 50 % en la reducción de la eclosión, mientras que los extractos obtenidos con solventes se ubicaron arriba del 80 %. La L-canavanina es un metabolito que se hidroliza a temperatura igual o mayor de 40 °C, por lo que su extracción se debe realizar en frío (Rocha *et al.*,



**Figura 1.** A: huevo correspondiente al testigo sin inoculación y fijado con azul de algodón (100). B: huevo inoculado con extracto de *Canavalia ensiformis* y NP's (100X). C: imagen ampliada de huevo inoculado con *C. ensiformis* y NP's (100X). D: huevo inoculado con extracto de *C. ensiformis* (100X).

2017). La técnica utilizada en este trabajo fue modificada con la finalidad de reducir costos, se desarrolló a temperatura ambiente ( $26\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), la incubación fue con una temperatura constante de  $26\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Es importante enfatizar que debido a la naturaleza de la L-canavanina, no se pueden someter a procesos de concentración que involucren temperaturas elevadas, por lo que Rocha *et al.* (2017) sometió el extracto a un proceso de liofilización para conservar sus propiedades. En el presente trabajo como parte de la modificación de la técnica, este paso fue omitido. Este punto puede ser el principal factor diferenciador en la eclosión, ya que al compararlo con otros extractos acuosos donde se implementó el uso de rotavapor, los resultados alcanzaron inhibiciones de la eclosión por arriba del 70 %. Los metabolitos se pueden obtener de diferentes partes de las plantas, y con diferentes métodos; la efectividad depende de diversos factores como movilidad y disponibilidad en el suelo, temperatura y humedad relativa; incluso pH y tipo de suelo (Shanmuga *et al.*, 2019). En la parte complementaria de este trabajo se implementó el uso de NP's de dióxido de silicio, la innovación en la búsqueda de un efecto potencializador del extracto de semillas de *C. ensiformis*. El análisis de los datos mostró como el uso

de NP's potenció el extracto de *C. ensiformis* para bajar las concentraciones requeridas para reducir la eclosión. Hasta el momento no existe información sobre el uso de NP's de dióxido de silicio para el control de nematodos, no obstante, existen trabajos donde se ha logrado formular NP's extractos de plantas como *Syzygium aromaticum*, *Lantana camara* y *Conyza dioscoridis*. Dichos trabajos han obtenido resultados favorables en los que se ha logrado disminuir la eclosión de huevos al 100 % los que mostraron mayor efectividad comparado con extractos acuosos de las mismas plantas (El-Habashy, 2022). Estos resultados antes mencionados no coinciden con los obtenidos con *C. ensiformis*, esto puede ser porque a pesar de existir penetración de los extractos y las NP's, éstas no penetran en las capas secundarias compuestas por proteínas y lípidos; es en esta parte de la estructura de los huevos donde se forman las vacuolas (Perry *et al.*, 1982). *C. ensiformis* combinado con las NP's evitó la eclosión de juveniles en comparación con los tratamientos sin combinación, además, requirió menor cantidad del extracto. Se pudo observar un efecto potencializador como producto de la combinación de las NP's de dióxido de silicio con el extracto de *C. ensiformis*, el cual se puede deber a pequeñas aglomeraciones del extracto, ya que durante los experimentos se observaron formaciones gelatinosas. Se concluye que la aplicación solo del extracto no causó efectos ovicidas significativos, al inhibir la eclosión de juveniles debajo del 30 %. La combinación de las NP's de dióxido de silicio con el extracto presentaron mejores resultados al inhibir el 37 % de la eclosión a una concentración del extracto del 2.5 y 0.08 % de NP's; esto sugiere una potencialización del 10 % en la reducción de la eclosión, además de que las concentraciones requeridas fueron significativamente menores. La modificación de la técnica implementada a temperatura ambiente combinado con las NP's, mostraron efectos ovicidas. Se requieren estudios moleculares y morfométricos para confirmar y sustentar la especie de los nemátodos.

## REFERENCIAS

- Camacho-Escobar MA, Ramos-Ramos DA, Ávila-Serrano NY, Sánchez-Bernal EI, López-Garrido SJ, 2020. The physico-chemical plant defenses and its effect on ruminant feeding. *Terra Latinoam.* 38(2): 443–453. <https://doi.org/10.28940/TERRA.V38I2.629>.
- Cepeda SM, 1995. *Prácticas de Nematología Agrícola* (Primera ed.). México D. F., México: Trillas.
- Cepeda SM, 2016. *Nematología Agrícola*. 2da. reimpresión Ed. Trillas, SA de CV. México, DF. 304 p.
- Cóndor-Golec AF, 2019. *In vitro* study on the nematicidal effect of different plant extracts on *Pratylenchus penetrans* and *Meloidogyne chitwoodi*. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*. Medellín 72(3): 8945–8952. <https://doi.org/10.15446/rfnam.v72n3.76070>.
- Cristóbal-Alejo J, Cetz-Chi JI, Tún-Suárez JM, Moo-Koh FA, Peraza-Luna FA, Candelero-De la Cruz J, 2018. Filtrados fúngicos de *Trichoderma* con actividad nematicida contra *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood. *Revista Protección Vegetal*. 33(3): 1–8. <https://doi.org/10.15446/rfnam.v72n3.76070>.
- El-Habashy D, 2022. Effectiveness of nanoparticles of some plant extracts against root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* on tomato plants. *Journal of Agricultural Science*. 4(2): 46–57. <https://doi.org/10.21608/svuijas.2022.143524.1213>.

- García F, Obando J, Betancourth García C, 2004. Reconocimiento de especies de *Meloidogyne* en tomate de árbol (*Solanum beta-cea*) y lulo (*Solanum quitoense*) en la zona norte del departamento de Nariño. Revista Ciencias Agrícolas 21(1): 28–40. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6191592>.
- Guillén-Andrade H, Escalera-Ordaz AK, Torres-Gurrola G, García-Rodríguez YM, Espinosa García FJ, Tapia-Vargas LM, 2019. Identificación de nuevos metabolitos secundarios en *Persea americana* Miller variedad Drymifolia. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas Vol. Esp. 23. 253–265. <https://doi.org/10.29312/remexca.v0i23.2025>.
- López H, Beltrán M, Ochoa Y, Castro del Ángel E, Cerna E, Delgado J. 2022. Methanolic extract of *Crotalaria longirostrata*: Identification of secondary metabolites and insecticidal effect. Scientia Agropecuaria. 13(1): 71–78. <https://doi.org/10.17268/SCI.AGROPECU.2022.007>
- McClure AM, Kruk HT and Misaghi I. 1973. A method for obtaining quantities of clean *Meloidogyne* eggs. Journal of Nematology 5:230. <chrome-extension://efaidnbmnnnibpajpcglclefindmkaj/https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/instance/2620009/pdf/230.pdf>
- Perry RN, Wharton DA, Clarke AJ, 1982. The structure of the egg-shell of *Globodera rostochiensis* (Nematoda: Tylenchida). International Journal for Parasitology 12(5): 481–485. [https://doi.org/10.1016/0020-7519\(82\)90080-7](https://doi.org/10.1016/0020-7519(82)90080-7)
- 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 y López-Martínez B, 2019. Evaluación del aminoácido L-canavanina en semillas y vegetales de consumo humano. Medicina e Investigación Universidad Autónoma del Estado de México 7(2): 53-58. <https://medicinainvestigacion.uaemex.mx/article/view/18921>.
- Sithole NT, Kulkarni MG, Finnie JF and Van Staden J, 2021. Potential nematicidal properties of plant extracts against *Meloidogyne incognita*. South African Journal of Botany 139(1): 409–417. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.02.014>.
- Shanmuga Priya M and Pandiyan M, 2019. Efficacy of Botanical Extracts on Hatching of *Meloidogyne incognita* Eggs under *in vitro* Study. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. Sci. 8(1): 2664–2668. <https://doi.org/10.20546/ijemas.2019.801.280>.
- Tarjan AC, Esser RP and Chang SL, 1977. An Illustrated Key to Nematodes Found in Fresh Water. Journal Water Pollution Control Federation, 49(11): 2318–2337. <http://www.jstor.org/stable/25039452>.
- Trujillo-Rugamas J, Murgas-Peñate L, Reyes-Orellana H and Sandoval-Sandoval O. 2022. Evaluation of biological, botanical and chemical products green vignette for the control of nematodes in tomato crops (*Solanum lycopersicum* L). Producción Agropecuaria y Desarrollo Sostenible 11(1): 95–117. <https://doi.org/10.5377/payds.v11i1.15221>.
- Waweru BW, Pili NN, Wetiba WM, Dorcas L, Koske M, Ramkat R and Kiprop A. 2022. Control of *Meloidogyne incognita* and *Pratylenchus zae* using *Embelia schimperi* extracts. Tropical and Subtropical Agroecosystems 25(2): 1–11. <https://doi.org/10.56369/tsaes.4059>