

Actividad antifúngica *in vitro* de nanoformulados para el control de *Fusarium solani*

Ernesto Cerna Chávez¹
Irasema del Rosario Malacara Herrera¹
Yisa María Ochoa Fuentes^{1,§}
Antonio Orozco Plancarte¹
Jerónimo Landeros Flores¹
Luis Alberto Aguirre Uribe¹

1 Departamento de Parasitología-Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Laboratorio de Toxicología. Calzada Antonio Narro # 1923, Buenavista, Saltillo, Coahuila de Zaragoza, México. CP. 25315. Tel. 844 4110209.

Autora para correspondencia: yisa8a@yahoo.com

Resumen

El objetivo de la investigación fue evaluar la actividad antifúngica *in vitro* de dos extractos, gobernadora (*Larrea tridentata* L.) y mostaza (*Sinapis alba* L.) nanoformulados con nanopartículas de óxido de silicio y óxido de zinc (200 a 400 μ globulares), sobre el crecimiento micelial y la esporulación de *Fusarium solani*, uno de los fitopatógenos causante de la marchitez vascular y pudrición de raíces en al menos 100 cultivos de importancia económica. Utilizando el método medios envenenados se determinaron las concentraciones inhibitorias y el número de conidios. Los datos fueron analizados mediante un análisis probit, Anova y prueba de Tukey ($p \leq 0.05$). Los resultados demostraron que los tratamientos de mostaza sola presentan las DI_{50} más efectiva con 920.57 ppm; sin embargo, la mezcla de mostaza y gobernadora con SO_2 presentó resultados significativos sobre la esporulación, con una formación de 0.35 y 0.48 millones de conidios ml^{-1} para gobernadora SO_2 3% y mostaza SO_2 5% en comparación con el testigo (7.78).

Palabras clave:

crecimiento micelial, esporulación, nanopartículas.



En México la producción hortofrutícola es una fuente importante de recursos económicos, ya que además de ser una actividad agrícola rentable, requiere de mano de obra para la trazabilidad del producto, ya que estos son los de mayor exportación. Así como, por su importante valor nutrimental, ya que contiene vitaminas, fibras, minerales y antioxidantes que complementan una dieta diaria de las personas (Cedillo-Portugal, 2017). Para su exportación, se deben cumplir con requisitos fitosanitarios que establecen cada uno de los países con los que México tiene convenio comercial, esto significa que tienen que estar libres de patógenos, los cuales ocasionan diferentes enfermedades en dichos cultivos, sin embargo, las enfermedades más importantes y que causan más pérdidas de producción, son hongos, que afectan la calidad del producto y el rechazo de la entrada al país exportador (SENASICA, 2020).

La lista de las enfermedades de las plantas presentada por la Sociedad Americana de Fitopatología reporta que más de 81 de las 101 plantas de importancia económica tienen al menos una enfermedad causada *Fusarium* spp. (Leslie y Summerell, 2006). Dentro del género *Fusarium* se encuentra la especie *F. solani*, uno de los fitopatógenos que causan marchitez vascular y pudrición de raíces en al menos 100 cultivos agrícolas (Šiši#, 2018).

Para su control, se recurre principalmente a la aplicación intensiva de fungicidas, lo que genera riesgos a la salud y daños al ambiente, además, resulta poco favorable e inadecuado para controlar la enfermedad, por lo cual es importante tener alternativas para su control (El-Mohamedy *et al.*, 2014).

Algunas de las alternativas para el control de enfermedades fungosas, son el uso de extractos vegetales y aceites esenciales. Investigaciones han mostrado que son seguros para el ambiente y los consumidores y eficaces para el control de enfermedades causadas por *Fusarium*, además se han realizado pruebas con formulaciones botánicas comerciales en mezclas, con extractos vegetales y microorganismos de control biológico para analizar las interacciones (Villa-Martínez *et al.*, 2015).

Por otro lado, existe una tecnología con impacto destacable en diferentes sectores; en la agricultura tiene aplicaciones diversas, principalmente en la elaboración de nanopesticidas, la producción de macro y micronutrientes a nivel nano, haciéndolos más eficientes y sustentables (Lira *et al.*, 2018). El objetivo del trabajo fue evaluar extractos de gobernadora y mostaza, nanoformulados con óxido de silicio (SiO₂) y óxido de zinc (ZnO), contra el crecimiento micelial y producción de esporas de *F. solani*.

El hongo *F. solani* se reactivó en medio de agar papa dextrosa (PDA) después de ser identificada, mediante características morfológicas según Lesley y Summer (2006), la cepa se obtuvo del Laboratorio de Toxicología del Departamento de Parasitología en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN). Los extractos y nanopartículas (200 a 400 μ globulares) fueron adquiridos de la empresa Cultra SA de CV, se obtuvieron 14 tratamientos donde se incluyen los extractos puros y los nanoformulados con SiO₂ y ZnO al 1, 3 y 5%, por cada 100 ml del extracto.

Para realizar las concentraciones (0, 10, 100, 500, 1 000, 3 000 y 5 000 ppm) se consideró el extracto al 100%. Para realizar los bioensayos se siguió la metodología de medio envenenado con PDA, en cajas Petri, dejando 24 h para su solidificación, en cada caja Petri se colocó un fragmento de 0.5 cm de *F. solani*, se incubaron a 26 °C y se tomó la medida del crecimiento del micelio a las 24 h con un vernier, hasta que el testigo alcanzó las medidas del a caja Petri.

Se tomó en cuenta el crecimiento micelial para obtener el porcentaje de inhibición mediante la fórmula: % inhibición= crecimiento micelial del testigo-crecimiento micelial del tratamiento/ crecimiento micelial del testigo x 100 (Ezziyani *et al.* 2004). Para el conteo de esporas se realizó con una cámara de Neubauer con base a una cuantificación de suspensión de esporas (Bustillo, 2010).

Para obtener la dosis inhibitoria media (DI₅₀) se realizó un análisis Probit con los resultados de porcentaje de inhibición, mientras que para la formación de esporas se hizo un análisis de varianza completamente al azar con cuatro repeticiones. Cada repetición constó de tres cajas por evaluación

y una prueba de comparación de medias con el método Tukey ($p \leq 0.05$), mediante el programa estadístico SAS System versión 9.0.

Los valores de los tratamientos de gobernadora, mostaza, solos y con las nanopartículas de SO_2 y ZnO se muestran en el Cuadro 1, donde se observó para el caso de los tratamientos con gobernadora y SO_2 el 5% mostró el valor más bajo de DI_{50} con 3 140 ppm, seguido de gobernadora SO_2 al 1% con 3 204 ppm. Los valores más altos de DI_{50} fueron gobernadora SO_2 al 3% y gobernadora sin nanopartículas con valores de 3 351 y 3 238 ppm respectivamente. Para la mezcla de gobernadora con ZnO, presentaron valores más altos, que con SO_2 , siendo gobernadora ZnO al 1% (DI_{50} de 4 739 ppm) el resultado más alto.

Cuadro 1. Dosis Inhibitoria media (DI_{50}) sobre el crecimiento micelial de *Fusarium solani* por los extractos de gobernadora (*Larrea tridentata*) y mostaza (*Sinapis alba*), a diferentes porcentajes de nanopartículas de óxido de silicio y zinc.

Tratamiento	DI_{50} (ppm)	Limite Fiducial		DI_{90} (ppm)	p-valor	Ecuación de predicción
		Inferior	Superior			
Gobernadora	3 238	2 106	4 551	21 024	<0.0001	$y = (-5.536873217 \pm 1.5773482429)$
Gobernadora/ Silicio 1%	3 204	2 661	3 773	12 065	<0.0001	$y = (-7.801241684 \pm 2.225340777)$
Gobernadora/ Silicio 3%	3 351	2 811	3 921	11 840	<0.0001	$y = (-8.241009222 \pm 2.3377709636)$
Gobernadora/ Silicio 5%	3 140	2 612	3 692	11 897	<0.0001	$y = (-7.7458 \pm 2.215055154)$
Gobernadora/ Zinc 1%	4 739	4 168	5 292	9 668	<0.0001	$y = (-15.2126571 \pm 4.1387039234)$
Gobernadora/ Zinc 3%	4 061	3 391	4 640	9 664	<0.0001	$y = (-12.28192208 \pm 3.4035029437)$
Gobernadora/ Zinc 5%	3 988	3 139	4 684	10 228	<0.0001	$y = (-11.2798788 \pm 3.1326844079)$
Mostaza	920.57	827.41	1 010	2 573	<0.0001	$y = (-8.51048383 \pm 2.8712269152)$
Mostaza/ Silicio 1%	1 281	1 127	1 414	2 429	<0.0001	$y = (-14.31996916 \pm 4.60831284193)$
Mostaza/ Silicio 3%	1 308	1 241	1 373	2 278	<0.0001	$y = (-16.58320233 \pm 5.3206547718)$
Mostaza/ Silicio 5%	1 298	1 240	1 353	2 188	<0.0001	$y = (-17.60324779 \pm 5.6541638072)$
Mostaza/ Zinc 1%	1 231	1 064	1 368	2 611	<0.0001	$y = (-12.11889233 \pm 3.9218341752)$

Tratamiento	Limite Fiducial				p-valor	Ecuación de predicción
	DI ₅₀ (ppm)	Inferior	Superior	DI ₉₀ (ppm)		
Mostaza/ Zinc 3%	1 329	1 204	1 442	2 501	<0.0001	y= (-14.57031787 ±4.6649226381)
Mostaza/ Zinc 5%	1 244	1 168	1 314	2 191	<0.0001	y= (-16.14253382 ±5.215779407)

Al respecto, Tequida-Meneses *et al.* (2002) al evaluar la actividad antifúngica de extractos (governadora), los resultados mostraron una inhibición de *Fusarium* spp., hasta de 100%, mientras que Huang (2011) al evaluar óxido de silicio demuestra que la severidad de la enfermedad por *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* disminuyó considerablemente al trasplantar plantas de tomate en solución nutritiva adicionadas con este elemento. Para los tratamientos de mostaza, los valores más bajos, los presentó mostaza sin las nanopartículas con DI₅₀ de 920.47 ppm, Drakopoulos *et al.* (2010) demostraron que mostaza ayuda a controlar enfermedades causadas por *Fusarium*.

Por otro lado, mostaza con ZnO al 3% fue la DI₅₀ más alta de 1329 ppm, seguido de mostaza con SO₂ al 1, 3 y 5% (1 281, 1 308 y 1 298 ppm respectivamente), mientras que mostaza con ZnO al 1% y al 5% donde obtuvieron las DI₅₀ con 1 231 y 1 244 ppm. Lo que coincide con lo reportado por Siddiqui *et al.* (2019) en una investigación realizada sobre el efecto inhibitorio de nanopartículas de Zinc se encontró que fue el mejor de los tratamientos sobre *F. solani*. En cuanto a la actividad de la esporulación los tratamientos de mostaza a la dosis más alta (500 ppm) presento una inhibición total (Cuadro 2).

Cuadro 2. Efecto de las nanopartículas de óxido de silicio y zinc en la esporulación de *Fusarium solani*.

Extractos	Concentración	Tratamientos						
		Testigo	1% SO ₂	3% SO ₂	5% SO ₂	1% Zn	3% Zn	5% Zn
Gobernadora	0	7.78 b	7.78 a	7.78 a	7.78 a	19.78 b	19.78 b	19.78 a
	1 000	15.84 a	1.38 b	1.89 b	0.747 b	25.54 ab	15.41 b	26.93 a
	3 000	18.29 a	1.17 b	1.22 b	0.48 b	35.25 a	17.38 b	27.04 a
	5 000	13.38 ab	1.12 b	0.35 b	0.64 b	17.28 b	45.4 a	27.2 a
Mostaza	0	7.78 a	7.78 a	7.78 a	7.78 a	19.78 a	19.78 a	19.78 a
	1 000	0.85 b	5.81 ab	2.45 b	3.68 b	15.38 ab	8.64 b	8.9 b
	3 000	0.37 b	4.58 b	1.49 b	0.48 c	5.22 bc	5.44 bc	2.18 bc
	5 000	0 b	0 c	0 b	0 c	0 c	0 c	0 c

Medias con la misma letra entre columnas son estadísticamente iguales Tukey ($p \leq 0.05$).

Para el extracto de gobernadora con SO₂ al 3% a dosis de 5 000 ppm presentaron el menor número de esporas 0.35 millones de conidios ml⁻¹, seguido de SO₂ al 5% a dosis de 3 000 pp (0.48), los valores más altos los presento gobernadora con ZnO 3% en la dosis de 5 000 ppm con 45.40 millones ml⁻¹, seguido de ZnO 1% en la dosis de 3 000 ppm (35.25), superando al testigo que presentó el mayor valor con 7.8 millones de conidios ml⁻¹.

Para el extracto de mostaza la concentración de 5 000 ppm ya sea solo o en mezcla con nanopartículas inhibió 100% en la producción de esporas, otros resultados con valores bajos los presentó mostaza sola en la dosis de 3 000 ppm con 0.37 millones ml⁻¹, seguido de mostaza más SO₂ al 5% en la dosis de 3 000 ppm con 0.48 y mostaza SO₂ al 3% en la dosis de 3 000 ppm con 1.49.

Estos resultados coinciden con los reportados por Singh *et al.* (2017), quienes probaron 12 productos botánicos contra *Fusarium oxysporum*, donde la mostaza inhibió el 93.75% del hongo. Los extractos de gobernadora se han utilizado como estrategia ecológica y se ha evidenciado como una alternativa para un manejo integrado para *Fusarium* (Peñuelas-Rubio) y estos al estar enriquecidos con nanopartículas elevan su efectividad para el control de *F. solani*.

Los tratamientos con ZnO mostraron los valores más altos, con gobernadora el 70% los resultados son más altos que el testigo, donde la menor producción de esporas la presentó gobernadora con Zn al 3% a una concentración de 1 000 ppm con 15.41 millones de conidios ml⁻¹, en tanto a los de mostaza con ZnO el mayor número de esporas se observa a la concentración de 1000 ppm después del testigo con 15.38 millones de conidios ml⁻¹, Labiadh *et al.*(2016) reportaron que las nanopartículas de ZnO tienen mejor efecto antibacteriano que antifúngico.

Conclusiones

El extracto de mostaza inhibió el crecimiento micelial de *F. Solani*, pero la mezcla de mostaza adicionados con nanopartículas de SO₂ y de gobernadora con SO₂ mostraron inhibición en la esporulación.

Bibliografía

- 1 Bustillo, A. E. 2010. Método para cuantificar suspensiones de esporas de hongos y otros organismos. Universidad Nacional de Colombia, Palmira, Colombia. Doi:10.13140/RG.2.1.3594.5128.
- 2 Cedillo-Portugal, E. y Anaya-Rosales S.2018. Implicaciones socioeconómicas por la implementación de programas de sanidad, calidad e inocuidad alimentaria en el sector productivo de frutas y hortalizas en México. *Agro Productividad*. 11(2):140-146.
- 3 Drakopoulos, D.; Meca, G.; Torrijos, R.; Marty, A.; Kägi, A.; Jenny, E. y Vogelgsang, S. 2020. Control of *Fusarium graminearum* in wheat with mustard-based botanicals: from *in vitro* to in plant. *Frontiers in*. 11: 1 -15. Doi.org/10.3389/fmicb.2020.01595.
- 4 El-Mohamedy, R. S.; Abdel-Kareem, F. y Daami-Remadi, M. 2014. Quitosano y *Trichoderma harzianum* como alternativas fungicidas para el control de la pudrición de la corona y la raíz por *Fusarium* del tomate. *Gestión*. 3(4):5-6.
- 5 Ezziyyani, M.; Sánchez, C. P.; Requena, M. E.; Rubio, L. y Castillo, M. E. C. 2004 Biocontrol por *Streptomyces rochei*-Ziyani-, de la podredumbre del pimiento (*Capsicum annum* L.) causada por *Phytophthora capsici*. In *Anales de Biología*. Servicio de Publicaciones de la Universidad de Murcia. 26:61-68.
- 6 Huang, C. H.; Roberts, P. D y Datnoff, L. E. 2011. El silicio suprime la pudrición de la corona y la raíz por *Fusarium* del tomate. *Revista de Fitopatología*. 159(7#8):546-554.
- 7 Labiadh, H.; Lahbib, K.; Hidouri, S.; Touil, S. and Chaabane, T. B. 2016. Insight of ZnS nanoparticles contribution in different biological uses. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 9(8):757-762.
- 8 Leslie, J. F. y Summerell, B. A. 2006. Talleres de laboratorio de *Fusarium*: una historia reciente. *Investigación sobre Micotoxinas*. 22(2):73-74.
- 9 Lira-Saldivar, R. H.; Méndez-Argüello, B.; Santos-Villarreal, G. D. L. y Vera-Reyes, I. 2018. Potencial de la nanotecnología en la agricultura. *Acta Universitaria*. 28(2):9-24.
- 10 SENASICA. 2020. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. Exportación de productos agrícolas. Las actividades se fundamentan en la Ley federal de sanidad vegetal. <https://www.gob.mx/senasica/acciones-y-programas/exportacion-de-productos-agricolas-149565>.

- 11 Siddiqui, Z. A.; Parveen, A.; Ahmad, L. and Hashem, A. 2019. Effects of graphene oxide and zinc oxide nanoparticles on growth, chlorophyll, carotenoids, proline contents and diseases of carrot. *Scientia Horticulturae*. 249:374-382.
- 12 Singh, J. K.; Kumar, M.; Kumar, S.; Kumar, A. y Mehta, N. 2017. Inhibitory effect of botanicals on growth and sporulation of *Fusarium oxysporum* inciting wilt of chilli (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 6(5):2199-2204.
- 13 Šiši#, A.; Ba#anovi#-Šiši#, J. y Al-Hatmi, A. M. S., Karlovsky, P.; Ahmed, S. A.; Maier, W.; de Hoog, G. S. and Finckh M. R. 2018. El número 'forma specialis' en *Fusarium*: un estudio de caso en *Fusarium solani* f. sp. Pisi. *Informes científicos*. 8(1):1-17. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19779-z>.
- 14 Tequida-Meneses, M.; Cortez-Rocha, M.; Rosas-Burgos, E. C.; López-Sandoval, S. y Corrales-Maldonado, C. 2002. Efecto de extractos alcohólicos de plantas silvestres sobre la inhibición de crecimiento de *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium expansum*, *Fusarium moniliforme* y *Fusarium poae*. *Revista Iberoamericana de Micología*. 19(1):84-88.
- 15 Villa-Martínez, A.; Pérez-Leal, R.; Morales-Morales, H. A.; Basurto-Sotelo, M.; Soto-Parra, J. M. y Martínez-Escudero, E. 2015. Situación actual en el control de *Fusarium* spp. y evaluación de la actividad antifúngica de extractos vegetales. *Acta Agronómica*. 64(2):194-205.



Actividad antifúngica *in vitro* de nanoformulados para el control de *Fusarium solani*

Journal Information
Journal ID (publisher-id): remexca
Title: Revista mexicana de ciencias agrícolas
Abbreviated Title: Rev. Mex. Cienc. Agríc
ISSN (print): 2007-0934
Publisher: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias

Article/Issue Information
Date received: 01 January 2024
Date accepted: 01 February 2024
Publication date: 27 March 2024
Publication date: March 2024
Volume: 15
Issue: 2
Electronic Location Identifier: e3076
DOI: 10.29312/remexca.v15i2.3076

Categories

Subject: Nota de investigación

Palabras claves:

Palabras claves:

crecimiento micelial

esporulación

nanopartículas

Counts

Figures: 0

Tables: 2

Equations: 0

References: 15

Pages: 0