

# Actividad antifúngica *in vitro* de nanopartículas de plata a partir de hojas de *Leea coccinea* L. frente a *Fusarium* spp. y *Penicillium* spp.



<https://cu-id.com/2247/v38e08>

## *In vitro* antifungal activity of silver nanoparticles from *Leea coccinea* L. leaves against *Fusarium* spp. and *Penicillium* spp.

✉ Yanisia Duarte Leal <sup>1\*</sup>, ✉ Benedicto Martínez Coca <sup>1</sup>,  
✉ Annie Rubio Ortega <sup>2</sup>, ✉ María del Carmen Travieso <sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Micología Vegetal, Grupo de Fitopatología. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), Apartado 10, San José de las Lajas, CP 32 700, Mayabeque, Cuba.

<sup>2</sup>Laboratorio de Ecología Química (LEQ), Grupo de Plagas Agrícolas. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), Apartado 10, San José de las Lajas, CP 32 700, Mayabeque, Cuba.

**RESUMEN** : El presente trabajo tuvo como objetivo, determinar la actividad antifúngica de tres lotes de nanopartículas de plata (AgNPs) obtenidas de *Leea coccinea* L., sobre el crecimiento micelial de aislamientos de *Fusarium* spp. y *Penicillium* spp. asociados a semillas de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) y papa (*Solanum tuberosum* L.), y la germinación de esporas de *Fusarium* spp. Se evaluaron siete concentraciones (0,485; 0,242; 0,121; 0,060; 0,030; 0,015 y 0,007 mg/ml) de las suspensiones de AgNPs mediante el método de diluciones seriadas. Se determinó la Concentración Mínima Fungicida (CMF) de las AgNPs frente a los diferentes microorganismos. Los resultados mostraron que la aplicación de las AgNPs fue efectiva en la inhibición del crecimiento de los aislados de *Fusarium* spp. y *Penicillium* spp. Las CMF de las AgNPs de los tres lotes oscilaron entre 0,485- 0,242 mg/ml frente a los agentes fitopatógenos. La inhibición del crecimiento micelial de los fitopatógenos por las AgNPs se incrementó con el aumento de las concentraciones. La suspensión de AgNPs de *L. coccinea* afectó la germinación de esporas de los aislamientos de *F. oxysporum* y *Fusarium* spp. No. 1 en las dos concentraciones más altas (0,485 y 0,242 mg/ml). Se confirmó que a mayor concentración de las AgNPs de *L. coccinea*, mayor fue el efecto antifúngico sobre el crecimiento micelial y germinación de las esporas de los fitopatógenos estudiados. Los resultados obtenidos denotan la potencia de este producto, como alternativa, en el enfrentamiento contra hongos fitopatógenos.

**Palabras clave:** hongos fitopatógenos, AgNPs, inhibición, nanotecnología.

**ABSTRACT:** The objective of this work was to determine the antifungal activity of three batches of AgNPs obtained from *Leea coccinea* L. on mycelial growth of *Fusarium* spp. and *Penicillium* spp. associated with common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and potato (*Solanum tuberosum* L.) seeds and spore germination of *Fusarium* spp. Seven concentrations (0.485, 0.242, 0.121, 0.060, 0.03, 0.015, and 0.007 mg/ml) of the AgNPs suspensions were evaluated using the serial dilution method. The Minimum Fungicide Concentration (MFC) of the AgNPs against the different microorganisms was determined. The results showed that the application of the AgNPs was effective in inhibiting growth of *Fusarium* spp. and *Penicillium* spp. The CMF of the AgNPs from the three batches ranged between 0.485 and 0.242 mg/ml against the phytopathogenic agents. The inhibition of mycelial growth of phytopathogens increased with increasing concentrations. The suspension of AgNPs from *L. coccinea* affected spore germination of the isolates of *F. oxysporum* and *Fusarium* spp. No. 1 in the two highest concentrations (0.485 and 0.242 mg/ml). It was confirmed that the higher the AgNPs concentration, the greater the antifungal effect on mycelial growth and spore germination of the phytopathogens studied. The results obtained denote the efficacy of this product as an alternative in the fight against phytopathogenic fungi.

**Keys words:** phytopathogen fungi, AgNPs, inhibition, nanotechnology.

## INTRODUCCIÓN

Los hongos fitopatógenos ocasionan múltiples enfermedades a las plantas, provocando grandes afectaciones en la producción, los rendimientos y la calidad de los cultivos. Dentro de estos, se encuentran especies pertenecientes a los géneros *Fusarium*, *Penicillium*, *Sclerotium*, *Rhizoctonia*, que dañan los cultivos en campo y almacenamiento. *Fusarium* es uno de los fitopatógenos más generalizados a nivel

mundial, con un impacto negativo en la obtención de productos agrícolas (1).

La papa (*Solanum tuberosum* L.) y el frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) son cultivos de gran importancia económica y resultan muy demandados por la población en todo el mundo. Las semillas suelen verse afectadas por diferentes especies de hongos fitopatógenos, llegando a comprometer la integridad fisiológica del cultivo: marchitez, amarillamiento, pudrición y muerte de las plantas (2).

\*Correspondencia a: Yanisia Duarte Leal. E-mail: [yduarteleal@gmail.com](mailto:yduarteleal@gmail.com)

Recibido: 31/01/2023

Aceptado: 04/04/2023

Para el control de estos agentes fitopatógenos en campo y almacenamiento, se aplican agroquímicos, pero su uso conlleva a la contaminación del medio ambiente, y también provoca daños a la salud humana y animal. Los avances en la nanotecnología, específicamente, en la síntesis de nanopartículas de plata (AgNPs) con propiedades antimicrobianas, proporcionan alternativas prometedoras que pudieran aplicarse en el control de microorganismos fitopatógenos (3).

La actividad antifúngica *in vitro* de AgNPs obtenidas por síntesis verde se notificó sobre *Fusarium oxysporum* Schlechtendahl emend. Snyder & Hansen. Esta se puede identificar por la inhibición del crecimiento del hongo fitopatógeno (4) y/o por la inhibición de la germinación de los conidios de agentes patógenos foliares y de suelo (5). En general, las AgNPs presentan una amplia actividad antimicrobiana; dañan la membrana celular, inhiben la síntesis de proteínas relacionadas con el ATP, generan estrés oxidativo y llegan a reducir la proliferación celular (6).

Recientemente, se informó la síntesis, caracterización y actividad antimicrobiana de AgNPs obtenidas de *L. coccinea* frente a la bacteria fitopatógena *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli* (Smith) Vauterin, con potencialidades como agente antimicrobiano para la protección de semillas (7).

El presente trabajo tuvo como objetivo, determinar la actividad antifúngica de AgNPs obtenidas de *L. coccinea* L., sobre el crecimiento micelial de aislamientos de *Fusarium* spp. y *Penicillium* spp. asociados a semillas de frijol común (*P. vulgaris* L.) y papa (*S. tuberosum* L.), y la germinación de esporas de *Fusarium* spp.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Los experimentos se llevaron a cabo en el laboratorio de Micología vegetal (LMV) del Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), San José de las Lajas, provincia Mayabeque, Cuba. Se utilizaron para esta investigación cinco aislamientos de hongos fitopatógenos: *Fusarium oxysporum*, *Penicillium* spp. No. 1 y 2 de frijol y *Fusarium* spp. No. 1 y 2 de papa, provenientes del cepario del LMV.

Las AgNPs empleadas en el estudio fueron suministradas por el Laboratorio de Ecología Química (LEQ), las cuales se sintetizaron mediante la bio-reducción catiónica a partir de los extractos acuosos de hojas frescas de *L. coccinea* (tres lotes), como fuentes de compuestos reductores, y la solución de nitrato de plata (Merck), como la solución precursora del catión  $Ag^+$  (7). Los estudios de caracterización se realizaron en el Centro de Estudios Avanzados de Cuba (CEA) mediante la Microscopía Electrónica de Barrido (siglas en inglés SEM), métodos espectroscópicos, como la espectrofotometría ultravioleta-visible y la espectroscopia Infrarrojo Transformada de Fourier (siglas en inglés FTIR), así como el método de Difusión de

luz dinámica (siglas en inglés DLS) para la determinación del tamaño de partícula y el potencial Z. Las suspensiones coloidales en estudio contienen AgNPs de forma esférica y diámetros inferiores a 100 nm, con alto grado de aglomeración en el medio acuoso (aglomerados con tamaño de partícula menor de 200 nm y potencial Z menor de - 30 mV).

### Actividad antifúngica de las AgNPs obtenidas de *L. coccinea* sobre el crecimiento micelial de aislamientos de *Fusarium* spp. y *Penicillium* spp.

Para determinar la actividad antifúngica de las AgNPs de *L. coccinea* se utilizó el método de dilución en caldo para hongos filamentosos (M38-A), del Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (CLSI, en inglés) (8). Se evaluaron tres lotes de concentraciones iniciales de 0,97 mg/ml, y se realizaron diluciones en el medio de cultivo Richard líquido para obtener siete concentraciones de AgNPs (0,485; 0,242; 0,121; 0,060; 0,030; 0,015 y 0,007 mg/ml). Para ello, se esterilizó el medio de cultivo Richard líquido [sacarosa (50g/l),  $KNO_3$  (10g/l),  $KH_2PO_4$  (5g/l),  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  (2,5g/l) y  $FeCl_3$  (0,02g/l) para 1L] a 121°C durante 15 min.

Se establecieron 12 tratamientos [1\_ medio de cultivo, 2\_ medio de cultivo + suspensión de hongos fitopatógenos independientemente, 3\_ medio de cultivo + AgNPs (0,97 mg/ml), 4\_ medio de cultivo + control de los tres lotes de AgNPs, 5\_ AgNPs (0,97 mg/ml) + suspensión de hongos fitopatógenos, 6\_ primera concentración (0,485 mg/ml) + suspensión de hongos fitopatógenos, 7\_ segunda concentración (0,242 mg/ml) + suspensión de hongos fitopatógenos, 8\_ tercera concentración (0,121 mg/ml) + suspensión de hongos fitopatógenos, 9\_ cuarta concentración (0,060 mg/ml) + suspensión de hongos fitopatógenos, 10\_ quinta concentración (0,030 mg/ml) + suspensión de hongos fitopatógenos, 11\_ sexta concentración (0,015 mg/ml) + suspensión de hongos fitopatógenos y 12\_ séptima concentración (0,007 mg/ml) + suspensión de hongos fitopatógenos]. A partir del sexto tratamiento se mezclaron las concentraciones de las AgNPs con las suspensiones de cada fitopatógeno separadamente, según el lote (No. 1, 2 y 3) de las AgNPs.

Los inóculos se prepararon, separadamente, a partir del cultivo de los aislamientos de *Fusarium* spp. y *Penicillium* spp. sembrados en tubos de ensayo con medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA, BIO-CEN), y se incubaron a  $28 \pm 1^\circ C$  y oscuridad constante, durante siete días. A los tubos de ensayo con los hongos desarrollados se les añadieron 15 ml de agua destilada estéril y se homogeneizaron en agitador Vortex. Las suspensiones obtenidas se ajustaron con la adición de agua destilada esterilizada hasta la concentración de  $10^6$  esporas  $ml^{-1}$ , determinada en una cámara de Thomas para cada aislamiento.

Seguidamente, se distribuyó en cada tubo de ensayo 1 ml del medio de cultivo Richard líquido, con 1 ml de la suspensión de AgNPs de cada lote, separadamente, y la suspensión de esporas ( $10^6$  esporas  $\text{ml}^{-1}$ ) de cada aislamiento, de manera independiente, según el tratamiento. Se homogeneizaron en un agitador Vortex durante 1 min, y se incubaron a  $28\pm 1^\circ\text{C}$  en una zaranda (130 rpm), durante 72 horas.

Transcurrido este tiempo, se determinó la Concentración Mínima Fungicida (CMF), se sembraron 20  $\mu\text{l}$  de cada tratamiento en placas Petri con medio de cultivo PDA, y se incubaron a  $28\pm 1^\circ\text{C}$  y oscuridad constante, durante 72 horas. La CMF se determinó como el crecimiento o no de cada aislado sobre el medio de cultivo PDA.

### Efecto de tres lotes de AgNPs (*L. coccinea*) sobre la germinación de esporas de aislamientos de *Fusarium* spp.

Para evaluar la eficacia de los tres lotes de las AgNPs sobre la germinación de esporas de los aislamientos de *F. oxysporum* y *Fusarium* spp. No.1, se evaluaron cuatro concentraciones (0,485; 0,242; 0,121 y 0,060 mg/ml). Se esterilizó medio de cultivo Agar agua (20 g/l) a  $121^\circ\text{C}$  durante 15 min, y se vertió en placas Petri de 9 cm de diámetro. La suspensión de esporas de cada aislamiento se preparó a partir de tubos de ensayo contentivos con medio de cultivo PDA con los hongos desarrollados, incubados a  $28\pm 1^\circ\text{C}$  y oscuridad. A los tubos de ensayo se les añadieron 15 ml de agua destilada esterilizada, se homogeneizaron, y la suspensión se filtró en condiciones estériles. Seguidamente, a los tubos de ensayo de cada tratamiento, de forma independiente, se les añadió 0,5 ml de cada suspensión de AgNPs de *L. coccinea* y de la suspensión de esporas fúngicas ( $10^6$  esporas  $\text{ml}^{-1}$ ), y se mezclaron en un agitador Vortex; se incubaron durante 24 h y oscuridad. En el tratamiento control, se mezcló la suspensión de esporas con agua destilada estéril. Transcurrido este tiempo, se sembraron 20  $\mu\text{l}$  de cada tratamiento en placas Petri con medio de cultivo Agar agua, y se distribuyó con una espátula de Drigalsky. Se realizaron tres réplicas por cada tratamiento. Todos los tratamientos se incubaron a  $28\pm 1^\circ\text{C}$  y oscuridad constante, durante 24 h. Posteriormente, se realizó el conteo de las esporas germinadas (100) en un microscopio óptico Zeiss (400/630x).

### Análisis estadístico

Los datos obtenidos se procesaron mediante un análisis de varianza simple y las medias se compararon, según la Dócima de Rangos Múltiples de Duncan ( $p\leq 0,05$ ), utilizando el paquete estadístico Infostat Profesional (9).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Actividad antifúngica de las AgNPs obtenidas de *L. coccinea* sobre el crecimiento micelial de aislamientos de *Fusarium* spp. y *Penicillium* spp.

Las CMF ocasionadas por las suspensiones de los tres lotes de AgNPs de *L. coccinea*, presentaron diferencias entre los lotes y los aislados. Las suspensiones de las AgNPs inhibieron el crecimiento de los aislados de *Fusarium* spp. (Fig. 2), incluido el de *F. oxysporum* (Fig. 1), y el de los aislados de *Penicillium* spp. (Fig. 3) con las concentraciones 0,485- 0,242 mg/ml.

Los valores de CMF de los lotes No. 2 y 3 para el aislado de *F. oxysporum* coincidieron en 0,485 mg/ml; mientras que, en el lote No. 1 la CMF fue inferior a esta, con valor de 0,242 mg/ml (Fig. 1). El efecto inhibitorio de las AgNPs sobre el crecimiento micelial de los fitopatógenos se incrementó con las concentraciones.

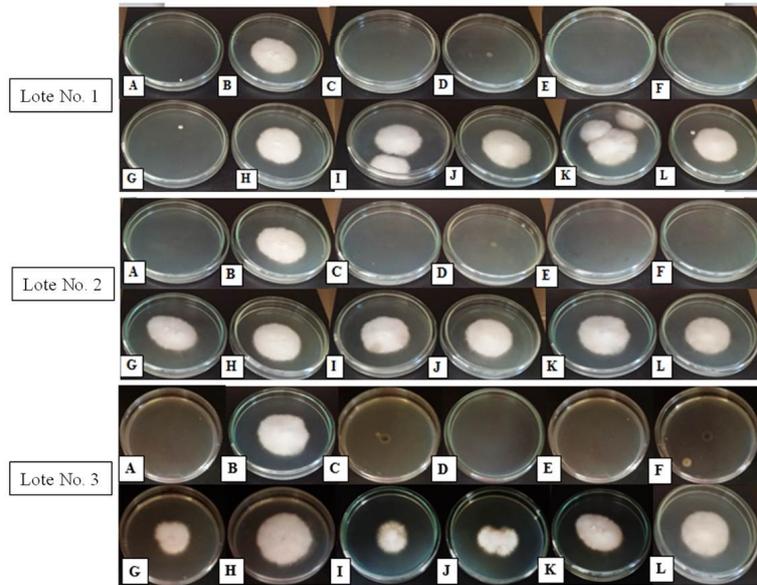
De manera similar, Álvarez-Carvajal *et al.* (10) informaron el incremento del efecto antifúngico *in vitro* de las AgNPs sobre *F. oxysporum*, a medida que la concentración fue mayor de 1,5-2 mg/ml con un 70-74 % de inhibición del crecimiento del fitopatógeno, respectivamente.

Elamawi y Al-Harbi (11), comunicaron que las nanopartículas de plata reducen la formación de la colonia de *F. oxysporum*, agente causal de la pudrición de las semillas del frijol faba (*Vicia faba* L.), tomate (*S. lycopersicum*) y cebada (*Hordeum vulgare* L.). Por su parte, Win *et al.* (12), informaron el fuerte efecto antifúngico de una suspensión de AgNPs frente a aislamientos de *F. oxysporum*, *Fusarium moniliforme* (Sacc.) Nirenberg, *Fusarium tricinctum* (Corda) Sacc. y *Alternaria* sp.

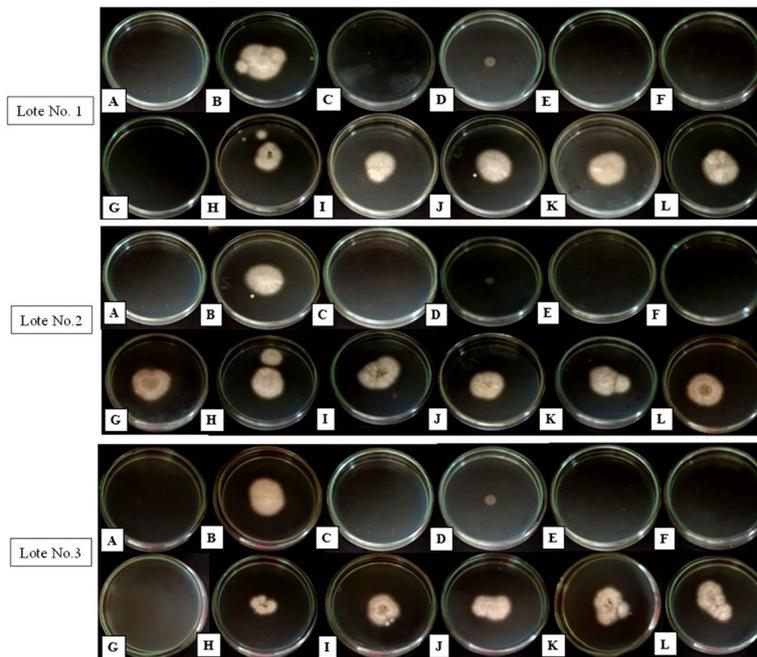
En los aislados de *Fusarium* spp. No. 1 y 2 provenientes de muestras de papa, los valores de las CMF para los lotes No. 1 y 3 coincidieron en 0,242 mg/ml. Esta CMF para el lote No.1 coincidió con la obtenida sobre *F. oxysporum*. En el lote No. 2, el valor de la CMF para el aislado de *Fusarium* spp. No. 1 fue superior (0,485 mg/ml) a la obtenida con el aislado de *Fusarium* spp. No. 2 con 0,242 mg/ml. (Fig. 2)

Resultados similares presentaron Elamawi *et al.* (13), quienes notificaron la actividad antifúngica de las AgNPs frente a *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg y *Fusarium moniliforme* (Sacc.) Nirenberg. En este estudio, las nanopartículas se aplicaron a diferentes temperaturas (25, 28 y  $33^\circ\text{C}$ ), y en tiempos de incubación (0-120 h), observándose la mayor inhibición a  $28^\circ\text{C}$ , durante 72 h.

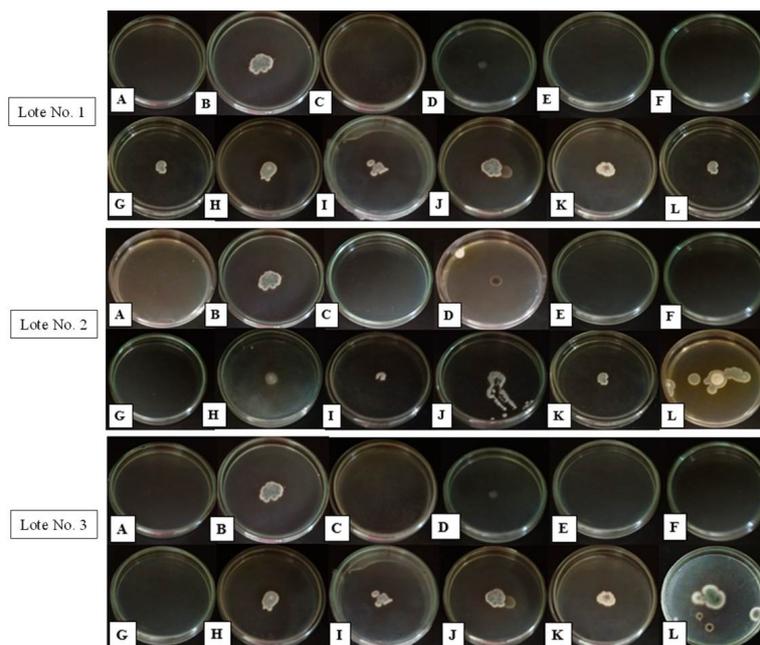
En los aislados de *Penicillium* spp., las AgNPs de los lotes No. 2 y 3 inhibieron el crecimiento con el valor de CMF de 0,242 mg/ml (Fig. 3). En el lote No.1, la CMF fue superior 0,485 mg/ml para los dos aislados de este género.



**Figura 1.** Efecto de la AgNPs (Lotes No. 1, 2 y 3) de *L. coccinea* frente a *F. oxysporum* de frijol sobre medio de cultivo PDA. A-control del medio de cultivo Richard. B-control del crecimiento de *F. oxysporum* en medio Richard. C- medio Richard más la suspensión de AgNPs (0,97 mg/ml). D- medio Richard más el control de los lotes de AgNPs. E-suspensión de AgNPs más suspensión de *F. oxysporum*. F-L- Concentraciones de las AgNPs (0,485; 0,242; 0,121; 0,060; 0,030; 0,015 y 0,007 mg/ml). / *Effect of AgNPs (Batches No. 1, 2, and 3) of L. coccinea against F. oxysporum from common bean on PDA culture medium. A-control of Richard's culture medium . B-control of F. oxysporum growth in Richard's medium. C-Richard's medium plus AgNPs suspension (0.97 mg/ml). D- Richard's medium plus control of AgNPs batches . E-suspension of AgNPs plus suspension of F. oxysporum. F-L- AgNPs concentrations (0.485, 0.242, 0.121, 0.060, 0.030, 0.015, and 0.007 mg/ml).*



**Figura 2.** Efecto de la AgNPs (Lotes No. 1, 2 y 3) de *L. coccinea* frente a *Fusarium* spp. No. 1 de papa sobre medio de cultivo PDA. A-control del medio de cultivo Richard. B-control del crecimiento de *Fusarium* spp. No. 1 en medio Richard. C- medio Richard más la suspensión de AgNPs (0,97 mg/ml). D- medio Richard más el control de los lotes de AgNPs. E-suspensión de AgNPs más suspensión de *Fusarium* spp. No. 1. F-L- Concentraciones de las AgNPs (0,485; 0,242; 0,121; 0,060; 0,030; 0,015 y 0,007 mg/ml). / *Effect of AgNPs (Batches No. 1, 2, and 3) of L. coccinea against Fusarium No. 1 from potato on PDA culture medium. A-control of Richard's culture medium. B-control of growth of Fusarium No. 1 in Richard's medium. C- Richard's medium plus AgNPs suspension (0.97 mg/ml). D- Richard's medium plus control of AgNPs batches. E-suspension of AgNPs plus suspension of Fusarium No. 1. F-L- AgNPs concentrations (0.485, 0.242, 0.121, 0.060, 0.030, 0.015, and 0.007 mg/ml).*



**Figura 3.** Efecto de la AgNPs (Lotes No. 1, 2 y 3) de *L. coccinea* frente a *Penicillium* spp. No. 1 de frijol sobre medio de cultivo PDA. A-control del medio de cultivo Richard. B-control del crecimiento de *Penicillium* spp. No. 1 en medio Richard. C- medio Richard más la suspensión de AgNPs (0,97 mg/ml). D- medio Richard más el control de los lotes de AgNPs. E-suspensión de AgNPs más suspensión de *Penicillium* spp. No. 1. F-L- Concentraciones de las AgNPs (0,485; 0,242; 0,121; 0,060; 0,030; 0,015 y 0,007 mg/ml). / *Effect of AgNPs (Batches No. 1, 2, and 3) of L. coccinea against Penicillium* spp. No. 1 from common bean on PDA culture medium. A-control of Richard's culture medium. B-control of *Penicillium* spp. No. 1 growth in Richard's medium. C- Richard's medium plus AgNPs suspension (0.97 mg/ml). D- Richard medium plus control of AgNPs batches. E-suspension of AgNPs plus suspension of *Penicillium* spp. No. 1. F-L- AgNPs concentrations (0.485, 0.242, 0.121, 0.060, 0.030, 0.015, and 0.007 mg/ml).

Los resultados en esta investigación tienen similitud con los notificados por Al-Zubaidi *et al.* (14), quienes informaron que al enfrentar AgNPs con aislamientos de *F. oxysporum* y *Penicillium digitatum* (Pers.) Sacc., se observó que las AgNPs inhibieron el crecimiento de los fitopatógenos.

Por su parte, Abdelmalek y Salaheldin (15), notificaron la acción de tres concentraciones (0,05; 0,1 y 0,150 mg/ml) de las nanopartículas de plata (AgNPs) frente a tres aislamientos [*Alternaria alternata* (Fr.) Keissl., *Alternaria citri* Ellis & N. Pierce y *Penicillium digitatum* (Pers) Sacc.] de muestras de cítricos. El estudio reveló que la concentración 0,150 mg/ml de AgNPs mostró una fuerte actividad antifúngica sobre los fitopatógenos. Por su parte, Mansoor *et al.* (16), anunciaron el efecto antifúngico de las AgNPs sobre el crecimiento de patógenos como: *Aspergillus fumigatus* Fresenius, *Aspergillus niger* P.E.L van Teghem, *Aspergillus flavus* Link, *Trichophyton rubrum* Malmsten, *Candida albicans* (C. P. Robin) Berkhout y *Penicillium* sp.

### Efecto de tres lotes de AgNPs a partir de *L. coccinea* sobre la germinación de esporas de aislamientos de *Fusarium* spp.

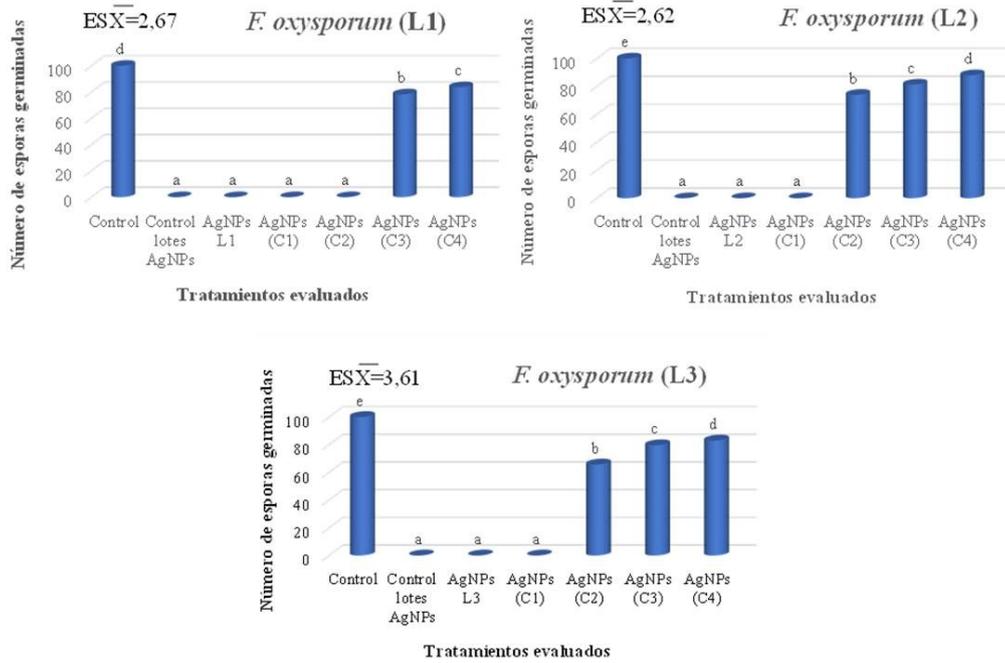
Las suspensiones de AgNPs de los tres lotes inhibieron la germinación de las esporas de los aisla-

dos de *Fusarium* spp. a las concentraciones 0,485 y 0,242 mg/ml. La formación de conidios del aislado de *F. oxysporum* se inhibió con la suspensión de AgNPs (C1-0,485 mg/ml) de los lotes No. 2 y 3, y la suspensión de AgNPs L1 (0,97 mg/ml), con diferencias significativas con el resto de las concentraciones, en comparación con el control (Fig. 4).

La suspensión de AgNPs perteneciente al lote No.1 ejerció un fuerte efecto antifúngico en la germinación de las esporas de *F. oxysporum* con las dos primeras concentraciones (C1-0,485 mg/ml y C2-0,242 mg/ml) y la suspensión de AgNPs L1 (0,97 mg/ml), con diferencias con las restantes concentraciones, en comparación con el control (Fig. 4).

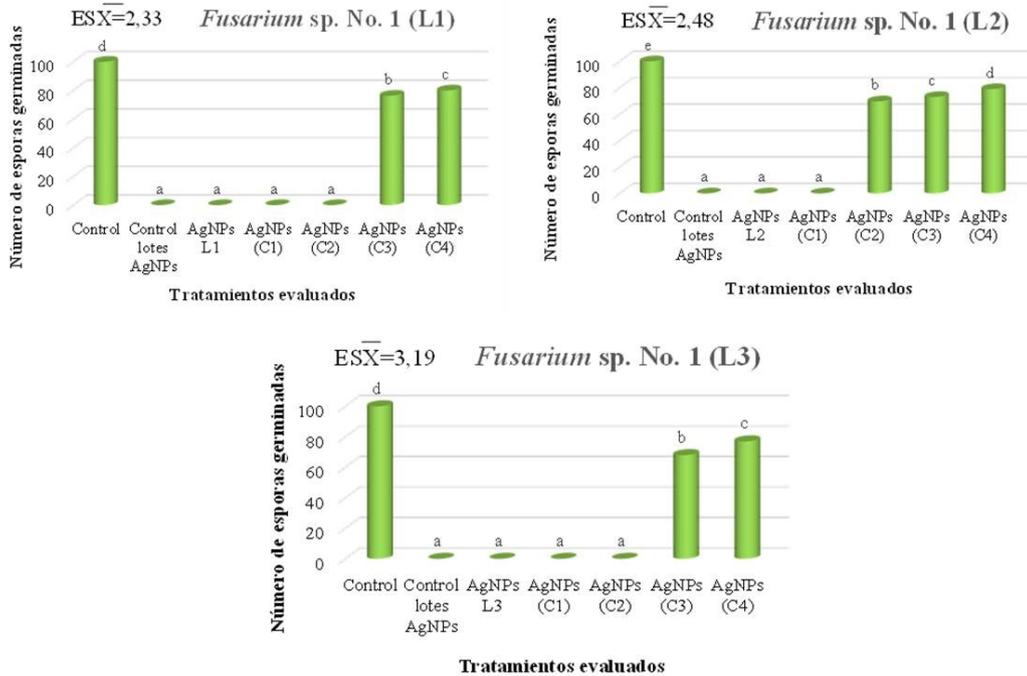
Mishra *et al.* (5), notificaron la actividad antifúngica de diferentes concentraciones (2, 4, 10  $\mu$ g/ml) de AgNPs frente a patógenos foliares y del suelo. El estudio reveló el efecto inhibitorio de las AgNPs sobre la germinación de los conidios en condiciones *in vitro*.

La germinación de esporas del aislado de *Fusarium* spp. No. 1, se inhibió con la suspensión de AgNPs L1 y L3 (0,97 mg/ml) y las dos primeras concentraciones (C1-0,485 y C2-0,242 mg/ml) de las soluciones de los lotes No. 1 y 3, con diferencias con las restantes, en comparación con el control (Fig. 5). En las suspensiones pertenecientes al lote No. 2, la primera concentración (C1-0,485 mg/ml) y la suspensión de



Medias con letras diferentes difieren significativamente, según Duncan ( $p \leq 0,05$ )

**Figura 4.** Efecto de las AgNPS sintetizadas a partir del extracto acuoso de hojas frescas de *L. coccinea* sobre la germinación de esporas de *F. oxysporum*. L1 (Lote 1), L2 (Lote 2), L3 (Lote 3), AgNPs L1, L2, L3 (0,97 mg/ml), C1 (0,485 mg/ml), C2 (0,242 mg/ml), C3 (0,121 mg/ml) y C4 (0,060 mg/ml). / Effect of AgNPS synthesized from the aqueous extract of fresh leaves of *L. coccinea* on germination of *F. oxysporum* spores. L1 (Batch 1), L2 (Batch 2), L3 (Batch 3), AgNPs L1, L2, L3 (0.97 mg/ml), C1 (0.485 mg/ml), C2 (0.242 mg/ml), C3 (0.121 mg/ml,) and C4 (0.060 mg/ml).



Medias con letras diferentes difieren significativamente, según Duncan ( $p \leq 0,05$ )

**Figura 5.** Efecto de las AgNPS sobre la germinación de esporas de *Fusarium sp. No. 1*. L1 (Lote 1), L2 (Lote 2), L3 (Lote 3), AgNPs L1, L2, L3 (0,97 mg/ml), C1 (0,485 mg/ml), C2 (0,242 mg/ml), C3 (0,121 mg/ml) y C4 (0,060 mg/mL). / Effect of AgNPS on the germination of *Fusarium sp. No. 1* spores. L1 (Batch 1), L2 (Batch 2), L3 (Batch 3), AgNPs L1, L2, L3 (0.97 mg/ml), C1 (0.485 mg/ml), C2 (0.242 mg/ml), C3 (0.121 mg/ml,) and C4 (0.060 mg/ml).

AgNPs L2 (0,97 mg/ml) impidieron la germinación del fitopatógeno, con diferencias con el resto de las concentraciones. (Fig. 5)

Numerosos estudios correlacionan las propiedades físicas y químicas (tamaño de partícula, forma, estructura, pH, carga superficial, entre otras), con la actividad antimicrobiana de las AgNPs (17), demostrándose la influencia de estas propiedades en el efecto sobre las células microbianas.

Las nanopartículas de plata pueden ocasionar modificaciones en la estructura de las hifas, deformaciones de la pared celular, desintegración de la membrana, alteraciones significativas en la forma y germinación de las esporas y ruptura del equilibrio osmótico (18).

La CMF (0,242 mg/ml) de la suspensión de AgNPs sintetizadas a partir del extracto acuoso de hojas frescas de *L. coccinea* provocó la inhibición antifúngica de los hongos fitopatógenos en un 66,7 %. Las concentraciones 0,485 y 0,242 mg/ml afectaron la germinación de esporas de los aislamientos de *F. oxysporum* (frijol común) y *Fusarium* spp. No. 1 (papa). Se confirmó que a mayor concentración de las AgNPs de *L. coccinea*, mayor fue el efecto antifúngico sobre el crecimiento micelial y germinación de las esporas de los fitopatógenos estudiados, lo que denota la potencia de este producto como alternativa en el enfrentamiento contra hongos fitopatógenos.

## REFERENCIAS

1. Akpınar I, Unal M, Sar T. Potential antifungal effects of silver nanoparticles (AgNPs) of different sizes against phytopathogenic *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (FORL) strains. SN Applied Sciences. 2021;3:506. DOI: [10.1007/s42452-021-04524-5](https://doi.org/10.1007/s42452-021-04524-5)
2. Martínez de la Parte E, Cantillo T, García D. Hongos asociados a semillas de *Phaseolus vulgaris* L. cultivadas en Cuba. Biot Veg. 2014;14(2):99–105.
3. Esquivel-Figueroa RC, Mas-Diego SM. Síntesis biológica de nanopartículas de plata: revisión del uso potencial de la especie *Trichoderma*. Rev Cub Quím. 2021;33(2):23–45.
4. Ahmad M, Ali A, Ullah Z, Sher H, Dai D-Q, Ali M, et al. Biosynthesized silver nanoparticles using *Polygonatum geminiflorum* efficiently controls fusarium wilt disease of tomato. Front Bioeng Biotechnol. 2022;10:988607. DOI: [10.3389/fbioe.2022.988607](https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.988607)
5. Mishra S, Singh BR, Naqvi AH, Singh H. Potential of biosynthesized silver nanoparticles using *Stenotrophomonas* sp. BHU-S7 (MTCC 5978) for management of soil-borne and foliar phytopathogens. Sci Rep. 2017;7:45154. DOI: [10.1038/srep45154](https://doi.org/10.1038/srep45154)
6. Matras E, Gorczyca A, Wojciech S, Oćwieja M. Surface properties-dependent antifungal activity of silver nanoparticles. Sci Rep. 2022;12:18046. DOI: [10.1038/s41598-022-22659-2](https://doi.org/10.1038/s41598-022-22659-2)
7. Travieso MC, Rubio OA, Alvarez PB, Corzo LM, Díaz PL, Acosta ME, et al. Biosynthesis of fluorescent silver nanoparticles from *Leea coccinea* leaves and their antibacterial potentialities against *Xanthomonas phaseoli* pv *phaseoli*. Bioresour Bioprocess. 2021;8(1):3. DOI: [10.1186/s40643-020-00354-2](https://doi.org/10.1186/s40643-020-00354-2)
8. Procop GW, Dufresne PJ, Berkow E, Cullen SK, Fuller J, Hanson KG, et al. CLSI. Performance Standards for Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi. 3rd ed. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2022. (CLSI supplement M38M51S).
9. Di Rienzo J, Balzarini M, González L, Tablada M, Guzmán W, Robledo C, et al. InfoStat Profesional versión 2.1. Argentina: Universidad Nacional de Córdoba; 2016.
10. Alvarez-Carvajal F, Gonzalez-Soto T, Armenta-Calderón AD, Méndez Ibarra R, Esquer-Miranda E, Juárez J, et al. Silver nanoparticles coated with chitosan against *Fusarium oxysporum* causing the tomato wilt. Biotecnia. 2020;XXII(3):73–80. DOI: [10.18633/biotecnia.v22i3.952](https://doi.org/10.18633/biotecnia.v22i3.952)
11. Elamawi RM, Al-Harbi RE. Effect of biosynthesized silver nanoparticles on *Fusarium oxysporum* fungus the cause of seed rot disease of faba bean, tomato and barley. J Plant Prot Path Mansoura Univ. 2014;1(12):991–1007. DOI: [10.21608/jppp.2014.87901](https://doi.org/10.21608/jppp.2014.87901)
12. Win T, Khan S, Fu P. Fungus- (*Alternaria* sp.) Mediated Silver Nanoparticles Synthesis, Characterization, and Screening of Antifungal Activity against Some Phytopathogens. J Nanotechnol. 2020;2020:1–9. DOI: [10.1155/2020/8828878](https://doi.org/10.1155/2020/8828878)
13. Elamawi RM, Al-Harbi RE, Hendi AA. Biosynthesis and characterization of silver nanoparticles using *Trichoderma longibrachiatum* and their effect on phytopathogenic fungi. Egypt J Biol Pest Control. 2018;28(1):28. DOI: [10.1186/s41938-018-0028-1](https://doi.org/10.1186/s41938-018-0028-1)
14. Al-Zubaidi S, Al-Ayafi A, Abdelkader H. Biosynthesis, Characterization and Antifungal Activity of Silver Nanoparticles by *Aspergillus niger* Isolate. J Nanotechnol Res. 2019;1(1):023–36. DOI: [10.26502/jnr.2688-8521002](https://doi.org/10.26502/jnr.2688-8521002)
15. Abdelmalek GAM, Salaheldin AT. Silver Nanoparticles as a Potent Fungicide for Citrus Phytopathogenic Fungi. J Nanomed Res. 2016;3(5):1–8. DOI: [10.15406/jnmr.2016.03.00065](https://doi.org/10.15406/jnmr.2016.03.00065)
16. Mansoor S, Zahoor I, Baba TR, Padder SA, Bhat ZA, Koul AM, et al. Fabrication of Silver Nanoparticles Against Fungal Pathogens. Nanotechnol. 2021;3:679358. DOI: [10.3389/fna.no.2021.679358](https://doi.org/10.3389/fna.no.2021.679358)

17. Ali MA, Ahmed T, Wu W, Hossain A, Hafeez R, Masum MI, et al. Advancements in Plant and Microbe-Based Synthesis of Metallic Nanoparticles and Their Antimicrobial Activity against Plant Pathogens. *Nanomater.* 2020;10:1146. DOI: [10.3390/nano10061146](https://doi.org/10.3390/nano10061146)
18. Kumari M, Giri VP, Pandey S, Kumar M, Katiyar R, Nautiyal CS, et al. An insight into the mechanism of antifungal activity of biogenic nanoparticles than their chemical counterparts. *Pestic Biochem Physiol.* 2019;157:45–52. DOI: [10.1016/j.pestbp.2019.03.005](https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2019.03.005)

**Declaración de conflicto de intereses:** Los autores declaran no tener conflicto de intereses

**Contribución de los autores:** Yanisia Duarte Leal **Análisis formal. Investigación. Metodología. Visualización. Escritura - borrador original. Redacción (revisión y edición).** Benedicto Martínez Coca **Análisis formal. Metodología. Redacción (revisión y edición).** María del Carmen Travieso **Metodología. Recursos. Redacción (revisión y edición).** Annie Rubio Ortega **Investigación. Metodología. Redacción (revisión y edición).**

Este artículo se encuentra bajo licencia [Creative Commons Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional \(CC BY-NC 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)