

Manejo in vitro de *Fusarium acuminatum* con extractos vegetales adicionados con nanopartículas de óxido de silicio y zinc

In vitro management of *Fusarium acuminatum* with plant extracts added with silicon oxide and zinc nanoparticles

Irasema del Rosario Malacara-Herrera¹, Yisa María Ochoa-Fuentes¹, Ernesto Cerna-Chávez^{1*}, Jazmín Janet Velázquez-Guerrero¹, Antonio Orozco-Plancarte¹, Agustín Hernández-Juárez¹, Luis Alberto Aguirre-Uribe¹

¹Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Departamento de Parasitología. Laboratorio de Toxicología. Calzada Antonio Narro No. 1923. Buenavista, Saltillo, Coahuila de Zaragoza, México. C.P. 25315. Correos electrónicos: irasemamalacarah@gmail.com; yisa8a@yahoo.com; jabaly1@yahoo.com; jazzguerrero@hotmail.com; antonioorozco25@outlook.es; chinoahj14@hotmail.com; luisaguirreu@yahoo.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6644-4670>; <https://orcid.org/0000-0001-7859-8434>; <https://orcid.org/0000-0003-2263-4322>; <https://orcid.org/0000-0001-8562-467X>; <https://orcid.org/0000-0001-6644-0680>; <https://orcid.org/0000-0001-7059-4471>; <https://orcid.org/0000-0001-8462-1012>

*Autor de correspondencia.

Recibido: 24 de marzo de 2022
Aceptado: 5 de diciembre de 2022
Publicado: 31 de enero de 2023
<https://doi.org/10.33064/iycuaa2023883638>
e3638

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.) adicionados con nanopartículas de óxido de silicio (SiO) y óxido de zinc (ZnO), sobre el crecimiento micelial y la esporulación de *Fusarium acuminatum*. Se utilizó el método de medio envenenado, 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 con ZnO tienen mejor efecto inhibitorio y en esporulación los tratamientos de gobernadora con SiO. Los extractos adicionados con nanopartículas son efectivos en el control *in vitro* de *F. acuminatum*.

Palabras clave: nanoformulados; fitopatógeno; efectividad; crecimiento micelial; esporulación.

Abstract

The objective of the research was to evaluate the *in vitro* antifungal activity of two extracts, governor (*Larrea tridentata* L.) and mustard (*Sinapis alba* L.) added with nanoparticles of silicon oxide (SiO) and zinc oxide (ZnO), on the mycelial growth and sporulation of *Fusarium acuminatum*. The poisoned medium method was used, inhibitory concentrations and the

number of conidia were determined. Data were analyzed using a probit analysis, ANOVA and Tukey test ($p \leq 0.05$). The results showed that mustard treatments with ZnO have a better inhibitory effect and in sporulation governor treatments with SiO. Extracts added with nanoparticles are effective in the *in vitro* control of *F. acuminatum*.

Keywords: nanoformulates; phytopathogen; effectiveness; mycelial growth; sporulation.

Introducción

Los sistemas de producción de tipo intensivo, han traído considerables daños al suelo (Wall, 2019), siendo una de las consecuencias el desarrollo de patógenos, principalmente hongos (Ampt, van Ruijven, Raaijmakers, Termorshuizen & Mommer, 2019). Uno de los géneros más importantes es *Fusarium* (Ramírez-Mares & Hernández-Carlos, 2015), que afecta a las plantas provocando marchitez vascular. Dentro de este género se encuentra una de las especies con mayor difusión mundial, *F. acuminatum* (Seifi, Ketabchi, Aminian, Etebarian & Kamali, 2014). La cuál ocasiona pudrición basal en ajo (*Allium sativum* L.) y cebolla (*Allium cepa* L.) principalmente (Ochoa-Fuentes, Cerna-Chávez, Gallegos-Morales, Landeros-Flores, Delgado-Ortiz, Hernández Camacho & Olalde-Portugal, 2012). Este hongo se encuentra asociado a la producción de micotoxinas, en particular tricotecenos (Logrieco, Altomare, Moretti & Bottalico, 1992). Así mismo, ha sido reportado ocasionando Damping off en pino Aleppo (*Pinus halepensis*) en Algeria (Lazreg, Belabid, Sánchez, Gallego, Garrido-Cárdenas & Elhaitoum, 2013) y en fruto de Kiwi (*Actinidia deliciosa*) en China (Wang, Ai, Fan, Lv, Qin, Yang & Liu, 2015). Como alternativa para manejar este tipo de enfermedades se han realizado investigaciones sobre el uso de extractos vegetales, metabolitos y aceites esenciales que se encuentran en las plantas, ya que son de bajo costo, amigables con el medio ambiente y no dañan a la salud humana (Villa-Martínez, Pérez-Leal, Morales-Morales, Basurto-Sotelo, Soto-Parra & Martínez-Escudero, 2015). Así mismo ha surgido la nanotecnología que ha tenido auge en sistemas de agricultura sustentable, en la elaboración de plaguicidas nanopartículados aumentando su efectividad (Marín-Bustamante, Hernández-Flores & Cásarez-Santiago, 2021). Por esta razón, el objetivo del presente trabajo fue evaluar dos extractos comerciales de la empresa CULTA SA DE CV, adicionados con nanopartículas de óxido de silicio (SiO) y óxido de zinc (ZnO) para potenciar la efectividad de los extractos sobre el crecimiento micelial y la producción de esporas de *Fusarium acuminatum*.

Desarrollo

La cepa del hongo de *Fusarium acuminatum* fue proporcionada por el Laboratorio de Toxicología del Departamento de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro en Saltillo, Coahuila. Los extractos gobernadora (*Larrea tridentata*) y mostaza (*Sinapis alba*) y las nanopartículas SiO y ZnO fueron proporcionados por la empresa Cultra S.A de C.V. Se prepararon 12 tratamientos adicionados con nanopartículas, donde se usaron 1,3 y 5 mL de concentrado de nanopartículas de óxido de silicio y zinc previamente activadas y se aforó a 100 mL con extracto vegetal respectivamente, de modo que los tratamientos se denominaron: Gobernadora/Silicio 1, 3 y 5%, Gobernadora/Zinc 1, 3 y 5%, Mostaza/Silicio 1, 3 y 5% y Mostaza/Zinc 1, 3 y 5%. Los tratamientos evaluados fueron 14 incluyendo como tratamiento positivo a cada extracto vegetal sin nanopartículas, usando diferentes concentraciones (10, 100, 500, 1 000, 3 000 y 5 000 ppm) tomando el extracto crudo al 100%. Los bioensayos se llevaron a cabo implementado la metodología de medio envenenado con PDA en cajas Petri (Ochoa-Fuentes, Cerna-Chávez, Gallegos-Morales, Landeros-Flores, Delgado-Ortiz, Hernández Camacho & Olalde-Portugal, 2012). Se evaluó el crecimiento micelial para el porcentaje de inhibición mediante la fórmula: % inhibición = crecimiento micelial del testigo - crecimiento micelial del tratamiento / crecimiento micelial del testigo x 100. Para el conteo de esporas se utilizó una cámara de Neubauer (Bustillo, 2010). Con los datos de porcentaje de inhibición se calcularon las dosis inhibitorias medias (DI50) mediante un análisis Probit, para evaluar la producción de esporas se realizó un análisis de varianza completamente al azar y una comparación de medias con el método Tukey ($p \leq 0.05$), utilizando el programa estadístico SAS System versión 9.0 en ambos casos. Los tratamientos de gobernadora con nanopartículas de óxido silicio y zinc al 5% (Tabla 1), presentaron menor DI50 de 846.61 y 939.63 ppm con respecto al extracto de gobernadora sin nanopartículas, que mostró una DI50 de 1355 ppm, mientras que los extractos de mostaza con nanopartículas de óxido de zinc y silicio al 5% lograron inhibir el 50% del hongo a una DI50 de 757.55 y 894.76 ppm con respecto al extracto de mostaza que presentó una DI50 de 893.62 ppm. Observando que al añadir las nanopartículas a los extractos se requieren menores concentraciones para inhibir el crecimiento micelial del hongo en un 50%. Es importante señalar que no existen reportes científicos relacionados a la determinación de concentraciones inhibitorias de extractos con nanopartículas de silicio y zinc. Sin embargo, Siddiqui, Parveen, Ahmad & Hashem. (2019) mencionan que las nanopartículas de Zinc poseen actividad antifúngica en *Fusarium* sp. González-Merino, Hernández- Juárez, Betancourt-Galindo, Ochoa-Fuentes, Valdez-Aguilar & Limón-Corona (2021). Encontraron que las nanopartículas de Óxido de Zinc controlan a *Fusarium*

oxysporum en el cultivo del tomate. Por su parte, Huang, Roberts & Datnoff (2011) mencionó que al suministrar oxido de silicio en soluciones nutritivas reducen la severidad de la enfermedad causada por *Fusarium* sp. en plantas de tomate.

Tabla 1. Dosis Inhibitoria media (DI50) del crecimiento micelial de *Fusarium acuminatum* por los extractos de gobernadora y mostaza a los diferentes porcentajes de las nanopartículas de óxido de silicio y zinc.

Tratamiento	DI50 (ppm)	Limite Fiducial	
		Inferior	Superior
Gobernadora	1355	976.6	1714
Gobernadora/Silicio 1%	1376	910.27	1815
Gobernadora/Silicio 3%	2005	1589	2406
Gobernadora/Silicio 5%	846.61	296.47	1398
Gobernadora/Zinc 1%	1081	802.91	1368
Gobernadora/Zinc 3%	1026	756.74	1302
Gobernadora/Zinc 5%	939.63	725.17	1159
Mostaza	893.62	772.54	1031
Mostaza/Silicio 1%	999.11	825.73	1214
Mostaza/Silicio 3%	1013	850.71	1214
Mostaza/Silicio 5%	894.76	771.26	1035
Mostaza/Zinc 1%	851.34	740.91	973.78
Mostaza/Zinc 3%	1014	913.48	1132
Mostaza/Zinc 5%	757.55	695.12	823.07

Elaboración propia

La actividad esporulante (Tabla 2) disminuyó con el uso de Gobernadora/Silicio 1, 3 y 5% ($1.49, 0.90$ y 0.85×10^6 mL⁻¹) a 3000 ppm con respecto al testigo 19.78 y 18.29×10^6 mL⁻¹ en las concentraciones de 0 y 3000 ppm, mientras que los tratamientos con nanopartículas de óxido de zinc promovieron la producción de esporas. En los tratamientos de mostaza con nanopartículas de óxido de zinc y silicio, promovieron la esporulación con respecto al testigo en todas las concentraciones evaluadas. Los extractos de gobernadora se han utilizado como estrategia ecológica y se ha demostrado que son una alternativa para un manejo integrado para *Fusarium* (Peñuelas-Rubio, Arellano-Gil, Verdugo-Fuentes, Chaparro-Encinas, Hernández-Rodríguez, Martínez-Carrillo & Vargas-Arispuro, 2017). En un estudio sobre el uso de diferentes productos botánicos, entre ellos mostaza, demostraron que hubo una reducción en la germinación de conidios (Drakopoulos, Torrijos, Meca, Weber, Bänziger, & Vogelgsang, 2019).

Tabla 2. Efecto de las nanopartículas de Oxido Silicio y Zinc en la esporulación de *Fusarium acuminatum*.

Extractos	C	Testigo	Tratamientos (Esporas x10 ⁶ mL ⁻¹)					
			1%SiO	3%SiO	5%SiO	1%ZnO	3%ZnO	5%ZnO
Gobernadora	0	19.78 a	19.78 a	19.78 a	19.78 a	19.78 b	19.78 b	19.78 b
	1000	15.84 a	1.49 b	1.33 b	1.17 b	24.64 b	15.26 b	29.97 a
	3000	18.29 a	1.49 b	0.90 b	0.85 b	33.22 a	16.32 b	28.21 a
	5000	13.38 a	1.65 b	1.17 b	1.17 b	17.38 b	46.88 a	26.77 ab
Mostaza	0	19.78 a	19.78 a	19.78 a	19.78 a	19.78 a	19.78 a	19.78 a
	1000	0.37 b	4.53 b	3.89 b	0.42 b	1.81 c	5.33 b	4.37 bc
	3000	0 b	2.61 b	0 b	1.17 b	10.45 b	8.26 b	6.66 b
	5000	0 b	0.37 b	0 b	0 b	0.26 c	3.30 b	0 c

C= Concentración en ppm, los tratamientos con la misma letra son iguales y tratamientos con diferente letra son estadísticamente diferentes Tukey ($p \leq 0.05$).

Elaboración propia

Los tratamientos de mostaza con nanopartículas de ZnO tienen mejor efecto inhibitorio, pero en la esporulación sobresalieron los tratamientos de gobernadora con nanopartículas de SiO. Los extractos adicionados con nanopartículas son efectivos en el control *in vitro* de *F. acuminatum*, por lo que se evaluarán en invernadero y campo, los tratamientos que mejor efecto mostraron, para de esta manera integrarla como estrategia de manejo de la enfermedad.



Tratamientos del extracto de mostaza con nanopartículas de óxido de zinc
Fuente: Elaboración propia

Referencias

- Ampt, E. A., van Ruijven, J., Raaijmakers, J. M., Termorshuizen, A. J. & Mommer, L. (2019). Vinculación de la ecología y la patología vegetal para desentrañar la importancia de los patógenos fúngicos transmitidos por el suelo en los pastizales ricos en especies. *Revista Europea de Patología Vegetal*, 154 (1): 141-156. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10658-018-1573-x>
- Bustillo, A. (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
- Drakopoulos, D., Luz, C., Torrijos, R., Meca, G., Weber, P., Bänziger, I., & Vogelgsang, S. (2019). Uso de botánicos para suprimir diferentes etapas del ciclo de vida de *Fusarium graminearum*. *Fitopatología*, 109 (12): 2116-2123. DOI: <https://doi.org/10.1094/PHYTO-06-19-0205-R>
- González-Merino, A. M., Hernández-Juárez, A., Betancourt-Galindo, R., Ochoa-Fuentes, Y. M., Valdez-Aguilar, L. A., & Limón-Corona, M. L. (2021). Antifungal activity of zinc oxide nanoparticles in *Fusarium oxysporum*-*Solanum*. *Journal of Phytopathology*. 00:1-12. DOI:10.1111/jph.13023.
- Huang, C. H., Roberts, P. D., & 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. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2011.01803.x>
- Lazreg, F., Belabid, L., Sánchez, J., Gallego, E., Garrido-Cardenas, J.A., & Elhaitoum, A. (2013). First report of *Fusarium acuminatum* causing Damping-off disease on Aleppo pine in Algeria. *Plant Disease*. 97(4). 577. DOI:<https://doi.org/10.1094/PDIS-06-12-0608-PDN>.
- Logrieco, A., Altomare, C., Moretti, A., & Bottalico, A. (1992). Cultural and toxigenic variability in *Fusarium acuminatum*. *Mycological research*, 96(6), 518-523.
- Marín-Bustamante, M. Q., Hernández-Flores, A., & Cásarez-Santiago, R. G. (2021). Nanotecnología y Agricultura: Detección, Monitoreo y Remediación de Contaminantes. *Revista Salud y Administración*, 8(23): 29-35.
- Ochoa-Fuentes, Y. M., Cerna-Chávez, E., Gallegos-Morales, G., Landeros-Flores, J., Delgado-Ortiz, J.C.; Hernández Camacho, S. & Olalde-Portugal, V. (2012). Identificación de especies de *Fusarium* en semilla de ajo en Aguascalientes, México. *Revista mexicana de micología*, 36: 27-32.

- Peñuelas-Rubio, O., Arellano-Gil, M., Verdugo-Fuentes, A. A., Chaparro-Encinas, L. A., Hernández-Rodríguez, S.E., Martínez-Carrillo, J.L., & Vargas-Arispuro, I.C. (2017). Extractos de *Larrea tridentata* como una estrategia ecológica contra *Fusarium oxysporum radialis-lycopersici* en plantas de tomate bajo condiciones de invernadero. *Revista mexicana de fitopatología*. 35-3: 360-376. DOI: <https://dx.doi.org/10.18781/r.mex.fit.1703-3>
- Ramírez-Mares, M. V. & Hernández-Carlos, B. (2015). Productos naturales derivados de plantas del continente americano para el control de hongos fitopatógenos: Una revisión. *J. Globo. Innovador agrícola Soc. Sci*, 3: 2312-5225.
- Seifi, T., Ketabchi, S., Aminian, H., Etebarian, H. R., & Kamali, M. (2014). Investigación y comparación de la actividad de nucleación del hielo en *Fusarium avenaceum* y *Fusarium acuminatum*. *En t. J. Farm. Allied Sci*, 3: 518-528.
- Siddiqui, Z. A., Parveen, A., Ahmad, L., & 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.
- Villa-Martínez, A., Pérez-Leal, R., Morales-Morales, H.A., Basurto-Sotelo, M., Soto-Parra, J.M., & 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.
- Wall, L. G. (2019). La ecología microbiana y la agricultura. Producciones Graficas S.A. Horizonte A. <https://notablesdelaciencia.conicet.gov.ar/handle/11336/135423>
- Wang, C. W., Ai, J., Fan, S. T., Lv, H. Y., Qin, H. Y., Yang, Y. M & Liu, Y. X. (2015). *Fusarium acuminatum*: A new pathogen causing postharvest rot on stored kiwifruit in China. *Plant Disease*. <http://doi.org/10.1094/PDIS-01-15-0021-PDN>. 99(11). 1644.