

In vitro* nematocidal activity of the *Pleurotus djamor* PdR-2 fraction against J2 of *Meloidogyne enterolobii

Actividad nematocida *in vitro* de la fracción PdR-2 de *Pleurotus djamor* contra J2 *Meloidogyne enterolobii*

Olga Gómez-Rodríguez, Fitopatología, Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Km. 36.5 Carretera México-Texcoco, C.P. 56230, Texcoco, Estado de México, México; **Jesús Antonio Pineda-Alegría**, ¹Unidad de Helminología, CENID-Salud Animal e Inocuidad, INIFAP, Carretera Federal Cuernavaca-Cuautla. No. 8534, C. P. 62550, Jiutepec, Morelos, México; ¹**Gloría Sarahi Castañeda-Ramírez**; **Manasés González-Cortazar**, Centro de Investigación Biomédica del Sur, Instituto Mexicano del Seguro Social. Argentina No. 1. Col. Centro. C.P. 62790, Xochitepec, Morelos, México; **José E. Sánchez**, El Colegio de la Frontera Sur, carretera al Antiguo Aeropuerto km. 2.5 C.P. 30700, Tapachula, Chiapas, México; ¹**Liliana Aguilar-Marcelino***

*Corresponding author: aguilar.liliana@inifap.gob.mx

Received: February 10, 2022.

Accepted: April 15, 2022.

Gómez-Rodríguez O, Pineda-Alegría JA, Castañeda-Ramírez GS, González-Cortazar M, Sánchez JE and Aguilar-Marcelino L. 2022. *In vitro* nematocidal activity of the *Pleurotus djamor* PdR-2 fraction against J2 of *Meloidogyne enterolobii*. Mexican Journal of Phytopathology 40(2): 254-262.

DOI: <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2202-2>

Primera publicación DOI: 26 de Abril, 2022.

First DOI publication: April 26, 2022.

Abstract. Recently, the root-knot nematode *Meloidogyne enterolobii* have generated important economic losses (65%) in worldwide agriculture. In the present study, the nematocidal activity of the PdR-2 fraction of *Pleurotus djamor* was evaluated against the second instar juvenile (J2) of *M. enterolobii*. Different concentrations of the PdR-2 fraction (0.039, 0.078, 0.156, 0.132, 0.625, and 1.25 mg mL⁻¹) were evaluated, as well as the respective control groups (water and Levamisole,

Resumen. Recientemente, el nematodo agallador *Meloidogyne enterolobii* ha generado importantes pérdidas económicas (65%) en la agricultura a nivel mundial. En el presente estudio se evaluó la actividad nematocida de la fracción PdR-2 de *Pleurotus djamor* contra juveniles del segundo estadio (J2) de *M. enterolobii*. Se evaluaron diferentes concentraciones de la fracción PdR-2 (0.039, 0.078, 0.156, 0.132, 0.625 y 1.25 mg mL⁻¹), así como los respectivos grupos de control (agua y Levamisol, 5 mg mL⁻¹) en un volumen de 100 µL (n=4). Los J2 fueron expuestos durante 24 h y posteriormente cuantificados, y se estimó el porcentaje de mortalidad. Los datos se analizaron mediante un análisis de varianza y una comparación de medias con la prueba de Tukey (p<0,05). La fracción PdR-2 a concentraciones de 0.132, 0.625 y 1.25 mg mL⁻¹ fue significativamente igual con respecto a la aplicación de Levamisol, con una mortalidad de 87.6, 84.5 y 86.3%, respectivamente. En la concentración más baja (0.039 mg mL⁻¹) se registró una mortalidad del 40.3%, mientras que en la concentración

5 mg mL⁻¹) in a volume of 100 µL (n=4). J2s were exposed for 24 h and subsequently quantified, and the percentage of mortality was estimated. Data were analyzed by analysis of variance with the general linear model and a comparison of means with Tukey's test ($p < 0.05$). The PdR-2 fraction at concentrations of 0.132, 0.625, and 1.25 mg mL⁻¹ were significantly equal with respect to Levamisole application, showing a mortality of 87.6, 84.5, and 86.3%, respectively. At the lowest concentration (0.039 mg mL⁻¹), 40.3% mortality was recorded, whereas 86% was recorded at the highest concentration evaluated (1.25 mg mL⁻¹). The PdR-2 fraction of *P. djamor* had nematocidal activity against J2s of *M. enterolobii*.

Key words: root-knot nematode, Edible mushroom, Chemical fraction, Alternative control

Plant-parasitic nematodes of the genus *Meloidogyne* cause significant economic losses worldwide (Abd-Elgawad and Askary, 2015). One hundred species of the genus *Meloidogyne* that parasitize vascular plants have been described (Moens *et al.*, 2009). *M. incognita* is one of the most widely distributed species, followed by *M. javanica*, *M. arenaria*, and *M. hapla* (Carrillo-Fasio *et al.*, 2019).

However, *M. enterolobii* (= *M. mayaguensis*) has become one of the most important species worldwide in recent decades because of its high aggressiveness (Castagnone-Sereno, 2012), its reproductive potential, wide geographic distribution, large host range, including both herbaceous and woody plants, and its ability to establish on plants carrying resistance genes to other *Meloidogyne* spp., such as some genotypes of tomato (*Mi-1*), potato (*Mh*), soybean (*Mir1*), and chili bell pepper (*N* and *Tabasco*) (Castagnone-Sereno, 2012). *M. enterolobii* has been reported

más alta (1.25 mg mL⁻¹) se registró un 86%. La fracción PdR-2 de *P. djamor* tuvo actividad nematocida contra los J2 de *M. enterolobii*.

Palabras clave: Nematodo agallador, hongo comestible, fracción química, alternativa de control

Los nemátodos del género *Meloidogyne*, parásitos de plantas, causan pérdidas económicas significativas a nivel mundial (Abd-Elgawad y Askary, 2015). Se han descrito cien especies del género *Meloidogyne* que parasitan plantas vasculares (Moens *et al.*, 2009). *M. incognita* es una de las especies con la más amplia distribución, seguida de *M. javanica*, *M. arenaria*, y *M. hapla* (Carrillo-Fasio *et al.*, 2019).

Sin embargo, *M. enterolobii* (= *M. mayaguensis*) se ha vuelto una de las especies más importantes del mundo en las últimas décadas debido a su gran agresividad (Castagnone-Sereno, 2012), su potencial reproductivo, su amplia distribución geográfica, su gran rango de hospedantes que incluye tanto a plantas herbáceas como leñosas, y su habilidad de establecerse en plantas con genes de resistencia a otras especies de *Meloidogyne* spp., como algunos genotipos del tomate (*Mi-1*), papa (*Mh*), soya (*Mir1*) y pimiento morrón (*N* and *Tabasco*) (Castagnone-Sereno, 2012). *M. enterolobii* ha sido reportado en África, Europa, Estados Unidos, Centroamérica y Sudamérica (Castagnone-Sereno, 2012; Moens *et al.*, 2009). Recientemente, en México, se reportó parasitando sandía (*Citrullus lanatus*) en Veracruz y chile (*Capsicum annuum*) en Sinaloa (Ramirez-Suarez *et al.*, 2014; Villar-Luna *et al.*, 2016). En los estados de Sinaloa y Baja California Sur, *M. enterolobii* prevalece sobre *M. incognita* (Carrillo-Fasio *et al.*, 2019; Romero *et al.*, 2019).

El manejo de *Meloidogyne* spp. se ha enfocado, sobre todo, en el control químico, la biofumigación

in Africa, Europe, the United States of America, Central America, and South America (Castagnone-Sereno, 2012; Moens *et al.*, 2009). Recently, in Mexico, it was reported parasitizing watermelon (*Citrullus lanatus*) in the state of Veracruz and chilli (*Capsicum annuum*) in Sinaloa (Ramirez-Suarez *et al.*, 2014; Villar-Luna *et al.*, 2016). In the states of Sinaloa and Baja California Sur, *M. enterolobii* is more prevalent than *M. incognita* (Carrillo-Fasio *et al.*, 2019; Romero *et al.*, 2019).

Management of *Meloidogyne* spp. has focused mainly on chemical control, soil biofumigation, amendments, and resistant varieties (Cid del Prado-Vera *et al.*, 2018). However, these control methods have not been sufficient for *M. enterolobii* given the intrinsic characteristics of its biology. Therefore, it is important to continue searching for other management alternatives for this nematode species. One of the alternatives is the use of nematocidal compounds found in the environment (Akhtar and Malik, 2000). On the other hand, one of the sustainable alternatives is the use of endophytic bacteria such as *Serratia ureilytica*, which has been evaluated *in vitro* against *Nacobbus aberrans* (J2) and in infected chilli plants, obtaining encouraging results (Wong *et al.*, 2021).

These types of compounds with nematocidal activity have been reported in mushrooms of the genus *Pleurotus* (Barron and Thorn, 1987), in addition to having the ability to colonize and degrade a great variety of lignocellulosic residues and high medicinal and nutritional value (Cohen *et al.*, 2002). A toxin was identified in this genus of fungi as trans-2-decenedioic acid, with a nematocidal effect against *Panagrellus redivivus* (Kwok *et al.*, 1992). There have also been studies with activity against phytoparasites (Castañeda-Ramírez *et al.*, 2020). Furthermore, Heydari *et al.* (2006) reported the presence of a toxin in five *Pleurotus* spp. in water agar with an effect against *M. javanica* (J2).

del suelo, enmiendas y variedades resistentes (Cid del Prado-Vera *et al.*, 2018). Sin embargo, estos métodos de control no han sido suficientes para *M. enterolobii*, dadas las características intrínsecas de su biología. Por lo tanto, es importante seguir buscando otras alternativas de manejo para esta especie de nematodo. Una de las alternativas es el uso de compuestos nematocidas que se encuentran en el ambiente (Akhtar y Malik, 2000). Por otra parte, una de las alternativas sustentables es el uso de bacterias endófitas tales como *Serratia ureilytica*, que ha sido evaluada *in vitro* contra *Nacobbus aberrans* (J2) y en plantas de chile infectadas, con resultados alentadores (Wong *et al.*, 2021).

Estos tipos de compuestos con actividad nematocida se han reportado en hongos del género *Pleurotus* (Barron y Thorn, 1987), además de tener la habilidad de colonizar y degradar una gran variedad de residuos lignocelulósicos y altos valores medicinales y nutritivos (Cohen *et al.*, 2002). Una toxina fue identificada en este género de hongos como ácido trans-2-decenedioico, con efectos nematocidas contra *Panagrellus redivivus* (Kwok *et al.*, 1992). También existen estudios con actividad contra fitoparásitos (Castañeda-Ramírez *et al.*, 2020). Además, Heydari *et al.* (2006) reportaron la presencia de una toxina en cinco especies de *Pleurotus* spp. con un efecto contra *M. javanica* (J2) en agua agar. Asimismo, la actividad proteolítica de *P. ostreatus* ha sido reportada en el nematodo de vida libre *Panagrellus* sp. (Genier *et al.*, 2015).

Además, se le ha atribuido propiedades anti-parasíticas, principalmente cestocidas (Samsam-Shariat *et al.*, 1994) y nematocidas en el área del ganado (Pineda-Alegría *et al.*, 2017). Sin embargo, en el área agrícola es importante realizar estudios que contribuyan al desarrollo de bionemáticas naturales con base en hongos comestibles. La fracción PdR-2 del hongo comestible *P. djamor* ha sido reportado con actividad nematocida en larvas infecciosas

Likewise, the proteolytic activity of *P. ostreatus* is reported on the free-living nematode *Panagrellus* sp. (Genier *et al.*, 2015).

Additionally, it has been attributed to antiparasitic properties, mainly cestocidal (Samsam-Shariat *et al.*, 1994) and nematocidal in the livestock area (Pineda-Alegría *et al.*, 2017); however, in the agricultural area, it is important to conduct studies that contribute to the development of natural bionematicides based on edible fungi. The PdR-2 fraction of the edible mushroom *P. djamor* has been previously reported with nematocidal activity on infective larvae (L3) of *Haemonchus contortus* *in vitro* studies (González-Cortazar *et al.*, 2020). For this reason, the nematocidal activity of the PdR-2 fraction of *P. djamor* against J2s of *M. enterolobii* was evaluated in the present study.

The present study was carried out at the Helminthology Laboratory of the National Center for Disciplinary Research in Animal Health and Safety (CENID-SAI) of the National Institute of Forestry, Agriculture, and Livestock Research (INIFAP), located in Jiutepec, Morelos, Mexico. J2 were obtained from the root-knot of tomato cv. 'Rio Grande' (monoxenic crop, population of Ahome, Sinaloa) at the Postgraduate College, Montecillo Campus, Texcoco. Eggs were extracted according to the methodology of Vrain (1977) and incubated at 28±1 °C in Petri dishes with sterile distilled water to obtain J2.

Obtaining the PdR-2 fraction of *P. djamor*.

The PdR-2 fraction was obtained from the hydroalcoholic extract (ethanol-water 7:3) of *P. djamor* strain ECS-0127 basidiomata. The extract (30 g) was adsorbed on 40 g of normal phase silica gel (70-230 mesh, Merck) and placed on a pre-packed glass chromatographic column. The elution system was performed with dichloromethane:methanol with the following system changes: 100, 90:10, 70:30, 50:50, and

(L3) en estudios *in vitro* de *Haemonchus contortus* (González-Cortazar *et al.*, 2020). Por este motivo, el presente estudio evaluó la actividad nematocida de la fracción PdR-2 de *P. djamor* contra J2s de *M. enterolobii*.

El presente estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de Helminthología del Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad (CENID-SAI) del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), ubicado en Jiutepec, Morelos, México. Se obtuvieron los J2 de las agallas del tomate cv. 'Rio Grande' (cultivo monoxeno, población de Ahome, Sinaloa) en el Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Texcoco. Se extrajeron huevos siguiendo la metodología de Vrain (1977) y se incubaron a 28±1 °C en cajas Petri con agua estéril destilada para obtener los J2.

Obtención de la fracción PdR-2 de *P. djamor*. Se obtuvo la fracción PdR-2 del extracto hidroalcohólico (etanol-agua 7:3) de *P. djamor* cepa ECS-0127 basidiomata. El extracto (30 g) fue adsorbido en 40 g de gel de silicio en fase normal (malla 70-230, Merck) y colocado en una columna cromatográfica de vidrio pre-ensugada. El sistema de elución se llevó a cabo con diclorometano:metanol con los siguientes cambios al sistema: 100, 90:10, 70:30, 50:50 y 100%. Se recolectaron muestras que fueron concentradas en un rotavapor. Las fracciones se analizaron por cromatografía en capa fina y se juntaron de acuerdo a su factor de retención y sistema de elución. De este fraccionamiento se obtuvieron 22 fracciones, de las que las fracciones 11 a 18 formaron la fracción PdR-2 (González-Cortazar *et al.*, 2020).

Evaluación *in vitro* de la fracción PdR-2 de *P. djamor* contra J2 de *M. enterolobii*. Diferentes concentraciones de la fracción PdR-2 y 100 especímenes J2 de *M. enterolobii* se colocaron en una

100%. Samples were collected and concentrated in a rotary evaporator. The fractions were analyzed by thin layer chromatography and pooled according to their retention factor and elution system. From this fractionation, 22 fractions were obtained, of which fractions 11 to 18 formed the PdR-2 fraction (González-Cortazar *et al.*, 2020).

***In vitro* evaluation of the PdR-2 fraction of *P. djamora* against J2 of *M. enterolobii*.** Different concentrations of the PdR-2 fraction and 100 J2 specimens of *M. enterolobii* were placed in a 96-well plate. The final concentrations of the fraction were 0.039, 0.078, 0.156, 0.132, 0.625, and 1.25 mg mL⁻¹ and controls, which were distilled water and Levamisole (commercial anthelmintic) 5 mg mL⁻¹ in a volume of 100 µL (n=4). The J2 were exposed for 24 h, and after the exposure time, 10 aliquots of 10 µL were taken from each repetition, and the number of dead and alive individuals were counted. The number of dead individuals was used to calculate the percentage of mortality using the following formula:

$$\text{larval mortality} = \frac{\text{dead nematodes}}{\text{dead nematodes} + \text{live nematodes}} \times 100$$

Data were analyzed by analysis of variance (ANOVA) with the general linear model and a comparison of means with Tukey's test (*p ≤ 0.05). STATGRAPHICS Centurion XV, V. 15.2.06 software was used for statistical procedures.

The mortality of *M. enterolobii* J2 is presented in Table 1. No dead individuals were recorded when distilled water was used, and the J2 presented movement as shown in Figure 1A; however, with the anthelmintic (Levamisole), 100% mortality was recorded at 24 h of exposure (Figure 1B) with statistically significant differences (*p ≤ 0.05) with respect to the lowest concentrations of

microplaca con 96 pocillos. Las concentraciones finales de la fracción fueron de 0.039, 0.078, 0.156, 0.132, 0.625 y 1.25 mg mL⁻¹ y los controles, que consistían en agua destilada y Levamisol (antihelmíntico comercial 5 mg mL⁻¹) en un volumen de 100 µL (n=4). Los J2 fueron expuestos por 24 h, después de lo cual se tomaron 10 alicuotas de 10 µL de cada repetición, y se contabilizó el número de individuos muertos y vivos. El número de individuos muertos se usó para calcular el porcentaje de mortalidad con la siguiente fórmula:

$$(\%) \text{ mortalidad de nematodos} = \frac{\text{nematodos muertos}}{\text{nematodos muertos} + \text{nematodos vivos}} \times 100$$

Los datos se analizaron con un análisis de varianza (ANDEVA) con el modelo lineal general y una comparación de medias con la prueba de Tukey (*p ≤ 0.05). El software STATGRAPHICS Centurion XV, V. 15.2.06 se usó para los procedimientos estadísticos.

La mortalidad de los J2 de *M. enterolobii* aparece en el Cuadro 1. No se registraron individuos muertos al usar agua destilada y presentaron movimiento, tal como lo ilustra la Figura 1A. No obstante, con el antihelmíntico (Levamisol) se registró una mortalidad de 100% tras 24 h de exposición (Figura 1B) con diferencias estadísticamente significativas (*p ≤ 0.05) con respecto a las concentraciones más bajas de la fracción PdR-2 (0.039, 0.078 y 0.156 mg mL⁻¹) y agua. La mortalidad para las concentraciones más bajas fueron de 40.3 a 65%. Por otro lado, las concentraciones de 0.156, 0.132, 0.625 y 1.25 mg mL⁻¹ de la fracción PdR-2 presentaron porcentajes de mortalidad más altos (76.8–86.3%) y éstos fueron significativamente diferentes al control de agua (*P ≤ 0.05).

Investigaciones recientes para el control de *M. enterolobii* se ha concentrado en la búsqueda de

Table 1. Mortality of J2 of *Meloidogyne enterolobii* caused by the *Pleurotus djamor* PdR-2 fraction at 24 h after exposure.**Cuadro 1. Mortalidad de J2 de *Meloidogyne enterolobii* causada por la fracción PdR-2 de *Pleurotus djamor* 24 h después de la exposición.**

Treatment	Concentration (mg mL ⁻¹)	Mortality percentage (%) ^{y,z}
H ₂ O	-	0±0 ^a
Levamisole	5	100±0 ^c
	0.039	40.3±5.6 ^b
	0.078	65.1±5.9 ^c
	0.156	76.9±7.1 ^{cd}
PdR2 Fraction	0.132	87.6±3.7 ^{de}
	0.625	84.6±4.7 ^{de}
	1.25	86.3±10.5 ^{de}

^yData represent the mean ± standard deviation of four replicates. / ^yDatos representan la media ± desviación estándar de cuatro repeticiones.

^zThe same letters in a column indicate that the value does not differ statistically, according to Tukey's test (*P≤ 0.05); n = 4. / ^zLas mismas letras en una columna indican que el valor no difiere estadísticamente, según la prueba de Tukey (*P≤ 0.05); n = 4.



Figure 1. J2 of *Meloidogyne enterolobii* exposed to H₂O and levamisole for 24 h, observed under light microscopy (20X). A) J2 exposed to H₂O and B) J2 exposed to levamisole.

Figura 1. J2 de *Meloidogyne enterolobii* expuesto a H₂O y levamisol por 24 h, observados bajo un microscopio óptico (20X). A) J2 expuesto a H₂O y B) J2 expuesto a levamisol.

the PdR-2 fraction (0.039, 0.078, and 0.156 mg mL⁻¹) and water. The mortality for the lowest concentrations were 40.3 to 65%. On the other hand, concentrations of 0.156, 0.132, 0.625, and

cultivos resistentes a este fitonemátodo, dado que esta especie puede reproducirse en diferentes cultivos que poseen los genes de resistencia disponibles en la actualidad para las especies principales

1.25 mg mL⁻¹ of the PdR-2 fraction showed higher mortality percentages (76.8–86.3%), and these were significantly different from the water control (*P ≤ 0.05).

Currently, research carried out for the control of *M. enterolobii* has focused on the search for crops resistant to this phytonematode, given that this species is able to reproduce in different crops that possess the resistance genes currently available for the main species of *Meloidogyne*. Some of these genes are *Mel-Me6*, *Mech1* and *Mech2*; however, it has been reported that *M. enterolobii* can infect plants with these *Meloidogyne*-resistant genes (Carrillo-Fasio *et al.*, 2020; Philbrick *et al.*, 2020). Therefore, another sustainable alternative for the control of this nematode could be the use of compounds isolated from edible mushrooms.

Several species of edible mushrooms belonging to the genus *Pleurotus* have been shown to possess nematocidal properties; such studies have been conducted mainly in the livestock area using gastrointestinal nematode models of small ruminants, reporting a new line of research to be addressed to demonstrate their effectiveness in the sustainable control of these parasites (Castañeda-Ramírez *et al.*, 2020). The nematocidal activity is attributed to secondary metabolites, such as fatty acids, isolated from *P. djamor* species (e.g., linoleic acid) (Pineda-Alegria *et al.*, 2017). Other secondary metabolites, such as polyols, trehalose, mannitol, squalene, stearic acid, and β-sitosterol, have been isolated from *P. eryngii* (Cruz-Arévalo *et al.*, 2020). Regarding the PdR-2 fraction obtained from *P. djamor* (ECS-0127) was reported in a study by González-Cortázar *et al.* (2020), 100% lethal nematocidal activity was reported against eggs and infective larvae (L3) of *H. contortus* in *in vitro* experiments. Similarly, *in vivo* evaluation of the PdR-2 fraction reached a reduction of up to 80% of the *H. contortus* parasite load using as a study

de *Meloidogyne*. Algunos de estos genes son *Mel-Me6*, *Mech1* y *Mech2*. Sin embargo, se ha reportado que *M. enterolobii* puede infectar a plantas con estos genes resistentes a *Meloidogyne* (Carrillo-Fasio *et al.*, 2020; Philbrick *et al.*, 2020). Por lo tanto, otra alternativa sustentable para el control de este nemátodo podría ser el uso de compuestos aislados de hongos comestibles.

Varias especies de hongos comestibles pertenecientes al género *Pleurotus* han demostrado tener propiedades nematocidas. Tales estudios han sido desarrollados principalmente en el área ganadera, con el uso de modelos de nemátodos gastrointestinales de rumiantes pequeños, con lo que se reporta una nueva línea de investigación a ser tratada para demostrar su efectividad en el control sustentable de estos parásitos (Castañeda-Ramírez *et al.*, 2020). La actividad nematocida se atribuye a metabolitos secundarios tales como ácidos grasos aislados de especies de *P. djamor* (p. ej., ácido linoleico) (Pineda-Alegria *et al.*, 2017). Otros metabolitos secundarios, tales como polioles, trehalosa, manitol, escualeno, ácido esteárico y β-sitosterol, han sido aislados de *P. eryngii* (Cruz-Arévalo *et al.*, 2020). Con respecto a la fracción de PdR-2 obtenida de *P. djamor* (ECS-0127) en un estudio de González-Cortázar *et al.* (2020), se reportó una actividad nematocida de 100% contra huevos y larvas infecciosas (L3) de *H. contortus* en experimentos *in vitro*. De manera similar, una evaluación *in vivo* de la fracción PdR-2 alcanzó una reducción de hasta 80% de la carga parasitaria de *H. contortus*, usando como modelo de estudio el jерbo *Meriones unguiculatus*. Por último, el compuesto responsable de la actividad nematocida de la fracción PdR-2 se identificó como alitol y un terpeno en proporción 9:1 por análisis espectroscópico de protón (¹H) y carbono (¹³C) de resonancia magnética nuclear (RMN).

La mayoría de los trabajos de investigación en los que se ha explorado el uso de los metabolitos

model the gerbil *Meriones unguiculatus*. Finally, the compound responsible for the nematocidal activity of the PdR-2 fraction was identified as allitol and a terpene in a 9:1 ratio by nuclear magnetic resonance (NMR) proton (^1H) and carbon (^{13}C) spectroscopic analysis.

Most of the research works where the use of *Pleurotus* mushroom metabolites has been explored are focused on *Meloidogyne* spp., such as *M. javanica* (Heydari *et al.*, 2006; Oka, 2001); however, for the recently reported species in Mexico, *M. enterolobii*, research for its management is required. Therefore, our research provides relevant information. At a concentration of 0.132 mg mL^{-1} , mortality percentages higher than 84% were obtained on J2s of *M. enterolobii*. Similar results were reported by Li *et al.* (2007), who isolated three metabolites from *P. ferulae* extracts with a nematocidal effect on *Bursaphelenchus xylophilus* and *Panagrellus redivivus*. Of these, only the compound cheimonophyllon E registered 84% mortality on *B. xylophilus* at 72 h, while the PdR-2 fraction evaluated in this work registered a similar percentage at 24 h. Therefore, The PdR2 fraction showed nematocidal effect against J2s larvae of *M. enterolobii* and could potentially be used for the sustainable control of nematodes of agricultural importance.

ACKNOWLEDGMENTS

The present research article was partial financed by the National Problems project, National Council of Science and Technology (CONACYT in Spanish), project number 9342634372.

LITERATURE CITED

Abd-Elgawad MMM and Askary TH. 2015. Impact of phytoneematodes on agriculture economy. pp. 3–49. In: Askary TH and Martinelli PRP (Eds.). Biocontrol agents of phytoneematodes. Wallingford, UK: CABI. <https://doi.org/10.1079/9781780643755.0003>.

del hongo *Pleurotus* se han concentrado en *Meloidogyne* spp., tales como *M. javanica* (Heydari *et al.*, 2006; Oka, 2001). Por otra parte, para la especie reportada de manera reciente en México, *M. enterolobii*, se requiere investigación para su manejo. Por lo tanto, la presente investigación brinda información relevante. A una concentración de 0.132 mg mL^{-1} , los porcentajes de mortalidad mayores a 84% se obtuvieron en J2s de *M. enterolobii*. Resultados similares fueron reportados por Li *et al.* (2007), quienes aislaron tres metabolitos de extractos de *P. ferulae* con un efecto nematocida sobre *Bursaphelenchus xylophilus* y *Panagrellus redivivus*. De éstos, solo cheimonophyllon E registró una mortalidad de 84% sobre *B. xylophilus* a las 72 h, mientras que la fracción evaluada en este trabajo registró un porcentaje similar a las 24 h. Por lo tanto, la fracción PdR2 podría ser usada para el control sustentable de nematodos de importancia agrícola, ya que presentó un efecto nematocida sobre juveniles del segundo estadio de *M. enterolobii*.

AGRADECIMIENTOS

La presente investigación fue parcialmente financiada por el proyecto Problemas Nacionales, Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), número de proyecto 9342634372.

~~~~~ Fin de la versión en Español ~~~~~

Akhtar M and Malik A. 2000. Roles of organic soil amendments and soil organisms in the biological control of plant-parasitic nematodes: a review. *Bioresource Technology* 74:35–47. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(99\)00154-6](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(99)00154-6)  
Barron GL and Thorn RG. 1987. Destruction of nematodes by species of *Pleurotus*. *Canadian Journal of Botany* 65:774–778. <https://doi.org/10.1139/b87-103>  
Carrillo-Fasio JA, Martínez-Gallardo JA, Allende-Molar R, Velarde-Félix S, Romero-Higareda CE and Retes-Manjarrez JE. 2019. Distribution of *Meloidogyne* species



- (Tylenchida: Meloidogynidae) in tomato crop in Sinaloa, Mexico. *Nematropica* 49:71–82. <https://journals.flvc.org/nematropica/article/view/115619>
- Carrillo-Fasio JA, Martínez-Gallardo JA, Ayala-Tafoya F, López-Orona CA, Allende-Molar R and Retes-Manjarrez JE. 2020. Screening for resistance to *Meloidogyne enterolobii* in *Capsicum annuum* landraces from Mexico. *Plant Disease* 104(3): 817–822. <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-19-0718-RE>
- Castagnone-Sereno P. 2012. *Meloidogyne enterolobii* (= *M. mayaguensis*): profile of an emerging, highly pathogenic, root-knot nematode species. *Nematology* 14: 133–138. <https://doi.org/10.1163/156854111X601650>
- Castañeda-Ramírez GS, Torres-Acosta FJ, Sánchez JE, Mendoza de Gives P, González-Cortazar M, Zamilpa A, Al-Ani LKT, Sandoval-Castro C, Soares FEF and Aguilar-Marcelino L. 2020. Biotechnological use of edible mushrooms bio-products for controlling plant and animal parasitic nematodes. *Biomed Research International* 6078917: 1–12. <https://doi.org/10.1155/2020/6078917>
- Cid del Prado-Vera I, Franco-Navarro F and Godínez-Vidal D. 2018. Plant parasitic nematodes and management strategies of major crops in Mexico. pp. 31–68. *In: Subbotin SA and Chitambar JJ (Eds.), Plant Parasitic Nematodes in Sustainable Agriculture of North America, sustainability in plant and crop protection. Switzerland: Springer Nature.* [https://doi.org/10.1007/978-3-319-99585-4\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-319-99585-4_2)
- Cohen R, Persky L and Hadar Y. 2002. Biotechnological applications and potential of wood-degrading mushrooms of the genus *Pleurotus*. *Applied Microbiology and Biotechnology* 58(5): 582–94. <https://doi.org/10.1007/s00253-002-0930-y>
- Cruz-Arévalo J, Sánchez JE, González-Cortázar M, Zamilpa A, Andrade-Gallegos RH, Mendoza de Gives P and Aguilar-Marcelino L. 2020. Chemical composition of an anthelmintic fraction of *Pleurotus eryngii* against eggs and infective Larvae (L3) of *Haemonchus contortus*. *Biomed Research International* 4138950: 1–8. <https://doi.org/10.1155/2020/4138950>
- Genier HLA, de Freitas SFE, de Queiroz JH, de Souza GA, Araújo JV, Braga FR, Pinheiro IR and Kasuya MCM. 2015. Activity of the fungus *Pleurotus ostreatus* and of its proteases on *Panagrellus* sp. larvae. *African Journal of Biotechnology* 14(17): 1496–1503. <https://doi.org/10.5897/AJB2015.14447>
- González-Cortazar M, Sánchez JE, Huicochea-Medina M, Hernández-Velázquez VM, Mendoza-de-Gives P, Zamilpa A, López-Arellano ME, Pineda-Alegria JA and Aguilar-Marcelino L. 2020. *In vitro* and *in vivo* nematicide effect of *Pleurotus djamor* fruiting bodies against *Haemonchus contortus*. *Journal of Medicinal Food* 24(3): 310-318. <https://doi.org/10.1089/jmf.2020.0054>
- Heydari R, Pourjarn E and Mohammadi EG. 2006. Antagonistic effect of some species of *Pleurotus* on the root-knot nematode, *Meloidogyne javanica* *in vitro*. *Plant Pathology Journal* 5(2):v173–177. <https://doi.org/10.3923/ppj.2006.173.177>
- Kwok OCH, Plattner R, Weisleder D and Wichlow DT. 1992. A nematicidal toxin from *Pleurotus ostreatus* NRRL 3526. *Journal Chemical Ecology* 18: 127–136. <https://doi.org/10.1007/BF00993748>
- Li G, Wang X, Lijun L, Li L, Huang R and Zhang K. 2007. Nematicidal metabolites from the fungus *Pleurotus ferulae* Lenzi. *Annals of Microbiology* 57(4):v527–529. <https://doi.org/10.1007/BF03175350>
- Moens M, Perry RN and Starr JL. 2009. *Meloidogyne* Species – a diverse group of novel and important plant parasites. *In: Perry RN, Moens M and Starr JL (Eds.). Root-knot nematodes (pp.1-17).* Wallingford, UK: CAB International. <https://www.cabi.org/isc/FullTextPDF/2009/20093330181.pdf>
- Oka Y. 2001. Nematicidal activity of essential oil components against the root-knot nematode *Meloidogyne javanica*. *Nematology* 3:159–164.
- Philbrick AN, Adhikari TB, Louws FJ and Gorny AM. 2020. *Meloidogyne enterolobii*, a major threat to tomato production: current status and future prospects for its management. *Frontiers in Plant Science* 11: 606395. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.606395>
- Pineda-Alegria JA, Sánchez-Vázquez JE, González-Cortazar M, Zamilpa A, López-Arellano ME, Cuevas-Padilla EJ, Mendoza-de-Gives P and Aguilar-Marcelino L. 2017. The edible mushroom *Pleurotus djamor* produces metabolites with lethal activity against the parasitic nematode *Haemonchus contortus*. *Journal of Medicinal Food* 20: 1184–1192. <https://doi.org/10.1089/jmf.2017.0031>
- Ramirez-Suarez A, Rosas-Hernandez L, Alcasio-Rangel S and Powers TO. 2014. First report of the root-knot nematode *Meloidogyne enterolobii* parasitizing watermelon from Veracruz, México. *Plant Disease* 98(3): 428. <https://doi.org/10.1094/PDIS-06-13-0636-PDN>
- Romero M, Macías MG, Carrillo FJA, Rojas CM, Hernández RJS and Duarte OJD. 2019. Identificación y distribución de especies de *Meloidogyne* en Baja California Sur, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 10(2): 337–349. <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i2.1603>
- Samsam-Shariat H, Farid H and Kavianpour M. 1994. A study of the anthelmintic activity of aqueous extract of *Pleurotus eryngii* on *Syphacia obvelata* and *Hymenolepis nana*. *Journal of Science, Islamic Republic of Iran* 5:19–22. [https://jsciences.ut.ac.ir/article\\_31372.html](https://jsciences.ut.ac.ir/article_31372.html)
- Villar-Luna E, Gómez-Rodríguez O, Rojas-Martínez RI and Zavaleta-Mejía E. 2016. Presence of *Meloidogyne enterolobii* on jalapeño pepper (*Capsicum annuum* L.) in Sinaloa, Mexico. *Helminthologia* 53: 155–160. <https://doi.org/10.1515/helmin-2016-0001>
- Vrain TC. 1977. A technique for the collection of larvae of *Meloidogyne* spp. and a comparison of eggs and larvae as inocula. *Journal of Nematology* 9: 249–251. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2620246/>
- Wong-Villarreal A, Méndez-Santiago EW, Gómez-Rodríguez O, Aguilar-Marcelino L, García DC, García-Maldonado JQ, Hernández-Velázquez VM, Yañez-Ocampo G, Espinosa-Zaragoza S, I Ramírez-González S, Sanzón-Gómez D. 2021. Nematicidal Activity of the Endophyte *Serratia ureilytica* against *Nacobbus aberrans* in Chili Plants (*Capsicum annuum* L.) and Identification of Genes Related to Biological Control. *Plants (Basel)*. 10(12): 2655. <https://doi.org/10.3390/plants10122655>.