



Rivar

REVISTA IBEROAMERICANA DE
VITICULTURA, AGROINDUSTRIA
Y RURALIDAD

Editada por el Instituto
de Estudios Avanzados de la
Universidad de Santiago de Chile

TOXICIDAD DEL PURÍN DE ORTIGA SOBRE DOS NEMATODOS DE VIDA LIBRE

Toxicity of Nettle Slurry on Two Free Living Nematodes

Toxicidade do esterco de urtiga em dois nematóides de vida livre

Vol. 11, N° 31, 110-121, enero 2024

ISSN 0719-4994

Artículo de investigación

<https://doi.org/10.35588/rivar.v10i31.6173>

Ivana Stoeff Belkenoff

Centro de Investigaciones del Medio Ambiente
La Plata, Argentina

ORCID 0009-0000-1539-9550
ibelkenoff@exactas.unlp.edu.ar;

Augusto Salas

Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria
e Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola
Hurlingham, Argentina

ORCID 0000-0002-8422-0435
salas.augusto@inta.gob.ar

Diego Sauka

Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria
e Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola
Hurlingham, Argentina

ORCID 0000-0002-3866-7180
sauka.diego@inta.gob.ar

María Luján Maydup

Instituto de Fisiología Vegetal
La Plata, Argentina

ORCID 0000-0002-1063-2808
marialujan83@yahoo.com.ar

María Fernanda Achinelly

Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores
La Plata, Argentina

ORCID 0000-0003-2363-6661
fachinelly@cepave.edu.ar

María Leticia Peluso

Centro de Investigaciones del Medio Ambiente
La Plata, Argentina

ORCID 0000-0001-8809-6171
lpeluso@quimica.unlp.edu.ar

Recibido

07 de marzo de 2023

Aceptado

29 de septiembre de 2023

Publicado

Enero de 2024

Artículo científico

Este trabajo fue realizado dentro del proyecto de investigación "Caracterización de la dinámica ambiental y efectos biológicos de plaguicidas y contaminantes emergentes, mediante el uso integral de herramientas fisicoquímicas y ecotoxicológicas aplicadas a zonas agroproductivas". PIP 2452, CONICET, 2022-2024.

Cómo citar

Stoeff Belkenoff, I., Salas, A., Sauka, D., M. Luján Maydup, M., Achinelly, M.F. y Peluso, M.L. (2024). Toxicidad del purín de ortiga sobre dos nematodos de vida libre. *RIVAR*, 11(31), 110-121, <https://doi.org/10.35588/rivar.v10i31.6173>

ABSTRACT

Biopreparations represent an important alternative to the use of synthetic agrochemicals. Among them, nettle slurry (*Urtica* sp.) is used as a biostimulant and in the control of pests and diseases. However, there is no information on its effects on non-target organisms of the agroecosystem. The objective of this work was to study the lethal effects of different dilutions of nettle slurry on the free-living model nematodes *Caenorhabditis elegans* and *Panagrellus redivivus* (key organisms in the soil structure). Five toxicity bioassays were carried out in a liquid medium on *C. elegans* and one on *P. redivivus*. Three nettle slurries with different processing conditions and storage times were used. The slurry proved to have lethal effects on *C. elegans* individuals depending on the dilution of exposure. The information obtained on the ecotoxicity of biopreparations can contribute to the optimization of horticultural practices.

KEYWORDS

nettle slurry, free-living nematodes, ecotoxicity, biopreparation, *Caenorhabditis elegans*.

RESUMEN

Los biopreparados representan una importante alternativa al uso de agroquímicos sintéticos. Entre ellos, el purín de ortiga (*Urtica* sp.) es utilizado como bioestimulante y para el control de plagas y enfermedades, aunque no existe información acerca de sus efectos sobre los organismos no-blanco del agroecosistema. Se plantea como objetivo del trabajo estudiar los efectos letales de diferentes diluciones de purín de ortiga sobre los nematodos modelo de vida libre *Caenorhabditis elegans* y *Panagrellus redivivus* (organismos clave en la estructura edáfica). Se realizaron cinco bioensayos de toxicidad en medio líquido sobre *C. elegans* y uno sobre *P. redivivus*, utilizándose tres purines con distintas condiciones de elaboración y tiempo de almacenamiento. El purín demostró tener efectos letales sobre los individuos de *C. elegans* dependiendo de la dilución de exposición. La información obtenida sobre la ecotoxicidad de los biopreparados puede contribuir a la optimización de las prácticas hortícolas.

PALABRAS CLAVE

purín de ortiga, nematodos de vida libre, ecotoxicidad, biopreparado, *Caenorhabditis elegans*.

RESUMO

Os biopreparados representam uma importante alternativa ao uso de agroquímicos sintéticos. Entre eles, o esterco de urtiga (*Urtica* sp.) é utilizado como bioestimulante e para o controle de pragas e doenças, embora não existe informação dos seus efeitos sobre os organismos não-branco do agroecosistema. Apresenta-se como objetivo do trabalho estudar os efeitos letais de diferentes diluições de esterco de ortiga sobre os nematóides modelo de vida livre *Caenorhabditis elegans* e *Panagrellus redivivus* (organismos chave na estrutura edáfica). Realizaram-se cinco bioensaios de toxicidade em meio líquido sobre *C. elegans* e um sobre *P. redivivus*, utilizando três esterco com distintas condições de elaboração e tempo de armazenamento. O esterco demonstrou ter efeitos letais sobre os indivíduos de *C. elegans* dependendo da diluição de exposição. A informação obtida sobre a ecotoxicidade dos biopreparados pode contribuir à otimização das práticas hortícolas.

PALAVRAS-CHAVE

esterco de urtiga, nematóides de vida livre, ecotoxicidade, biopreparado, *Caenorhabditis elegans*.

Introducción

La modalidad de producción agrícola que predomina actualmente en el mundo se basa en sistemas de creciente tecnificación, con un alto requerimiento de insumos externos costosos. El uso intensivo de agroquímicos trae consecuencias negativas tales como la contaminación del agua y el suelo, efectos adversos sobre especies no-blanco, pérdida de biodiversidad, pérdida de la capacidad productiva del agroecosistema a largo plazo, presencia de residuos de plaguicidas en alimentos y riesgos para la salud humana. Ello se traduce finalmente en un modelo ambientalmente insustentable y socialmente excluyente (Molpeceres et al., 2023).

En este contexto adverso, la agroecología emerge como una alternativa de producción con un enfoque integral que aplica principios tanto ecológicos como sociales al diseño y manejo de agroecosistemas sustentables. Se basa en aprovechar los ciclos, interacciones y equilibrios que se dan naturalmente en los ecosistemas, en beneficio de los cultivos, mejorando la eficiencia y reduciendo el uso de insumos externos. Como resultado se logra incrementar la biodiversidad, restaurar la salud ecológica y reducir los riesgos para los productores y las comunidades (Altieri y Nicholls, 2000). Por último, la agroecología recupera los saberes locales de productores familiares, campesinos e indígenas en búsqueda de una construcción colectiva e inclusiva del conocimiento, las herramientas y los criterios. Esta alternativa ha sido adoptada por una gran cantidad de productores en Argentina (Sarandon y Marasas, 2015).

El cambio de manejo desde un enfoque convencional hacia uno agroecológico implica una transformación en la cual Gliessman et al. (2007) señalan cuatro niveles de transición, siendo el segundo nivel “sustituir prácticas e insumos convencionales por prácticas alternativas sostenibles”. En este marco, el uso de bioinsumos representa una importante alternativa al uso de agroquímicos sintéticos. Dentro de los bioinsumos, los biopreparados son productos de fácil elaboración a partir de materiales de origen vegetal, animal o mineral presentes en la naturaleza, que permiten controlar plagas y enfermedades, aumentar la fertilidad del suelo y/o estimular el crecimiento de las plantas, presentándose como una opción accesible, de bajo costo, biodegradable y que no implica riesgos para la salud (Mamani de Marchese y Filippone, 2018; Price Masalias y Merztal, 2010).

Los biopreparados elaborados a base de ortiga (*Urtica* sp.) mediante diferentes metodologías (purín fermentado, macerado en agua, infusión, hidrolato) son recomendados por su acción bioestimulante vegetal, para el control de plagas (nematodos, pulgones, coleópteros, mosca blanca) y enfermedades fúngicas en diferentes cultivos hortícolas y frutícolas (Lovatto et al., 2016; Maričić et al., 2021; Nasiri et al., 2014; Ortega et al., 2009; Price Masalias y Merztal, 2010). Dentro de estos, el purín de ortiga es un extracto fermentado en presencia de oxígeno, utilizado por productores agroecológicos o en transición en Argentina y particularmente en el Cinturón Hortícola Platense. El tiempo de almacenamiento recomendado para este bio-preparado es de hasta seis meses, y suele aplicarse puro o en distintas diluciones en agua, según criterios de los productores (Price Masalias y Merztal, 2010). Si bien hay algunos trabajos sobre el efecto de distintas diluciones del purín como bioestimulante (Chimento et al., 2019; Domenico, 2019), no se han estudiado los efectos ecotoxicológicos que pueden tener las diferentes concentraciones sobre los organismos no-blanco presentes en el agroecosistema.

Dentro de los organismos no-blanco presentes en la biota edáfica, los nematodos de vida libre tienen un rol importante para las funciones de los suelos, aportando servicios ecosistémicos. Ocupan posiciones clave en las redes tróficas, influyendo en el ciclo de nutrientes y en la depredación de otros organismos, incluidos otros nematodos de importancia fitosanitaria (Salas y Achinelly, 2020, Salas et al., 2021b). La estructura de sus comunidades es, por lo tanto, importante para la producción y sustentabilidad agrícola. Por estas razones, estudiar los efectos de los biopreparados sobre diferentes especies de nematodos de vida libre es relevante para generar información sobre la ecotoxicidad de estos productos. Los nematodos de vida libre *Caenorhabditis elegans* y *Panagrellus redivivus* son especies modelo utilizadas en ensayos debido a su corto ciclo de vida, fácil mantenimiento y alta sensibilidad (Salas et al., 2021a, Salas et al., 2022). En este contexto, se plantea como objetivo del trabajo estudiar los efectos letales de diferentes diluciones de purín de ortiga (*Urtica dioica*) sobre los nematodos modelo de vida libre *C. elegans* y *P. redivivus*, mediante bioensayos de toxicidad en medio líquido, comparando la sensibilidad de dichas especies frente al biopreparado.

Materiales y métodos

Elaboración y caracterización fisicoquímica de los purines de ortiga

Para la realización de los ensayos de toxicidad sobre nematodos se elaboraron purines utilizando plantas de *U. dioica* cosechadas de una granja en Marcos Paz, Provincia de Buenos Aires, Argentina, sin historia de uso de agroquímicos. Los purines fueron preparados en una relación peso en peso de ortiga:agua 1:10. Se colocó la parte aérea de plantas frescas en agua, cortadas en trozos pequeños, y se dejó reposar revolviendo una vez al día. Al momento de observar el cese de la generación de gases, se determinó el fin de la fermentación, proceso que duró entre cuatro y diez días. A continuación se filtró a través de una tela de algodón y se almacenó en un recipiente plástico en oscuridad a temperatura ambiente hasta su utilización en los bioensayos. Se determinó el pH, la conductividad eléctrica y el oxígeno disuelto de los purines de ortiga elaborados utilizando sonda multiparamétrica.

Obtención de nematodos

Los nematodos de vida libre *C. elegans* y *P. redivivus* utilizados en el presente trabajo fueron obtenidos de cepas pertenecientes al Centro de Investigaciones del Medio Ambiente (CIM, CONICET-UNLP) y al Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola (IMyZA, INTA) respectivamente. El cultivo de *C. elegans* fue mantenido en placas con agar NGM inoculadas con *Escherichia coli* y mantenido a 20°C (Stiernagle, 2006). Los ejemplares de *P. redivivus* fueron mantenidos en sustrato fermentado de avena hervida y conservados a 21°C para su posterior utilización (Hayashi y Wharton, 2011).

Bioensayos de toxicidad

Se realizaron cinco bioensayos de toxicidad de purín de ortiga en medio líquido sobre *C. elegans* (Ensayos 1-5) y un ensayo (Ensayo 1*) sobre *P. redivivus*, evaluando el efecto letal de diferentes diluciones del purín. Se utilizaron tres purines con distintas condiciones de elaboración y tiempo de almacenamiento. Para las diluciones del purín y el control negativo se utilizó agua deionada. Las características de los ensayos realizados están detalladas en

Tabla 1. Para el ensayo con *P. redivivus* se utilizaron concentraciones altas de purín de ortiga definidas en función de resultados obtenidos en ensayos preliminares, en los cuales se observaron diferentes valores de mortalidad entre *C. elegans* y *P. redivivus* para iguales concentraciones de purín de ortiga.

Los bioensayos se realizaron siguiendo protocolos estandarizados con modificaciones (Pica Granados, 2008; Sochová et al., 2007). Se utilizaron placas de poliestireno transparente con pocillos de 15 mm de diámetro; en cada pocillo se agregó 1 ml de cada tratamiento correspondiente y luego se transfirieron los nematodos con tres días de vida. Para los ensayos 1, 1* y 2 se realizaron tres repeticiones para cada dilución del purín ensayada, con diez nematodos cada una y para los ensayos 3, 4 y 5 se realizaron cinco repeticiones para cada dilución, con seis nematodos cada una. Luego de 24 horas de incubación a 20°C se determinó la mortalidad, estimada en base a la ausencia completa de movilidad de los nematodos.

Tabla 1. Ensayos de toxicidad de purín de ortiga (*U. dioica*) sobre *C. elegans* (Ensayos 1-5) y sobre *P. redivivus* (Ensayo 1*). Se especifican las características de los tres purines utilizados y las distintas diluciones ensayadas

Table 1. Toxicity tests of nettle slurry (*U. dioica*) on *C. elegans* (Tests 1-5) and on *P. redivivus* (Test 1*). The characteristics of the three slurries used and the different dilutions tested are specified

Ensayo	Purín de ortiga	Fecha de elaboración	Volumen de agua (L)	Tiempo de almacenamiento (días)	Diluciones ensayadas (% v/v)
Ensayo 1	Purín 1	02/05/2022	10	91	0,1 - 0,5 - 1 - 5 - 10
Ensayo 1*					50 - 60 - 70 - 80 - 100
Ensayo 2	Purín 2	16/09/2022	10	0	3,5 - 5 - 6,5 - 8 - 9,5 - 11
Ensayo 3				22	5 - 7,5 - 11,5 - 17,5 - 27
Ensayo 4				22	3 - 5 - 7,5 - 11,5 - 17,5 - 27
Ensayo 5	Purín 3		2	83	5 - 8 - 11 - 14 - 17

Fuente: elaboración propia. Source: own elaboration.

Análisis estadístico

Se realizó el análisis estadístico de los datos obtenidos para cada ensayo con un nivel de significancia del 5%, incluyendo pruebas de homogeneidad de varianzas (Bartlett) y normalidad (Kolmogórov-Smirnov), ANOVA y posterior Test de Dunnett, obteniendo los valores de NOEC (concentración más alta empleada en el bioensayo que no causó un efecto estadísticamente significativo) y LOEC (concentración más baja empleada en el bioensayo que causó un efecto estadísticamente significativo). Posteriormente, para los ensayos 1 a 5 realizados con *C. elegans* se estimaron las LC50 (concentración letal media) y sus respectivos límites de confianza a partir de curvas log-normal reducidas al modelo probit mediante el paquete drc (Ritz et al., 2015) en el entorno R.

Resultados y discusión

Los purines de ortiga elaborados presentaron valores de conductividad eléctrica (CE) entre 5 y 6 mS/cm, pH entre 6 y 8, y oxígeno disuelto igual o menor a 2 mg/L. Los resultados son cercanos a los valores de CE y pH registrados por Maričić et al. (2021) y Garmendia et al. (2018) en purines de ortiga.

El purín de ortiga demostró tener efectos letales sobre los individuos de *C. elegans* expuestos en medio líquido, dependiendo de la dilución de exposición. A partir de los resultados de dichos ensayos, se obtuvieron los valores de NOEC, LOEC y LC50 del purín de ortiga para *C. elegans* (Tabla 2, Figuras 1 y 2). En el caso de *P. redivivus* no se observó un efecto letal significativo al utilizar el purín puro o diluido. Los controles negativos validaron los resultados al no observarse valores de mortalidad superiores al 10% (Figura 2).

Tabla 2. Parámetros ecotoxicológicos obtenidos en los ensayos de purín de ortiga (*U. dioica*) sobre *C. elegans* (donde NOEC = concentración más alta empleada en el bioensayo que no causó un efecto estadísticamente significativo; LOEC = concentración más baja empleada en el bioensayo que causó un efecto estadísticamente significativo, y LC50 = concentración letal media)

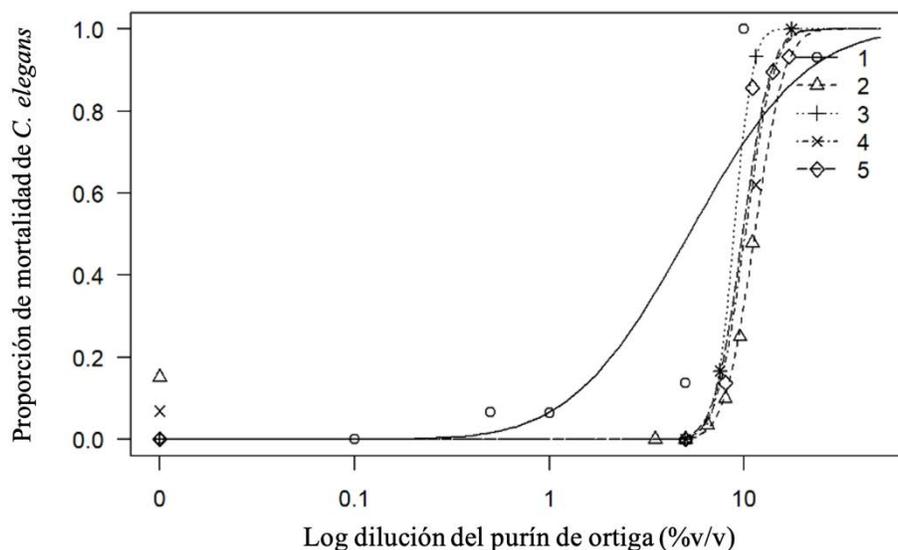
Table 2. Ecotoxicological parameters obtained in the tests of nettle slurry (*U. dioica*) against *C. elegans* (where NOEC = highest concentration used in the bioassay that did not cause a statistically significant effect; LOEC = lowest concentration used in the bioassay that caused a statistically significant effect, and LC50 = median lethal concentration)

Ensayo	Diluciones ensayadas (% v/v)	NOEC (% v/v)	LOEC (% v/v)	LC50 (% v/v)	LC50 - Límite de confianza inferior (% v/v)	LC50 - Límite de confianza superior (% v/v)
E1	0,1 - 0,5 - 1 - 5 - 10	5,0	10,0	5,2	3,4	7,0
E2	3,5 - 5 - 6,5 - 8 - 9,5 - 11	9,5	11,0	11,3	9,9	12,8
E3	5 - 7,5 - 11,5 - 17,5 - 27	5,0	7,5	8,9	8,2	9,5
E4	3 - 5 - 7,5 - 11,5 - 17,5 - 27	7,5	11,5	10,1	9,2	11,0
E5	5 - 8 - 11 - 14 - 17	8,0	11,0	9,8	9,0	10,6

Fuente: elaboración propia. Source: own elaboration.

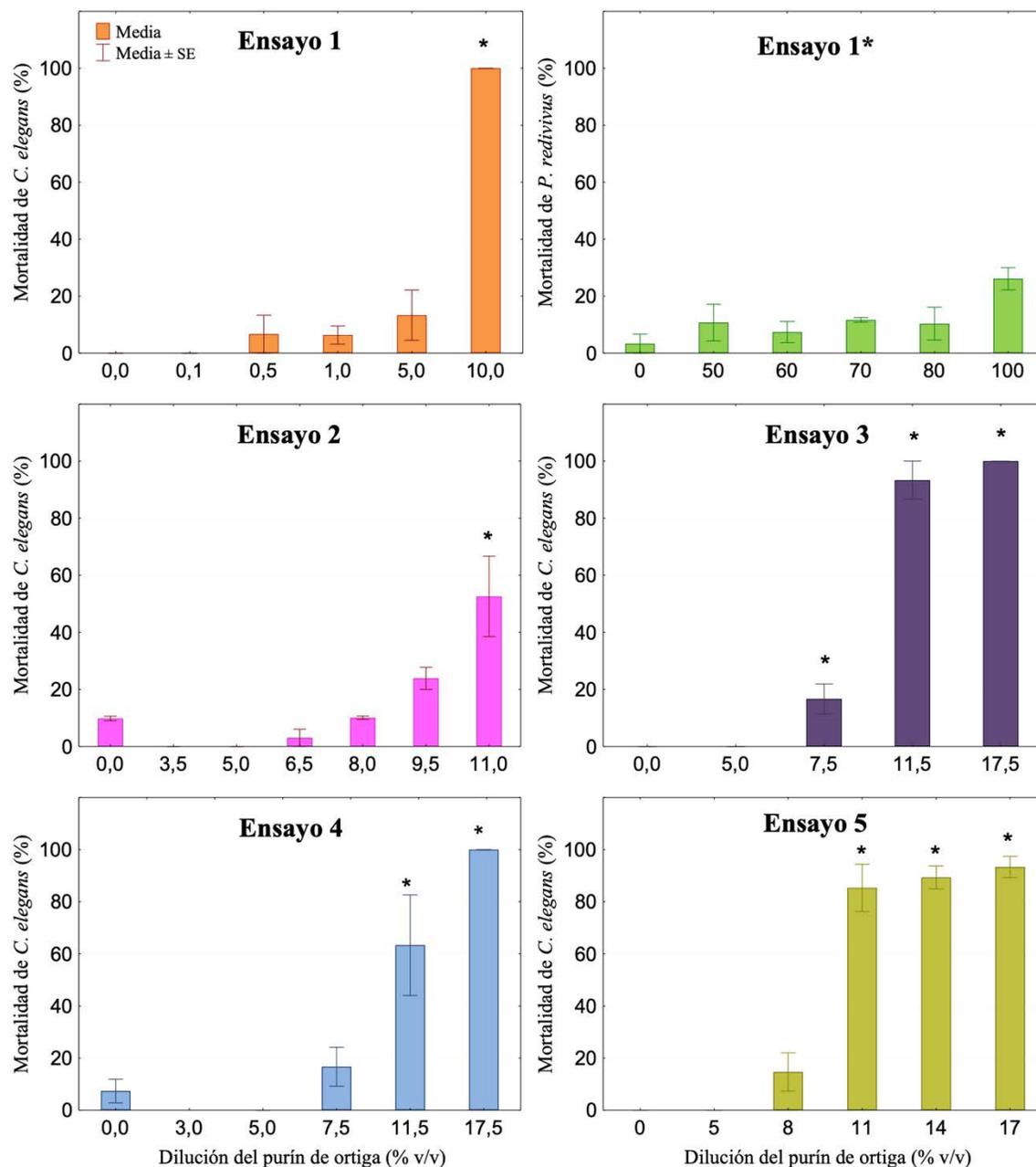
Figura 1. Proporción de mortalidad de *C. elegans* en función de la dilución del purín de ortiga (*U. dioica*) para los cinco ensayos realizados

Figure 1. Proportion of mortality of *C. elegans* as a function of the dilution of nettle (*U. dioica*) slurry for the five tests carried out



Fuente: elaboración propia. Source: own elaboration.

Figura 2. Porcentaje de mortalidad de *C. elegans* (ensayos 1 a 5) y *P. redivivus* (ensayo 1*) para las diferentes diluciones de purín de ortiga. El * indica diferencias significativas respecto al control
 Figure 2. Percentage of mortality of *C. elegans* (tests 1 to 5) and *P. redivivus* (test 1*) for the different dilutions of nettle slurry. The * indicates significant differences around the control



Fuente: elaboración propia. Source: own elaboration.

En lo que respecta al bioensayo 1* utilizando *P. redivivus*, si bien se observaron distintos porcentajes de mortalidad, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, ni respecto del control negativo, por lo que este producto no presentó un efecto letal significativo sobre dicha especie al utilizarse puro o diluido (Figura 2).

Los valores de NOEC para *C. elegans* se encontraron entre 5% v/v y 9,5% v/v. El menor valor de NOEC obtenido correspondió a las diluciones de 5% v/v, lo cual podría indicar que las diluciones menores o iguales al 5% no serían tóxicas ante una exposición directa del nematodo en medio líquido. A su vez, este resultado es relevante desde una mirada agronómica al coincidir con dosis recomendadas para la aplicación del purín de ortiga en cultivos frutihortícolas. En este sentido, se ha demostrado que diluciones menores al 5% v/v son suficientes para generar un efecto bioestimulante del crecimiento vegetal, por lo que podrían considerarse, de acuerdo con los resultados obtenidos, diluciones seguras para los nematodos estudiados (Domenico, 2019).

En lo que respecta a los valores de LOEC, estos se encontraron entre 7,5% v/v y 11,5% v/v, lo cual podría indicar que las diluciones mayores o iguales al 7,5% v/v serían tóxicas para *C. elegans* ante una exposición directa en medio líquido. Este nematodo puede crecer en un rango de pH entre 3,13 y 11,33 y puede sobrevivir en condiciones de anoxia durante al menos 24 hs a 20 °C, por lo que los valores encontrados en este trabajo (pH= 6 - 8; OD < 2 mg/l) no serían causales del efecto tóxico en este ensayo (Cong et al., 2020; Braeckman et al., 2009). En lo que respecta a los valores de conductividad eléctrica, no encontramos bibliografía que refiera el rango de tolerancia de *C. elegans*. Futuros ensayos deberán realizarse para evaluar si estos parámetros afectan la viabilidad de *C. elegans* en medio líquido.

El rango en que se encontraron los valores de LC50 fue de 5,2% v/v a 11,3% v/v. En el ensayo 1 se observó que la LC50 tiende a ser menor que en el resto de los ensayos con *C. elegans*, indicando una mayor toxicidad. Estas diferencias podrían deberse a la variación en la materia prima utilizada (estado fenológico, nutricional o hídrico), dado que el purín 1 se elaboró con una ortiga diferente a los purines 2 y 3, utilizados en los ensayos 2 a 5. Se desconoce la composición química y microbiana del purín y su variabilidad en función de la materia prima, las condiciones de elaboración (oxigenación, temperatura y tiempo en que ocurre la fermentación) y almacenamiento (tiempo y temperatura) (Garmendia et al., 2018). Creemos pertinente estudiar los constituyentes bioactivos de este biopreparado y la influencia de tales variables en futuros ensayos de toxicidad sobre organismos no-blanco.

Diferentes extractos a base de *Urtica* sp. han sido analizados como repelentes o insecticidas, para el control de plagas como áfidos y coleópteros (Lovatto et al., 2016; Ortega et al., 2009). Concerniente a los nematodos, Ayala et al. (2017) evaluaron mediante ensayos en medio líquido, el efecto letal de un extracto acuoso elaborado con polvo de ortiga sobre *P. redivivus*, observando distintos valores de mortalidad dependiendo de las diluciones. Nasiri et al. (2014) demostraron la eficacia de los exudados de raíces de ortiga, conteniendo ácido acético y ácido fórmico, para el control de algunos géneros de nematodos parásitos de plantas. Sin embargo, según nuestro conocimiento, no existen trabajos que estudien los efectos tóxicos del purín de ortiga sobre nematodos de vida libre.

Los resultados indican que la toxicidad fue diferente para las dos especies modelo. Respecto a *P. redivivus*, al no haberse encontrado mortalidades significativas, incluso en los ensayos con concentraciones altas o purín puro, deberán realizarse ensayos utilizando purines elaborados en diferentes condiciones para constatar la tendencia observada en este trabajo. Debido a la mayor sensibilidad observada en *C. elegans*, creemos pertinente la utilización de este nematodo como organismo modelo en nuevos ensayos de toxicidad en suelo, de forma de asemejarse al escenario real al que estarían expuestos durante una aplicación del biopreparado, por parte de los productores.

Los resultados obtenidos en este trabajo son novedosos ya que aportan antecedentes referentes a la toxicidad del purín de ortiga sobre organismos no-blanco. Mediante ensayos en medio líquido se pudo determinar el efecto que tienen distintas dosis del biopreparado sobre nematodos de vida libre, organismos clave en los ecosistemas edáficos.

Generar información concerniente a los efectos del purín de ortiga sobre los organismos no-blanco del suelo puede permitir conocer las diluciones máximas en las que este puede ser aplicado de forma segura reduciendo el efecto a la salud del ecosistema asociado al cultivo. A su vez, la información obtenida sobre la ecotoxicidad de los biopreparados ampliamente utilizados por productores en sistemas hortícolas contribuiría a la optimización de las prácticas asociadas a su uso, lo que lleva a sistemas mejorados de protección de cultivos. Consideramos necesario el aporte de información de base científica sobre los biopreparados para contribuir en la construcción de saberes, acompañando así la transición hacia sistemas agroecológicos sustentables.

Bibliografía

- Altieri Soto, M.A. y Nicholls, C.I. (2000). *Agroecología: Teoría y práctica para una agricultura sustentable*. Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente y Red de Formación Ambiental para América Latina y el Caribe.
- Ayala, H., Iannacone, J. y Alvariño, L. (2017). Toxicity of Five Botanical Aqueous Extracts on *Panagrellus redivivus* (Nematoda: Panagrolaimidae), *Daphnia magna* (Crustacea: Daphniidae), *Lemna minor* (Araceae) and *Raphanus sativus* (Brassicaceae). *Neotropical Helminthology*, 11(1), 139-155.
- Braeckman, B., Houthoofd, K. y Vanfleteren, J. (2009). *Intermediary Metabolism*. *WormBook: The Online Review of C. Elegans Biology*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK116085/>
- Chimento, L., Simontacchi, M. y Maydup, M. L. (2019). Efectos del uso de un biopreparado a base de ortigas sobre el crecimiento de plantas de lechuga. *Investigación Joven*, 6(2), 56.
- Cong, Y., Yang, H., Zhang, P., Xie, Y., Cao, X. y Zhang, L. (2020). Transcriptome Analysis of the Nematode *Caenorhabditis elegans* in Acidic Stress Environments. *Frontiers in Physiology*, 11, 1107. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.01107>
- Domenico, P. (2019). Bat Guano and Nettle Slurry (*Urtica dioica* L.) Used as Biostimulants on *Delosperma cooperi* and *Sedum rubrotinctum* Plants. *World Journal of Advanced Research and Reviews*, 3(2), 17-23. <https://doi.org/10.30574/wjarr.2019.3.2.0058>
- Garmendia, A., Raigón, M.D., Marques, O., Ferriol, M., Royo, J. y Merle, H. (2018). Effects of Nettle Slurry (*Urtica dioica* L.) Used as Foliar Fertilizer on Potato (*Solanum tuberosum* L.) Yield and Plant Growth. *PeerJ*, 6, e4729. <https://doi.org/10.7717/peerj.4729>
- Gliessman, S.R., Rosado-May, F.J., Guadarrama-Zugasti, C., Jedlicka, J., Cohn, A., Méndez, V.E., Cohen, R., Trujillo, L., Bacon, C. y Jaffe, R. (2007). Agroecología: Promoviendo una transición hacia la sostenibilidad. *Ecosistemas*, 16(1), 13-23.
- Hayashi, M. y Wharton, D.A. (2011). The Oatmeal Nematode *Panagrellus redivivus* Survives Moderately Low Temperatures by Freezing Tolerance and Cryoprotective Dehydration. *Journal of Comparative Physiology B*, 181(3), 335-342. <https://doi.org/10.1007/s00360-010-0541-3>
- Lovatto, P.B., Mauch, C.R., Lobo, E.A. y Schiedeck, G. (2016). Avaliação de *Pteridium aquilinum* (Dennstaedtiaceae) e *Urtica dioica* (Urticaceae) como alternativas ao equilíbrio populacional de áfidos em cultivos orgânicos no sul do Brasil. *Revista de la Facultad de Agronomía*, 115(2), 265-271.
- Mamani de Marchese, A. y Filippone, M.P. (2018). Bioinsumos: Componentes claves de una agricultura sostenible. *Revista Agronómica del Noroeste Argentino*, 38(1), 9-21.

- Maričić, B., Radman, J., Major, N., Urlić, B., Palčić, I., Ban, D., Zorić, Z. y Ban, S. G. (2021). Stinging Net (*Urtica dioica* L.) as an Aqueous Plant-Based Extract Fertilizer in Green Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Sustainable Agriculture. *Sustainability*, 13(7), 4042. <https://doi.org/10.3390/su13074042>
- Molpeceres, C., Zulaica, L. y Tomaino, V.B. (2023). Cuestionamientos al uso de agroquímicos en Argentina y el mundo (2000-2020): Una revisión. *Novum Ambiens*, 1(1), e2340. <https://doi.org/10.31910/novamb.v1.n1.2023.2340>
- Nasiri, M., Azizi, K., Hamzhezarghani, H. y Ghaderi, R. (2014). Studies on the Nematicidal Activity of Stinging Nettle (*Urtica dioica*) on Plant Parasitic Nematodes. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 47(5), 591-599. <https://doi.org/10.1080/03235408.2013.816080>
- Ortega, R.N., Alban, R. y Alfonso, D. (2009). Los purines a base de ortiga (*Urtica dioica*) una alternativa natural en el control de insectos del orden Coleoptera. *Revista Brasileira de Agroecologia*, 4(2), 2353-2355.
- Pica Granados, Y. (2008). Ensayo de toxicidad con el nemátodo *Panagrellus redivivus*. En P.R. Romero y A.M. Cantú (Comps.), *Ensayos toxicológicos para la evaluación de sustancias químicas en agua y suelo: La experiencia en México* (pp. 139-154). SEMARNAT.
- Price Masalias, L.J. y Merztal, G. (2010). Biopreparados para el manejo sostenible de plagas y enfermedades en la agricultura urbana y periurbana. *Ipes/Fao*, 24. <http://www.fao.org/3/a-as435s.pdf>
- Ritz, C., Baty, F., Streibig, J.C. y Gerhard, D. (2015). Dose-Response Analysis Using R. *PLOS ONE*, 10(12), e0146021. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0146021>
- Salas, A. y Achinelly, M.F. (2020). Community Structure of Soil Nematodes Associated with the Rhizosphere of *Solanum lycopersicum* in a Major Production Area in Argentina: A Case Study among Agroecosystem Types. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 20(1), 43-54. <https://doi.org/10.1007/s42729-019-00099-8>
- Salas, A., Achinelly, M.F. y Sauka, D.H. (2021a). Nematicidal Effect of an Argentine Strain of *Photorhabdus laumondi laumondi* (Enterobacteriaceae) on the Free-living Nematode *Panagrellus redivivus* (Rhabditidae: Panagrolaimidae). *Revista Argentina de Microbiología*, 53(1), 84-85. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2020.04.002>
- Salas, A., Barrera, M.D. y Achinelly, M.F. (2021b). Abundance, Diversity, and Distribution of Plant-parasitic Nematodes in Horticultural Soils under Different Management Systems in a Tomato-producing Area in Argentina. *Nematology*, 24(3), 347-356. <https://doi.org/10.1163/15685411-bja10136>
- Salas, A., Rusconi, J.M., Rocca, M., Lucas, F.D., Balcazar, D. y Achinelly, M.F. (2022). A New Wild Strain of *Caenorhabditis Elegans* Associated with *Allograpta exotica* (Syrphidae) in Argentina: An Update of its Ecological Niche and Worldwide Distribution. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 94(3), e20201440. <https://doi.org/10.1590/0001-376520220201440>

Sarandon, S.J. y Marasas, M.E. (2015). Breve historia de la agroecología en la Argentina: Orígenes, evolución y perspectivas futuras. *Agroecología*, 10(2), 93-102.

Sochová, I., Hofman, J. y Holoubek, I. (2007). Effects of Seven Organic Pollutants on Soil Nematode *Caenorhabditis elegans*. *Environment International*, 33(6), 798-804.
<https://doi.org/10.1016/j.envint.2007.03.001>

Stiernagle, T. (2006). Maintenance of *C. elegans*. En D. Fay (Ed.), *WormBook* (pp. 1-11). The *C. elegans* Research Community.