

Nanopartículas de óxido de zinc-plata sintetizadas con extractos vegetales contra *Alternaria solani*

Luis Gerardo Sarmiento-López¹

Joaquín Antonio Merlín-Trujillo²

Hermila Trinidad García-Osuna²

Luis Alfonso García-Cerda³

Ileana Vera-Reyes^{4,§}

1 Unidad de Investigación en Ambiente y Salud-Universidad Autónoma de Occidente. Unidad Regional Los Mochis, Sinaloa, México. CP. 81223. (lialuisg07@gmail.com).

2 Departamento de Fitomejoramiento-Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Calz. Antonio Narro núm. 1923, Saltillo, Coahuila, México. CP. 25315. (merlintrujillojoa@gmail.com; hgosuna@gmail.com).

3 Departamento de Materiales Avanzados-Centro de Investigación en Química Aplicada. Blvd. Enrique Reyna Hermosillo 140, Saltillo, Coahuila, México. CP. 25294. (luis.garcia@ciqa.edu.mx).

4 Departamento de Biociencias y Agrotecnología-Centro de Investigación en Química Aplicada. Blvd. Enrique Reyna Hermosillo 140, Saltillo, Coahuila, México. CP. 25294.

Autor para la correspondencia: ileana.vera@ciqa.edu.mx.

Resumen

El control de patógenos ha sido tradicionalmente abordado mediante el uso de fungicidas sintéticos, generando efectos adversos al medio ambiente y los sistemas de producción agrícola. En contraste, los extractos vegetales contienen compuestos bioactivos que modulan el desarrollo de fitopatógenos. Además, su efecto sinérgico con nanopartículas ofrece una estrategia prometedora y sostenible para su aplicación en la agricultura. El objetivo fue utilizar extractos de plantas de *Florensia cernua*, *Larrea tridentata* y *Lippia graveolens* para sintetizar nanopartículas de zinc y zinc-plata y evaluar su efecto antimicótico contra *Alternaria solani*. Las nanopartículas sintetizadas a 400 °C a partir de cada extracto presentaron tamaños de partícula inferiores a 30 nm y una morfología irregular semiesférica, lo cual fue confirmado mediante técnicas de difracción de rayos X y microscopía de barrido electrónico. El mejor efecto de inhibición y la mayor reducción en la producción de esporas de las cepas se observó con las nanopartículas generadas utilizando 1 000 mg L⁻¹ del extracto de *L. graveolens*, las cuales inhibieron el 65% del crecimiento y redujeron en un 66% la producción de esporas en comparación con el control. La adición de plata a las nanopartículas mejoró significativamente la capacidad para inhibir la producción de esporas, alcanzó un 78% de inhibición. Estos resultados sugirieron que las nanopartículas de zinc y zinc-plata, obtenidas a partir de extractos vegetales, representan una alternativa prometedora para el control de hongos fitopatógenos, contribuyen a la reducción del impacto ambiental asociado con el uso excesivo de fungicidas sintéticos.

Palabras clave:

Antifungicos, nanopartículas de zinc, nanopartículas de zinc-plata.

Introducción

Las enfermedades fúngicas son responsables de las pérdidas en la producción agrícola mundial, es una de las principales amenazas para la seguridad alimentaria global. Se estima que entre el 10-16% de la producción agrícola mundial se pierde anualmente debido a infecciones fúngicas, lo que representó pérdidas económicas superiores a los 200 000 millones de dólares (Sbai *et al.*, 2024). Los hongos fitopatógenos no solo afectan los rendimientos, sino también la calidad de los cultivos, lo que tiene un impacto directo en el suministro de alimentos y en la economía agrícola global.

Entre los patógenos más agresivos se encuentran especies como *Botrytis cinerea*, *Sclerotium rolfsii*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Alternaria alternata*, *Alternaria solani* y *Fusarium* spp. que afectan la productividad de cultivos de alto valor comercial, como la soya, el frijol, el trigo, el maíz, el arroz y el tomate (Ahmad *et al.*, 2024; Kumar *et al.*, 2024). El control de estas enfermedades ha dependido tradicionalmente del uso prolongado de productos químicos, pesticidas, fungicidas y fertilizantes, que, si bien han sido efectivos, ahora se sabe que su uso excesivo favorece la aparición de cepas resistentes, lo que compromete la efectividad de los tratamientos y obliga a los agricultores a recurrir a dosis más altas o a la utilización de compuestos más tóxicos ocasionando daños a seres humanos y animales (Chandrasekaran y Paramasivan, 2024).

Estos problemas subrayan la necesidad urgente de explorar alternativas más sostenibles para el manejo de enfermedades fúngicas en la agricultura. La nanotecnología es un área emergente que brinda herramientas innovadoras para la protección de los cultivos frente a los hongos fitopatógenos. Las nanopartículas (NPs), específicamente las de metales como la plata (NPs Ag), el cobre (NPs Cu) y el zinc (NPs Zn), han demostrado una actividad antimicrobiana notable debido a sus propiedades únicas derivadas de su tamaño en escala nanométrica.

Estas NPs tienen una alta relación superficie-volumen, lo que les confiere una capacidad excepcional para interactuar con las células fúngicas y liberar iones y cationes metálicos bioactivos, como la plata (Ag^+) y el zinc (Zn^{2+}), que son responsables de su actividad antimicrobiana (Moradi *et al.*, 2021). Estas partículas actúan a través de diversos mecanismos, que incluyen la alteración de la permeabilidad de la membrana celular, la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS), la desnaturalización de proteínas clave y la fragmentación del ADN, lo que conduce a la muerte celular fúngica (Zhang *et al.*, 2024).

Por ejemplo, en un estudio reciente, Chen *et al.* (2022) demostraron que la aplicación de nanopartículas de cobre (NPsCu) confiere resistencia en plantas de tabaco frente a la infección por *Phytophthora nicotianae* mediante el aumento de la concentración intracelular de ROS y la activación de enzimas antioxidantes. Asimismo, estudios realizados por Guilger-Casagrande y de Lima (2021) demostraron que la aplicación de nanopartículas de zinc (NPsZn) inhibió el crecimiento de *Fusarium equiseti* tanto en condiciones *in vitro* como en cultivos de *S. lycopersicum* bajo condiciones de campo, posiblemente mediante el intercambio iónico entre las nanopartículas y las células fúngicas, lo que altera su equilibrio iónico, reduciendo el crecimiento del patógeno.

Además de su acción directa sobre los patógenos, las NPsAg y NPsZn tienen la capacidad de inhibir la formación de biofilms fúngicos, estructuras multicelulares altamente resistentes a los fungicidas tradicionales lo que mejora su capacidad para erradicar las infecciones en diversos cultivos agrícolas (Rosenberg *et al.*, 2020). Interesantemente, los extractos vegetales, ricos en compuestos bioactivos como flavonoides, alcaloides, terpenoides y fenoles, actúan como estabilizadores y potenciadores de las propiedades antimicrobianas de las NPs.

Diversos estudios han demostrado que los extractos vegetales tienen una acción sinérgica con las NPs, potenciando sus efectos antimicrobianos en patógenos de importancia agrícola como *Fusarium oxysporum*, *Colletotrichum gloeosporioides* y *Alternaria alternata* (Ali *et al.*, 2020). Esta combinación de extractos vegetales con nanopartículas metálicas no solo aumenta la eficiencia del control de enfermedades fúngicas, sino que también reduce el impacto ambiental, al ser una opción más ecológica y menos tóxica en comparación con los métodos tradicionales que utilizan compuestos sintéticos.

El objetivo de este estudio fue evaluarla síntesis de nanopartículas de óxido de zinc (NPsZnO) y óxido de zinc-plata (NPZnO+Ag) en sinergia con extractos vegetales de *Flourensia cernua*, *Lippia graveolens* y *Larrea Tridentata* y analizar su potencial antimicótico contra *Alternaria solani* mediante pruebas *in vitro*.

Materiales y métodos

Material vegetal

Se colectaron hojas y tallo de *Flourensia cernua* D. C. (Hojasén), *Lippia graveolens* HBK (orégano) y *Larrea Tridentata* D. C. (gobernadora) de los municipios de Arteaga y Saltillo, Coahuila durante la primavera-verano 2021. El material vegetal se secó a una temperatura de 70 °C por 24 h. Posteriormente, el material fue pulverizado con ayuda de una licuadora, éste se guardó en bolsas plásticas en oscuridad y un lugar libre de humedad hasta su uso como materia prima en la preparación de extractos empleados en la síntesis de nanopartículas.

Preparación del extracto acuoso

Para la extracción de metabolitos secundarios de las tres muestras de plantas se siguió la metodología propuesta por Méndez-Andrade *et al.* (2022), se tomaron 10 g de la muestra y se realizó un método de decocción a 60 °C por 1 h. Posteriormente, el extracto se filtró mediante papel filtro para eliminar los restos vegetales, recolectando el sobrenadante. Se efectuó una segunda filtración utilizando un embudo de filtro poroso de 22 micras, recolectando el filtrado que se almacenó a 4 °C hasta su uso. El extracto se preparaba fresco y no se almacenaba por más de siete días para evitar la degradación de los compuestos bioactivos.

Síntesis de nanopartículas

La preparación se realizó de acuerdo a la metodología reportada por (Muñoz-Ordoñez Idali, 2020). Se preparó una solución 0.5 M de nitrato de zinc la cual se mezcló con en el extracto acuoso de las plantas descrito anteriormente. La mezcla se mantuvo a 90 °C en agitación constante hasta conseguir una pasta (el tiempo de reacción era menor a 30 min). Para obtener las NPZnO/Ag se adicionó a la solución de nitrato de zinc al 1% (p/p) de nitrato de plata. La pasta obtenida se dejó enfriar, y se transfirió a un crisol de porcelana para dejar a 80 °C por 12 h.

Posteriormente, las muestras se sometieron a un tratamiento térmico a 400 °C durante 1 h en una mufla. Los patrones de difracción de rayos X (DRX) de las nanopartículas (NP) se obtuvieron utilizando un difractómetro Rigaku Ultima IV con una fuente de radiación CuK α , operado a 44 mA y 40 kV, en un rango de barrido de 10 a 80° en escala 2 θ , a una velocidad de 0.02° s⁻¹. Las fases cristalinas presentes en la muestra se identificaron mediante la comparación de los patrones obtenidos con los patrones estándar de la base de datos del International Centre for Diffraction Data (ICDD).

El tamaño de cristalita se determinó utilizando la ecuación de Scherrer (Cullity, 1956) con los patrones de difracción obtenidos de cada muestra, utilizando el software Jade 6. Además, la morfología de las nanopartículas se analizó mediante microscopía electrónica de barrido (SEM).

Actividad antifúngica

Para evaluar la actividad antifúngica de las nanopartículas de óxido de zinc (NPsZnO) y de óxido de zinc con plata (NPZnO/Ag) contra *A. solani*, se utilizó la metodología de medio envenenado descrita por Vera-Reyes *et al.* (2019). En este estudio, se trabajó con las siguientes concentraciones: 0, 150, 250, 500 y 1 000 mg L⁻¹. Se preparó medio agar papa dextrosa (PDA) adicionado con extracto de malta y extracto de levadura, el cual se esterilizó en autoclave a 121 °C durante 15 min.

Simultáneamente, se preparó una solución de nanopartículas disueltas en 10 ml de agua destilada estéril y se sometió a un proceso de sonicación en tres ciclos de 15 min. Tras la esterilización del medio PDA, se añadió la solución de nanopartículas previamente sonicadas, se agitó brevemente para homogenizar la mezcla con el medio y luego se vació en cajas Petri para su posterior uso en los ensayos antifúngicos.

Para el establecimiento del ensayo, los hongos se inocularon mediante explantes en los medios y se incubaron a 27 °C durante 10 días. El parámetro evaluado fue el diámetro de crecimiento radial, que se midió con un vernier para calcular el porcentaje de inhibición utilizando la fórmula descrita por Orberá-Ratón *et al.* (2009). Para cuantificar el efecto sobre la producción de esporas de los hongos, se siguió el procedimiento descrito por Bustillo (2010). Los ensayos se realizaron por triplicado y se llevaron a cabo dos experimentos independientes.

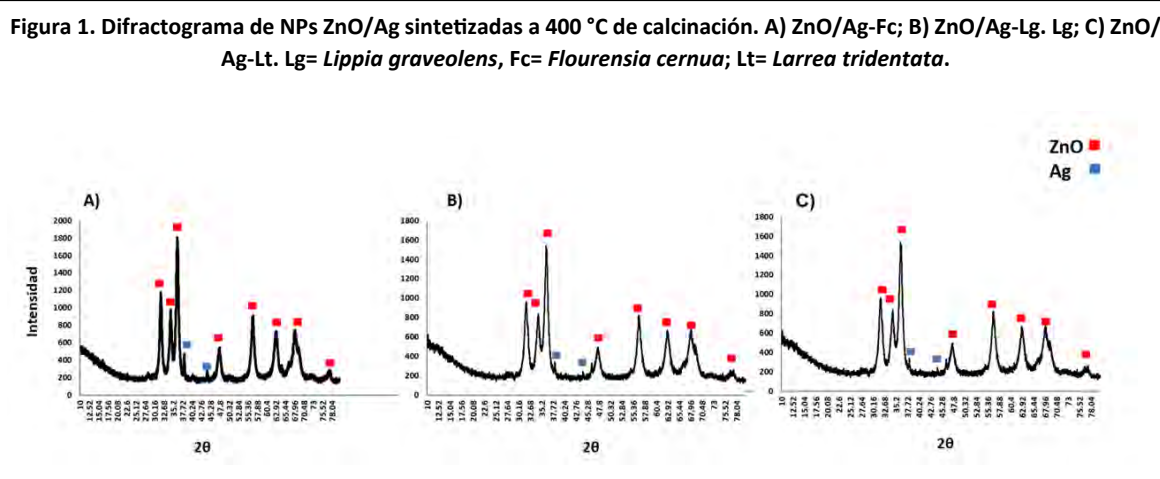
Análisis estadísticos

Los datos experimentales fueron procesados para calcular la media y la desviación estándar. Los datos utilizados en el análisis de varianza (Anova) de una vía superaron la prueba de normalidad, verificada mediante la prueba de Shapiro-Wilk. Para la comparación estadística entre los tratamientos, se emplearon la prueba de Tukey considerando un nivel de significancia de $p < 0.05$. Los análisis estadísticos fueron realizados utilizando el software GraphPad Prism (versión 6.00; GraphPad, La Jolla, CA, EE. UU.).

Resultados y discusión

Caracterización de las nanopartículas por DRX

En la Figura 1 se muestra el patrón de difracción Las NPs de ZnO/Ag, donde se observaron los picos característicos del ZnO, previamente discutidos. Además, se evidencian reflexiones adicionales correspondientes a la presencia de plata, localizadas en 38.12°, 44.3° y 64.46°, asociadas a los planos cristalinos (111), (200), (220) y (311), respectivamente, los cuales son característicos de la fase de plata metálica con estructura cristalina cúbica centrada en las caras (FCC), de acuerdo con la tarjeta de referencia JCPDS No. 04-0783.



La detección de estos picos confirma la incorporación exitosa de Ag en la matriz de ZnO, lo que sugiere la formación de un nanocompuesto heteroestructurado. Esta combinación puede potenciar las propiedades antimicrobianas del material, ya que la plata es reconocida por su capacidad de generar especies reactivas de oxígeno (ROS) e interrumpir la función celular bacteriana al interactuar con proteínas y ácidos nucleicos (Chen *et al.*, 2022; Zhang *et al.*, 2024).

Además, la sinergia entre el ZnO y la Ag puede mejorar la actividad fotocatalítica y antibacteriana del nanomaterial debido a la transferencia eficiente de electrones en la interfaz ZnO/Ag, reduciendo la recombinación de pares electrón-hueco y aumentando la generación de radicales libres (Al-Gaashani *et al.*, 2023).

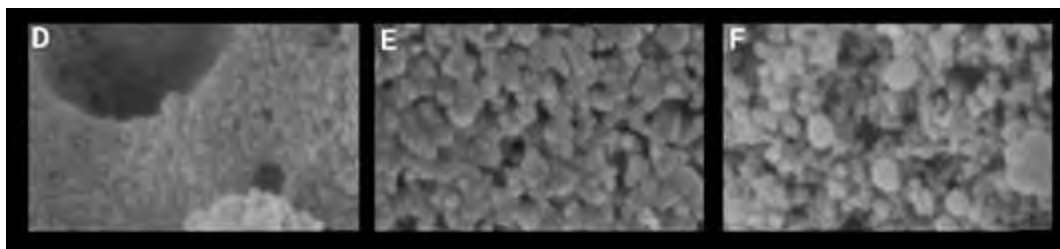
Los resultados muestran la formación de nanocompuestos de ZnO/Ag, debido a que se presentaron picos de difracción correspondientes a dos fases. El principal se indexó como ZnO con estructura hexagonal (JCPD No. 36-1451), mientras que el otro, correspondió a Ag metálica con estructura cúbica centrada en la cara (JCPDS No. 04-0783). Los patrones de difracción confirman la naturaleza cristalina del material compuesto y dado que no se observaron desplazamientos en los picos característicos del ZnO, se infiere que la Ag no sustituye iones Zn²⁺ en la red cristalina del óxido.

Esto indica que ambos compuestos coexisten como fases individuales, sin formar una solución sólida, lo que concuerda con lo reportado por Meng *et al.* (2013). La presencia de Ag como una fase independiente sugiere que las NPs de plata están depositadas sobre la superficie del ZnO o distribuidas de manera heterogénea en la matriz, lo que puede favorecer la interacción sinérgica entre ambos materiales.

Según Georgekutty *et al.* (2008), esta configuración mejora la actividad fotocatalítica y antimicrobiana del nanocompuesto, ya que la plata actúa como un centro de captura de electrones, reduciendo la recombinación de pares electrón-hueco en el ZnO, lo que incrementa la eficiencia en la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS). Esta sinergia potencia las aplicaciones biocidas del material, lo que lo hace prometedor para el control de fitopatógenos.

La morfología de las nanopartículas sintetizadas de ZnO y ZnO/Ag por los extractos de *L. graveolens*, *L. tridentata* y *F. cernua* fueron obtenidas mediante el uso del microscopio electrónico de barrido (SEM) como se observa en la Figura 2. El resultado obtenido con las NPs ZnO sintetizado con extracto de *L. graveolens* demostraron una aglomeración en la superficie y una morfología irregular-circular, presentó variaciones de tamaño dentro de los aglomerados aproximado de 20 nm.

Figura 2. Micrografía de SEM de las nanopartículas de ZnO+Ag1% asistidas con diferentes extractos de plantas. D) ZnO/Ag-Lt; E) ZnO-Fc; F) ZnO/Ag-Fc. Lg= *Lippia graveolens*, Lt= *Larrea tridentata*, Fc= *Flourensia cernua*.



Por su parte, la adición de plata al óxido de zinc en las NPs ZnO/Ag sintetizadas con *L. graveolens* (Figura 2), no generó cambios en la morfología ni en la disminución de aglomeración en la superficie de las NPs. Por su parte, la micrografía obtenida por las NPs ZnO sintetizadas con *L. tridentata* (Figura 2), demostraron tener mayor uniformidad en la morfología, siendo mayoritariamente esféricas agrupadas en aglomeraciones, las cuales indican variación de tamaño dentro de la aglomeración.

Distintivamente, la adición de plata al óxido de zinc en el extracto *L. tridentata*, sí presenta una distinción en la morfología de las NPs, se observan dos formas una plana-rectangular y una morfología esférica (Figura 2D). Por su parte, la micrografía de las NPs generadas con ZnO-*F. cernua* obtuvieron una morfología esférica con presencia de aglomeraciones (Figura 2E), en relación con, las NPs ZnO/Ag generadas con extracto *F. cernua* presentan forma esférica (Figura 2F).

Los resultados obtenidos a través del SEM, utilizando los extractos de *L. graveolens*, *L. tridentata* y *F. cernua* como agentes reductores en la síntesis de NPs de ZnO y ZnO/Ag, son consistentes con lo reportado en la literatura. Ahmad *et al.* (2020) describieron que las NPs ZnO sintetizadas con extracto de *Eucalyptus globulus* presentaron una morfología esférica con un tamaño promedio de 40-50 nm, observadas mediante TEM.

Las micrografías SEM muestran una clara aglomeración de las NPs en la superficie de las muestras analizadas, lo que sugiere un efecto similar al descrito en la literatura para la síntesis verde. Esta tendencia a la aglomeración puede atribuirse a la presencia de compuestos bioactivos residuales de los extractos vegetales, como flavonoides, taninos y polifenoles, que pueden actuar como agentes capping o estabilizadores, favoreciendo la interacción entre partículas (Anwar *et al.*, 2019).

Aunque la aglomeración puede reducir la superficie específica expuesta, algunos estudios han indicado que la formación de agregados en NPs de ZnO/Ag puede incrementar la actividad antimicrobiana debido a la liberación controlada de iones metálicos y a la capacidad de dañar las membranas celulares bacterianas mediante mecanismos de contacto directo (Shireen-Akhter *et al.*, 2024).

Antagonismo in vitro contra *Alternaria solani*

La evaluación de crecimiento de *Alternaria solani* se realizó cuando esta alcanzó el 100% de crecimiento micelial, el cual fue siete días después de la siembra. En el Cuadro 1 se muestran los resultados obtenidos por los diferentes tratamientos de NPs ZnO y ZnO/Ag sobre el crecimiento del micelio. El efecto antagonista de las NPs se correlaciona con el incremento en la concentración de estas, por lo que, a dosis más altas (1 000 mg L⁻¹) se observó el mayor porcentaje de inhibición del crecimiento micelial como se muestra en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de *Alternaria solani* por efecto de las nanopartículas de óxido de zinc y óxido de zinc/plata sintetizada con diferentes extractos de plantas.

Tipo de nanopartícula	Concentración (mg L ⁻¹)			
	150	250	500	1000
ZnO-Lg	26.1 ±1.5 ^{dc}	47.63 ±1.26 ^a	57.73 ±0.85 ^a	65.22 ±0.5 ^a
ZnO-Lt	27.81 ±2.02 ^{bcd}	51.46 ±0.65 ^a	60.46 ±0.7 ^a	63.87 ±0.68 ^a
ZnO-Fc	22.49 ±1.84 ^d	42.28 ±1.64 ^b	60.33 ±0.29 ^a	62.06 ±0.78 ^a
Adicionadas con plata al 1%				
ZnO/Ag-Lg	40.03 ±0.42 ^a	47.91 ±0.7 ^a	51.21 ±0.76 ^b	56.38 ±0.96 ^b
ZnO/Ag-Lt	31.86 ±0.32 ^{bc}	37.54 ±0.86 ^c	41.45 ±0.88 ^d	44.87 ±0.22 ^c
ZnO/Ag-Fc	33.85 ±1.06 ^{ab}	38.05 ±0.65 ^{bc}	45.13 ±0.86 ^c	44.04 ±0.59 ^c

Los datos representan la media ± desviación estándar de tres experimentos independientes. Letras diferentes indican una diferencia significativa según la prueba de Tukey ($p < 0.05$). Lg= *Lippia graveolens*, Lt= *Larrea tridentata*, Fc= *Flourensia cernua*.

Las NPs ZnO-Lg lograron inhibir el 50% del crecimiento radial a partir de 500 mg L⁻¹, alcanzó un 65.22 ±0.5% a la máxima concentración evaluada. Por otro lado, las NPs ZnO con extracto de *L. tridentata* (ZnO-Lt) lograron inhibir el 50% del crecimiento radial a 250 mg L⁻¹, aumentó a un 63.87 ±0.68% de inhibición a 1 000 mg L⁻¹ (Cuadro 1). Por su parte, las NPs ZnO sintetizadas con extracto de *F. cernua* (ZnO-Fc) alcanzó 60.33 ±0.29% de inhibición de crecimiento radial a una concentración de 500 mg L⁻¹, aumentando su efecto inhibitorio en 2% más a una concentración de 1 000 mg L⁻¹.

El mejor efecto inhibitorio de *A. solani* se obtuvo con las NPs ZnO-Lg, a la máxima concentración (1 000 mg L⁻¹). Cabe resaltar, que el efecto de inhibición a la máxima concentración utilizada no presenta diferencias significativas entre los extractos empleados, puesto que todas las NPs ZnO sintetizadas presentaron un efecto de inhibición radial superior de un 60%.

Sin embargo, la adición de plata a las NPs ZnO demostró incrementar la capacidad antifúngica de las NPs a bajas concentraciones (150 y 250 mg L⁻¹). Las NPs ZnO/Ag-Lg a 150 mg L⁻¹ incrementaron la capacidad antifúngica en 54.4% (40.03 ±0.42) con respecto a las NPs ZnO sin plata (ZnO-Lg); no obstante, a concentraciones más altas evaluadas no hubo incremento de inhibición por la adición de plata. En el caso de las NPs de ZnO/Ag-Lt incrementaron en 14.5% la capacidad antifúngica a 150 mg L⁻¹ pero al incrementar la concentración este tuvo un comportamiento negativo al disminuir el efecto antifúngico de las NPs ZnO/Ag-Lt en 29.7% a 1000 mg L⁻¹ con respecto a las NPs ZnO-Lt.

Un comportamiento similar fue observado en las NPs de ZnO/Ag-Fc, las cuales solo incrementaron la capacidad antifúngica a bajas concentraciones (150 mg L⁻¹) pero al incrementar la concentración de las NPs en el medio, disminuyó esta capacidad. Los resultados obtenidos en el este estudio son consistentes con lo reportado en la literatura respecto al efecto inhibitorio de las NPs de ZnO sobre *Alternaria solani*. Abdelhakim *et al.* (2020) describieron que las NPs de ZnO sintetizadas mediante *Alternaria tenuissima* mostraron actividad antifúngica significativa contra *A. solani*, evidenciando un efecto dosis-dependiente, donde la inhibición comenzó a 200 mg L⁻¹ y alcanzó un mayor diámetro de zona de inhibición a 400 mg L⁻¹.

De manera similar, Ali *et al.* (2020) reportaron que las NPs de ZnO obtenidas a partir de extracto de Neem lograron reducir el crecimiento de *A. solani* en un 45%, confirmando su capacidad antifúngica. En general, la aplicación de NPs ZnO obtenidas a partir de los extractos de *L. graveolens*, *L. tridentata* y *F. cernua* demostró una inhibición fúngica dependiente de la concentración, observándose un mayor efecto a medida que se incrementó la dosis de NPs. El mejor resultado se obtuvo con las NPs ZnO sintetizadas con extracto de *L. graveolens*, logrando la inhibición más significativa a 1 000 mg L⁻¹.

Este resultado podría atribuirse a la mayor pureza y cristalinidad de las NPs obtenidas con *L. graveolens*, lo que probablemente mejora su capacidad de generar especies reactivas de oxígeno (ROS) y alterar la permeabilidad de la membrana fúngica, mecanismos clave en la actividad antifúngica del ZnO (Chen *et al.*, 2022). En contraparte, la adición de plata a las NPs ZnO potenció la capacidad antifúngica a concentraciones más bajas (150 y 250 mg L⁻¹), lo que indica un efecto sinérgico entre ambos metales.

Este aumento en la eficacia a dosis reducidas podría explicarse por la capacidad de la Ag para desestabilizar la membrana celular fúngica, interactuar con grupos tiol de las proteínas y alterar la funcionalidad enzimática, lo que incrementa el estrés oxidativo en el hongo (Zhang *et al.*, 2024). Además, la combinación ZnO/Ag pudo generar un efecto fotocatalítico mejorado, facilitando la producción de radicales libres que dañan las estructuras fúngicas, lo que explicaría el control más homogéneo del crecimiento de *A. solani* en comparación con las NPs ZnO puras.

En el Cuadro 2, se observó el efecto inhibitorio de las NPs sobre la esporulación de *A. solani*, evidenciando una reducción significativa en la producción de esporas en función de la concentración aplicada. Las NPs ZnO sintetizadas con extracto de *L. graveolens* (ZnO-Lg) mostraron el efecto más pronunciado, reduciendo la esporulación en un 45% (3×10⁷ ±0 esporas ml⁻¹) a 500 mg L⁻¹ en comparación con el control (5.57×10⁷ ±0.09 esporas ml⁻¹).

Cuadro 2. Efecto de las nanopartículas de ZnO y ZnO/Ag sobre la producción de esporas de *Alternaria solani*.

Tipo de nanopartícula	Esporas ml ⁻¹	
	500 mg L ⁻¹	1 000 mg L ⁻¹
Control	5.57×10 ⁷ ±0.09f	
ZnO-Lg	3×10 ⁷ ±0c	2.44×10 ⁷ ±0.006c
ZnO-Lt	3.18×10 ⁷ ±0d	2.88×10 ⁷ ±0.005d
ZnO-Fc	3.32×10 ⁷ ±0.005e	3.01×10 ⁷ ±0.006e
Adicionadas con plata al 1%		
ZnO/Ag-Lg	2.37×10 ⁷ ±0.02a	1.79×10 ⁷ ±0.012a

Tipo de nanopartícula	Esporas ml ⁻¹	
	500 mg L ⁻¹	1 000 mg L ⁻¹
ZnO/Ag-Lt	2.57×10 ⁷ ±0.01 ^b	2.12×10 ⁷ ±0.023 ^b
ZnO/Ag-Fc	2.69×10 ⁷ ±0.07 ^b	1.86×10 ⁷ ±0.04 ^a

Los datos representan la media ± desviación estándar de tres experimentos independientes. Letras diferentes indican una diferencia significativa según la prueba de Tukey ($p < 0.05$). Lg= *Lippia graveolens*, Lt= *Larrea tridentata*, Fc= *Flourensia cernua*.

Este efecto se intensificó a 1 000 mg L⁻¹, alcanzando una disminución del 56% (2.44×10⁷ ±0.006 esporas ml⁻¹), lo que indica una relación dosis-dependiente. De manera similar, las NPs de ZnO sintetizadas con *L. tridentata* (ZnO-Lt) redujeron la esporulación en un 43% (3.18×10⁷ ±0 esporas ml⁻¹) a 500 mg L⁻¹ con respecto al control, aumentando su eficacia al 49% (2.88×10⁷ ±0.005 esporas ml⁻¹) a la dosis más alta evaluada.

Por su parte, las NPs ZnO obtenidas con *F. cernua* (ZnO-Fc) también demostraron un efecto inhibitorio significativo, reduciendo la esporulación en un 40% (3.32×10⁷ ± 0.005 esporas mL⁻¹) a 500 mg L⁻¹ y alcanzando una reducción del 45% (3.01×10⁷ ± 0.006 esporas mL⁻¹) a 1 000 mg L⁻¹.

La adición de plata a las NPs ZnO demostró tener mayor efectividad al disminuir en mayor porcentaje la producción de esporas de *A. solani* (Cuadro 2). Las NPs ZnO/Ag-Lg exhibieron una reducción de un 52% (2.37×10⁷ ±0.02 esporas ml⁻¹.) de esporas a 500 mg L⁻¹ y 68% (1.79×10⁷ ±0.012 esporas ml⁻¹) a 1000 mg L⁻¹ con respecto al control. De igual forma, las NPs ZnO/Ag-Lt generaron un 54% (2.57×10⁷ ±0.01 esporas ml⁻¹) de reducción de esporas a 500 mg L⁻¹ aumentando su porcentaje a un 64% a 1 000 mg L⁻¹ (2.12×10⁷ ±0.023 esporas ml⁻¹). De la misma manera, las NPs ZnO/Ag-Fc presentó un 52% de reducción de esporas a 500 mg L⁻¹, incrementando su efecto a 1 000 mg L⁻¹ (1.86×10⁷ ±0.04 esporas ml⁻¹).

Cabe resaltar que el efecto de las NPs ZnO y ZnO/Ag sintetizadas por los extractos de plantas, fueron capaces de disminuir la producción de esporas conforme se aumentó la concentración de las NPs, de igual forma la adición de plata al óxido de zinc, favoreció al aumentar la capacidad de disminuir las esporas de *A. solani* conforme se aumentó la concentración. Estadísticamente el mejor tratamiento para el control en la producción de esporas fue con las NPs ZnO/Ag sintetizadas con extracto de *L. graveolens* en las dos concentraciones evaluadas (500 y 1 000 mg L⁻¹), las cuales lograron inhibir 68% la producción de esporas.

Los resultados obtenidos demostraron que la adición de plata al óxido de zinc no mejoró en el análisis de la prueba de inhibición del crecimiento radial, aunque si mostró una capacidad notable para inhibir la producción de esporas. Estos efectos pueden explicarse en función del tamaño de las NPs ZnO (<30 nm), ya que la efectividad de las NPs está estrechamente relacionada con su tamaño y superficie específica (Nisar *et al.*, 2019). En este caso, la concentración de plata al 1% (p/p) resultó ser una limitante para inducir efectos en el crecimiento radial, pero favoreció la reducción en la producción de esporas de *A. solani*.

Este efecto puede atribuirse a la capacidad de los iones Ag²⁺ de acumularse en la membrana celular fúngica, penetrar en su interior e interactuar con las bases de nitrógeno del ADN, lo que desnaturaliza el material genético y genera malformaciones en las hifas, afectando así la formación de esporas (Rajwade *et al.*, 2020). En este contexto, la concentración de plata utilizada (1%) en las NPs ZnO/Ag fue efectiva para controlar la esporulación de *A. solani*, aunque no logró reducir significativamente el crecimiento radial del hongo.

Este hallazgo es consistente con lo reportado por Vera-Reyes *et al.* (2019), quienes señalaron que las NPs ZnO/Ag al 2.5% tuvieron un mayor efecto inhibitorio en el crecimiento radial de *A. solani* en comparación con las NPs ZnO puras. Las esporas germinadas de hongos patógenos juegan un papel crucial en la colonización e infección de las plantas (Ibrahim *et al.*, 2020), por lo que la inhibición de la germinación de esporas es una estrategia clave para controlar la propagación de patógenos.

En este sentido, la reducción en la tasa de germinación de las esporas observada en este estudio destaca la efectividad de las NPs biosintetizadas en la mitigación de los riesgos asociados a los hongos fitopatógenos, lo cual es consistente con otros trabajos que reportan efectos similares (Kriti *et al.*, 2020).

Conclusiones

Esta investigación demostró que la síntesis de nanopartículas (NPs) de ZnO y ZnO/Ag empleando extractos vegetales de *Lippia graveolens* (orégano), *Larrea tridentata* (gobernadora) y *Flourensia cernua* (hojasén) permite obtener NPs con un tamaño inferior a 30 nm y un alto grado de pureza. Estas NPs exhiben un efecto antifúngico significativo contra los fitopatógenos *Alternaria solani* y *Fusarium oxysporum*, logrando un control efectivo a partir de concentraciones de 500 mg L⁻¹. Entre los tratamientos evaluados, las NPs sintetizadas con extracto de *L. graveolens* mostraron la mayor capacidad inhibitoria, evidenciando un efecto superior tanto en la reducción del crecimiento micelial como en la disminución de la esporulación de los hongos.

En general, las NPs ZnO puras presentaron un mayor porcentaje de inhibición del crecimiento fúngico en comparación con las NPs bimetálicas (ZnO/Ag), especialmente a concentraciones elevadas, lo que sugiere que el efecto de las NPs de ZnO es suficiente para alcanzar un control significativo. Sin embargo, las NPs ZnO/Ag mostraron una mayor capacidad antifúngica a concentraciones bajas, reduciendo la viabilidad de las esporas de *A. solani* y *F. oxysporum* de forma más eficiente, lo que sugiere un efecto sinérgico inicial debido a la presencia de plata.

Aunque las NPs generadas con *L. graveolens* exhibieron el mejor efecto antifúngico, los extractos de *L. tridentata* y *F. cernua* demostraron también un control significativo sobre el crecimiento y la esporulación de ambas cepas evaluadas. Se destaca el potencial de la síntesis verde de NPs ZnO y ZnO/Ag como una estrategia efectiva y sostenible para el control de hongos fitopatógenos, con aplicaciones prometedoras en la agricultura para el desarrollo de biofungicidas alternativos y ecológicamente amigables.

Bibliografía

- 1 Abdelhakim, H. K.; El#Sayed, E. R. and Rashidi, F. B. 2025. Biosynthesis of zinc oxide nanoparticles with antimicrobial, anticancer, antioxidant and photocatalytic activities by the endophytic *Alternaria tenuissima*. Journal of Applied Microbiology. 128(6):1634-1646. <https://dx.doi.org/10.1111/jam.14581>.
- 2 Ahmad, H.; Venugopal, K.; Rajagopal, K.; Britto, S.; Nandini, B.; Pushpalatha, H. G.; Konappa, N.; Udayashankar, A. C.; Geetha, N. and Jogaiah, S. 2020. Green synthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles using eucalyptus globules and their fungicidal ability against pathogenic fungi of apple orchards. Biomolecules. 10(3):425. <https://doi.org/10.3390/biom10030425>.
- 3 Ahmad, T.; Xing, F.; Cao, C. and Liu, Y. 2024. Characterization and toxicological potential of *Alternaria alternata* associated with post-harvest fruit rot of *Prunus avium* in China. Frontiers in Microbiology. 15:1273076. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1273076>.
- 4 Anwar, A.; Masri, A.; Rao, K.; Rajendran, K.; Khan, N. A.; Shah, M. R. and Siddiqui, R. 2019. Antimicrobial activities of green synthesized gums-stabilized nanoparticles loaded with flavonoids. Scientific Reports. 9(1):3122. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-39528-0>.
- 5 Bustillo, P. A. E. 2010. Método para cuantificar suspensiones de esporas de hongos y otros organismos. Universidad Nacional de Colombia. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.3594.5128>.
- 6 Chandrasekaran, M. and Paramasivan, M. 2024. Plant growth-promoting bacterial (PGPB) mediated degradation of hazardous pesticides: a review. International Biodeterioration and Biodegradation. 190:105769. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2024.105769>.

- 7 Chen, J.; Wu, L.; Song, K.; Zhu, Y. and Ding, W. 2020. Nonphytotoxic copper oxide nanoparticles are powerful “nanoweapons” that trigger resistance in tobacco against the soil-borne fungal pathogen *Phytophthora nicotianae*. *Journal of Integrative Agriculture*. 21(11):3245-3262. <https://doi.org/10.1016/j.jia.2022.08.086>.
- 8 Georgekutty, R.; Seery, M. K. and Pillai, S. C. 2008. A highly efficient Ag-ZnO Photocatalyst: synthesis, properties, and mechanism. *The Journal of Physical Chemistry C*. 112(35):13563-13570. <https://doi.org/10.1021/jp802729a>.
- 9 Guilger-Casagrande, M. and Lima, R. 2019. Synthesis of silver nanoparticles mediated by fungi: a review. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 7(287):1-16. Doi: 10.3389/fbioe.2019.00287.
- 10 Méndez-Andrade, R.; Vallejo-Pérez, M. R.; Loera-Alvarado, E.; Santos-Villarreal, G.; García-Cerda, L. A. and Vera-Reyes, I. 2022. Efficacy of biosynthesized silver nanoparticles from *Larrea tridentata* against *Clavibacter michiganensis*. *Journal of Phytopathology*. 170(2):91-99. <https://doi.org/10.1111/jph.13058>.
- 11 Meng, A.; Sun, S.; Li, Z. and Han, J. 2013. Synthesis, characterization, and dispersion behavior of ZnO/Ag nanocomposites. *Advanced Powder Technology*. 24(1):224-228. <https://doi.org/10.1016/j.appt.2012.06.006>.
- 12 Moradi, F.; Sedaghat, S.; Moradi, O. and Arab-Salmanabadi, S. 2021. Review on green nano-biosynthesis of silver nanoparticles and their biological activities: with an emphasis on medicinal plants. *Inorganic and Nano-Metal Chemistry*. 51(1):133-142. Doi:10.1080/24701556.2020.1769662.
- 13 Muñoz-Ordoñez, I. 2020. Síntesis de nanopartículas de óxido de zinc y óxido de zinc/plata asistida con extractos de *Flourensia cernua* DC: efecto antagónico contra *Clavibacter michiganensis* y en la germinación de semillas de tomate. 17-35 pp. <https://ciqa.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1025/625/1/idal%20mu%c3%91oz%20ordo%c3%91ez%20maestria%20en%20ciencias%20en%20agropecuaria.pdf>.
- 14 Nisar, P.; Ali, N.; Rahman, L.; Ali, M. and Shinwari, Z. K. 2019. Antimicrobial activities of biologically synthesized metal nanoparticles: an insight into the mechanism of action. *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry*. 24(7):929-941. <https://doi.org/10.1007/s00775-019-01717-7>.
- 15 Orberá-Ratón, T. M.; Serrat-Díaz, M. J. and González-Giro, Z. 2009. Potencialidades de bacterias aerobias formadoras de endosporas para el biocontrol en plantas ornamentales. *Fitosanidad*. 13(2):95-100.
- 16 Rajwade, J. M.; Chikte, R. G. and Paknikar, K. M. 2020. Nanomaterials: new weapons in a crusade against phytopathogens. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 104(4):1437-1461. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-10334-y>.
- 17 Rosenberg, M.; Visnapuu, M.; Vija, H.; Kisand, V.; Kasemets, K.; Kahru, A. and Ivask, A. 2020. Selective antibiofilm properties and biocompatibility of nano-ZnO and nano-ZnO/Ag coated surfaces. *Scientific Reports*. 10:1-15. Doi: 10.1038/s41598-020-70169-w.
- 18 Shireen-Akhter, Q.; Sultana, Z.; Ud-Daula, M. A.; Ashikuzzaman, M. D.; Shamim, R.; Rahman, M. M.; Khaton, A.; Tang, M. A. K.; Rahman, M. S.; Hossain, M. F.; Lee, S. J. and Rahman, A. T. M. M. 2024. Optimization of green silver nanoparticles as nanofungicides for management of rice bakanae disease. *Heliyon*. 10:e27579. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e27579>.
- 19 Vera-Reyes, I.; Esparza-Arredondo, I. J. E.; Lira-Saldívar, R. H.; Granados-Echegoyen, C. A.; Álvarez-Román, R.; Vásquez-López, A.; Santos-Villarreal, G. and Díaz-Barriga, E. 2019. *In vitro* antimicrobial effect of metallic nanoparticles on phytopathogenic strains of crop plants. *Journal of Phytopathology*. 167(7-8):461-469. <https://doi.org/10.1111/jph.12818>.
- 20 Zhang, H.; Zheng, T.; Wang, Y., Li, T. and Chi, Q. 2024. Multifaceted impacts of nanoparticles on plant nutrient absorption and soil microbial communities. *Frontiers in Plant Science*. 15:1-15. Doi:10.3389/fpls.2024.1497006.

Nanopartículas de óxido de zinc-plata sintetizadas con extractos vegetales contra *Alternaria 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: 00 May 2025
Date accepted: 00 August 2025
Publication date: 15 October 2025
Publication date: Sep-Oct 2025
Volume: 16
Issue: esp30
Electronic Location Identifier: e4040
DOI: 10.29312/remexca.v16i30.4040
Article Id (other): 00003

Categories

Subject: Artículos

Palabras clave

Palabras clave

Antifungicos
nanoparticulas de zinc
nanopartículas de zinc-plata

Counts

Figures: 2
Tables: 2
Equations: 0
References: 20