



# INTERCYT. INTERCULTURALIDAD, CIENCIA Y TECNOLOGÍA

## ACTIVIDAD FUNGICIDA Y BACTERICIDA DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA CONTRA DOS FITOPATÓGENOS DEL TOMATE, EVALUACIÓN *IN VITRO*.

Dr. Luis Octavio Hernández Arteaga

Universidad Intercultural de San Luis Potosí, luis.hernandez@uicslp.edu.mx

Dra. Idania De Alba Montero

M.C. Alejandra Durán Almendárez

M. C. Ana Ketzaly Calvillo Anguiano

Dra. Ana Laura Ruiz Castillo

Dr. Facundo Ruiz

Faculta de Ciencias, Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

### Resumen.

*Solanum lycopersicon* L conocido comúnmente entre la población como tomate es quizá la hortaliza de mayor producción en México, esta importante y destacada producción enfrenta constantemente riesgos debido al ataque de varios fitopatógenos. Entre los principales fitopatógenos que atacan los cultivos de esta hortaliza son la bacteria *Pseudomonas siringae* y el hongo *Fusarium oxysporum*. Una opción para eliminar estos fitopatógenos es la aplicación de nanopartículas de plata. Para lo cual se realizó una síntesis química de nanopartículas de plata esféricas con un diámetro promedio de 20 nm y se realizaron pruebas de sensibilización para antibióticos, teniendo como concentración inhibitoria para los microorganismos  $13.375 \pm 0.00$  µg/ml.

**Palabras clave.** Patógenos, Tomate, Nanopartículas de plata.

### Abstract.

*Solanum lycopersicon* L, frequently known among the population as tomato, is perhaps the vegetable with the highest production in Mexico, this important and outstanding production faces constant risks due to the attack of various phytopathogens. Among the main phytopathogens that attack the crops of this vegetable are the bacterium *Pseudomonas siringae* and the fungus *Fusarium oxysporum*. One option to eliminate these phytopathogens is the application of silver

nanoparticles. For which a chemical synthesis of spherical silver nanoparticles with an average diameter of 20 nm was carried out and sensitivity tests for antibiotics were carried out, having an inhibitory concentration for microorganisms of  $13.375 \pm 0.00 \mu\text{g/ml}$ .

**Keywords.** Pathogens, Tomato, Silver nanoparticles.

## **Introducción.**

El jitomate *Solanum lycopersicon* L., que forma parte de la familia solanáceas, proviene de América del Sur, en particular de Perú y las Islas Galápagos, así como de Bolivia, Chile, Ecuador y México. En México, se considera que es el principal centro de cultivo de jitomates. Los países que tienen la mayor cantidad de producción son: Estados Unidos de América, China, parte central de Italia, Turquía, La capital de Egipto y España en la zona de Almería.

A finales del año 2019, con los datos estadísticos del Sistema Información Agropecuaria SIAP, se sembraron en todo el territorio nacional 22,236 has., de las cuales fueron cosechadas 22,183 has., teniendo una producción de 1, 397,515 toneladas con un rendimiento medio de 63 ton. /ha. El estado de San Luis Potosí es uno de los principales productores de tomate a nivel nacional, considerando a la zona media del estado como la zona de mayor producción en el estado, gracias a la tecnificación de sus invernaderos. Se producen más de 306 mil toneladas de jitomate, de las cuales se destinan a exportación aproximadamente 45 mil con un valor de producción de 1,500 millones de pesos. Los invernaderos que hay en el estado de San Luis Potosí rebasan las 1800 hectáreas y el 80% de sus invernaderos destinan la producción al cultivo del jitomate (SIAP 2019).

Algunos de los fitopatógenos considerados de importancia económica por como dañan a diversos cultivos, se encuentran: *Pseudomonas siringae* y *Fusarium oxysporum* que provocan la descomposición de hortalizas y frutos frescos antes y después de la cosecha (Chaerani y Voorrips, 2006).

El daño fúngico considerado de importancia en el jitomate es la marchitez vascular provocada por *Fusarium oxysporum*, disminuyendo el rendimiento del cultivo con valores críticos del 60% y afectando la calidad de la hortaliza (Agris, 2005).

La hortaliza que es atacada por una gran variedad de patógenos es el jitomate, los daños son generados principalmente por hongos, virus, bacterias, fitoplasmas y nematodos. Los daños se vuelven severos cuando las enfermedades son tratadas a destiempo o no se considera su prevención, llegando a provocar severos daños a la producción incluso provocando la pérdida total del cultivo (Jasso Chaverría C., 2011).

Los hongos atacan el sistema radical ocasionando que las plantas mueran. Referente a las enfermedades provocadas por bacterias, el daño es ocasionado en las hojas y frutos principalmente, situación que puede ocurrir desde el inicio o hasta el final del ciclo de producción (Jasso Chaverría C., 2011).

La plata es conocida por atacar a una amplia gama de procesos biológicos en los microorganismos, (Pal et al 2007, Russell A. D. y Hugo W. B. 1994, Sondi I. y Salopek-Sondi B. 2004, Yamanaka et al 2005, Liu, Z. et al 1994). Por tal motivo la plata se propone como una opción viable para eliminar las enfermedades que atacan el cultivo del tomate.

En esta investigación se plantearon como objetivos:

- La evaluación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) y de la concentración mínima bactericida (CMB) para la enfermedad del tomate provocada por la bacteria *Pseudomonas syringae*.
- La evaluación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) y de la concentración mínima fungicida (CMF) para la enfermedad del tomate provocada por el hongo *Fusarium oxysporum*.

### **Materiales y Método.**

**Síntesis.** La síntesis de nanopartículas de plata se llevó a cabo por medio de una síntesis acuosa la cual se realizó en el laboratorio de materiales de la Facultad de Ciencias de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, tomando 0.17 g de nitrato de plata  $\text{AgNO}_3$  y agua des ionizada, utilizando como agente reductor ácido gálico  $\text{C}_6\text{H}_2(\text{OH})_3\text{COOH}$ , e hidróxido de amonio  $\text{NH}_4\text{OH}$  y se ajustó a pH 10. Se mantuvo en agitación magnética durante todo el procedimiento. La síntesis tuvo una concentración de  $1 \times 10^{-3}\text{M}$ .

### **Caracterización.**

La caracterización de la muestra se hizo realizando espectroscopia UV-vis, también se utilizó DLS (Dynamic light scattering) y Microscopia Electrónica de Transmisión (TEM) para identificar las dimensiones de la partícula.

### **Identificación Microbiológica.**

Los microorganismos *Pseudomonas syringae* y *Fusarium oxysporum*, se aislaron directamente de muestras de tomate y su identificación se llevó a cabo en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias mediante un análisis API.

### **Concentración Mínima Inhibitoria y Concentración Mínima Bactericida.**

Las pruebas de concentración mínima inhibitoria (CMI) y concentración mínima bactericida (CMB) se realizaron por CLSI. *Métodos para Pruebas de Sensibilidad a los antimicrobianos por dilución para bacterias que crecen en condiciones aeróbicas. Estándar aprobado—Octava*

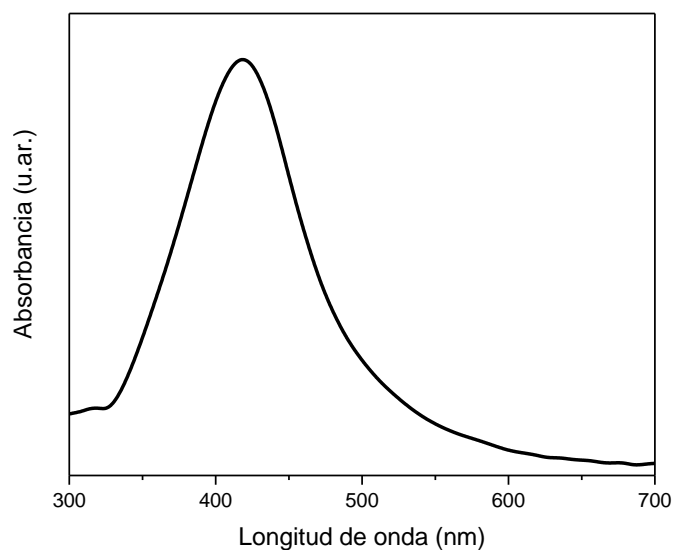
*Edición.* Documento CLSI M07-A8. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2009).

### **Concentración Mínima Inhibitoria y Concentración Mínima Fungicida.**

El procedimiento para estas pruebas fue el descrito por la Asociación Española de Micología en las Pruebas estandarizadas para el estudio de la sensibilidad a los antifúngicos para hongos filamentosos (M38-P).

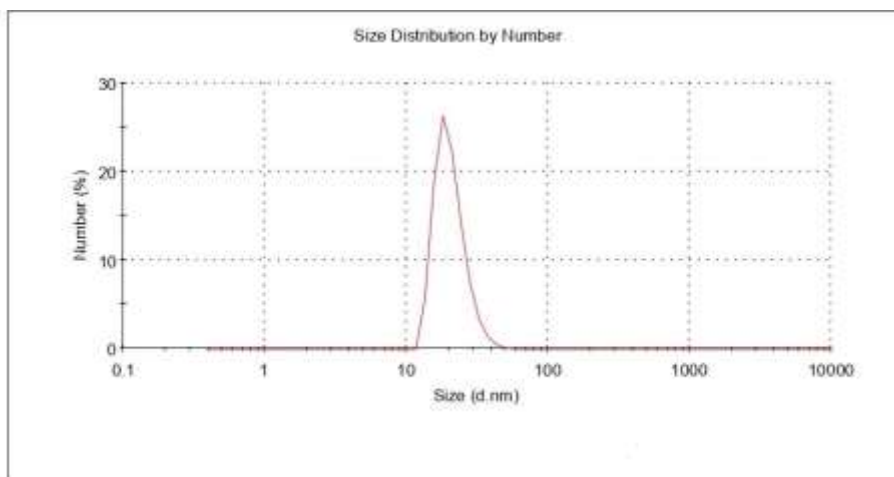
### **Resultados y Discusión.**

El espectro de resonancia UV-Vis se registró para confirmar la existencia de la banda de absorción, la cual es esencial de las nanopartículas de plata, se utilizó el espectrómetro Ocean Optics S2000 (Figura 1).



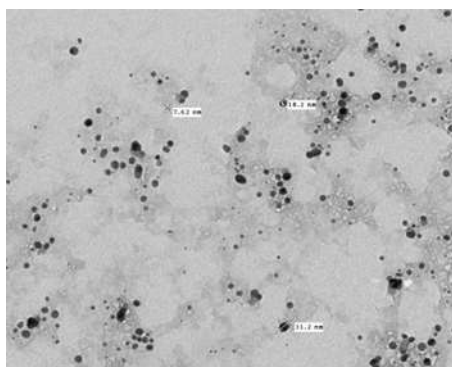
**Figura 1.** Espectro UV-vis de absorción obtenido de la preparación de la muestra.

En la Figura 2 se analizó el tamaño de partícula esto con un equipo de Dispersión de Luz Dinámica Zetasizer Nano ZS modelo Malvern. Las nanopartículas se caracterizaron usando la dispersión acuosa obtenida.



**Figura2.** Gráfico de distribución de tamaño de las nanopartículas de plata.

Para observar y analizar la morfología de las nanopartículas de plata se utilizó un microscopio electrónico de transmisión (TEM) marca JEOL modelo JEM 1230 a un voltaje de aceleración de 100 kV (Figura 3).



**Figura 3.** Imagen de nanopartículas de plata en el Microscopio Electrónico de Transmisión.

Los resultados de las pruebas bacteriológicas CMI y CMB con la bacteria *Pseudomonas syringae* y las nanopartículas de plata preparadas (Figura 4), se realizaron por el Método de Microdilución en Placa NCCLS – CLSI N7 A7 Vol. 26 No. 2 (2006).



**Figura 4.** Micro dilución en placa para CMI y prueba CMB de *Pseudomonas syringae*.

Los resultados de las pruebas CMI y CMF con el hongo *Fusarium oxysporum* y las nanopartículas de plata preparadas (Figura 5), se realizaron por el Método estandar para el estudio de la sensibilidad a los antifúngicos para hongos filamentosos (M38-P)..



**Figura 5.** Microdilución en placa para determinar CMI y prueba CMB de *Fusarium oxysporum*.

En siguiente tabla (tabla 1) se presentan los valores medios de la CMI y CMB para la bacteria *Pseudomonas syringae* y los valores medios de la CMI y CMF para el hongo *Fusarium oxysporum*, estos valores coinciden con los reportados por otros autores para bacterias gram negativa. Partiendo de una concentración de  $1E^{-3}$  M.

**Tabla 1.** Valores medios de la CMI, CMB para *Pseudomonas syringae* y los valores medios de la CMI y CMF para *Fusarium oxysporum*.

Microorganismo	CMI $\mu\text{g/ml}$	CMB $\mu\text{g/ml}$
<i>Pseudomonas syringae</i>	1E-3 Molar	1E-3 Molar
	13.375 $\pm$ 0.00	13.375 $\pm$ 0.00
<i>Fusarium oxysporum</i>	CMI $\mu\text{g/ml}$	CMF $\mu\text{g/ml}$
	1E-3 Molar	1E-3 Molar
	13.375 $\pm$ 0.00	13.375 $\pm$ 0.00

### **Discusión.**

La banda UV-Visible de absorción, obtenida de las nanopartículas de plata se encuentra en aproximadamente 417 nm, para la muestra experimental, este resultado coincide con lo informado por otros autores quienes mencionan que las nanopartículas de plata presentan una banda de absorción en un rango cerca del ultravioleta, entre 400 nm y 430 nm, y que corresponden a plata de tamaño nanométrica (Martínez-Castañón, Niño-Martínez, Martínez-Gutiérrez, Martínez-Mendoza & Ruiz, 2005). En cuanto a las pruebas de sensibilidad realizadas, la plata nanométrica responde como un buen agente antibacterial y anti fúngico coincidiendo con diferentes autores que utilizaron la plata en diferentes pruebas (Sondi I., y Salopek-Sondi B. 2004 y Pal S., Tak Y. K., y Song J. M. 2007).

### **Conclusión.**

Las nanopartículas de plata fueron sintetizadas utilizando un método acuoso de reducción química, se caracterizaron usando UV-vis, TEM y DLS, permitiendo determinar la forma tamaño y disposición de las nanopartículas. Los resultados obtenidos en las pruebas antimicrobianas fueron muy promisorios, demostrando un gran potencial antimicrobiano de las nanopartículas de plata tanto frente a la bacteria como al hongo de interés en el área agroalimentaria.

### **Conflicto de intereses.**

Los autores declaran bajo protesta de decir verdad que no existe conflicto de intereses con respecto a la publicación de este documento.

### **Agradecimientos.**

A las becas de doctorado 733766 y 733623. a la estancia posdoctoral PA-20220720004022434-2911764 por sus aportaciones y colaboraciones.

### **Bibliografía.**

- Agrios, G. N. (2005). Plant pathology. Elsevier.
- Chaerani, R., & Voorrips, R. E. (2006). Tomato early blight (*Alternaria solani*): the pathogen, genetics, and breeding for resistance. *Journal of general plant pathology*, 72, 335-347.
- CLSI. Métodos para Pruebas de Sensibilidad a los antimicrobianos por dilución para bacterias que crecen en condiciones aeróbicas. Estándar aprobado—Octava Edición. Documento CLSI M07-A8. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2009.
- Gobierno del Estado de Veracruz; El cultivo del tomate. Características e importancia a nivel nacional.
- Jasso Chaverría, C. (2011). Guía para cultivar jitomate en condiciones hidropónicas de invernadero en San Luis Potosí (No. 635.64285 I5G8). Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional del Noreste. Campo Experimental San Luis.

- Liu, Z., Stout, J. E., Tedesco, L., Boldin, M., Hwang, C., Diven, W. F., and Yu, V. L. 1994. Controlled evaluation of copper-silver ionization in eradicating *Legionella pneumophila* from a hospital water distribution system. *J. Infect. Dis.* 169:919-922.
- Martínez-Castañón, G. A., Nino-Martinez, N., Martinez-Gutierrez, F., Martínez-Mendoza, J. R., & Ruiz, F. (2008). Synthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles with different sizes. *Journal of nanoparticle research*, 10, 1343-1348.
- Pal, S., Tak, Y. K., and Song, J. M. 2007. Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the Gram-negative bacterium *Escherichia coli*. *Appl. Environ. Microbiol.* 73:1712-1720.
- Pruebas estandarizadas para el estudio de la sensibilidad a los antifúngicos para hongos filamentosos (M38-P)
- Russell, A. D., and Hugo, W. B. 1994. Antimicrobial activity and action of silver. *Prog. Med. Chem.* 31:351-370.
- Servicio de información Agroalimentaria y Pesquera SIAP-SAGARPA 2019
- Sondi, I., and Salopek-Sondi, B. 2004. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: A case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria. *J. Colloid Interface Sci.* 275:177-182.
- Yamanaka, M., Hara, K., and Kudo, J. 2005. Bactericidal actions of a silver ion solution on *Escherichia coli*, studied by energy-filtering transmission electron microscopy and proteomic analysis. *Appl. Environ. Microbiol.* 71:7589-7593