



Actividad antifúngica de micropartículas de ZnO con distintas morfologías frente a *Rhizoctonia* sp.

Flor A. Macías-Mendoza^{1,2}, Laila Muñoz-Castellanos¹, Juan C. Pantoja-Espinoza², Francisco Paraguay-Delgado^{2*}.

¹Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Chihuahua, Circuito Universitario S/N Campus II, Chihuahua, Chih., CP 31125, México. ²Centro de Investigación en Materiales Avanzados, S.C. (CIMAV), Av. Miguel de Cervantes #120, Complejo Industrial Chihuahua, Chihuahua, Chih., C.P. 31136, México.

***Autor de Correspondencia:**

Francisco Paraguay-Delgado
francisco.paraguay@cimav.edu.
mx

Sección:

Edición periódica

Recibido:

08 Agosto, 2025

Aceptado:

22 Octubre, 2025

Publicado:

13 Noviembre, 2025

Adelantada 2026

Cita:

Macías-Mendoza FA, Muñoz-Castellanos L, Pantoja-Espinoza JC y Paraguay-Delgado F. 2026. Actividad antifúngica de micropartículas de ZnO con distintas morfologías frente a *Rhizoctonia* sp. Revista Mexicana de Fitopatología 44(1): 98.
<https://doi.org/10.18781/R.ME.X.FIT.2508-1>

RESUMEN

Antecedentes/Objetivo. El objetivo principal del estudio fue sintetizar micropartículas (MP) de óxido de zinc (ZnO) con tres tipos de morfologías (prismas, laminas y varillas) para evaluar su actividad antifúngica contra *Rhizoctonia* sp. Se planteó la hipótesis de que la morfología y la concentración de ZnO son factores clave que influyen en la eficacia antifúngica, sugiriendo que el control morfológico de partículas de ZnO puede aportar en el tratamiento de enfermedades fúngicas.

Materiales y Métodos. Las MP de ZnO se sintetizaron mediante el método hidrotérmico para obtener tres morfologías: prismas, laminas y varillas. Se caracterizaron mediante microscopía electrónica de barrido (MEB) y difracción de rayos X (DRX). Se evaluó la actividad antifúngica de ZnO a concentraciones de 200, 500 y 1000 ppm frente a *Rhizoctonia* sp. Se realizó un análisis estadístico utilizando ANOVA y la prueba diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher para evaluar los efectos de la morfología, la concentración y el tiempo sobre el crecimiento fúngico.

Resultados. Se observó una inhibición de crecimiento significativa de *Rhizoctonia* sp. bajo las concentraciones 500 y 1000 ppm de ZnO. Mientras que la inhibición entre el control negativo y la concentración de 200 ppm de ZnO no fue significativa. Además, se identificó la formación de esclerocios a la concentración más baja (200 ppm) en todas las muestras de ZnO, así como a 500 ppm con la morfología laminar (ZnO-L). La evaluación microscópica a 200 ppm también reveló daños estructurales en las hifas y condensación citoplasmática. Sin embargo, esto no se encontró en los tratamientos a 1000 ppm. Las partículas de ZnO con morfología de varillas (ZnO-R) mostraron la actividad antifúngica más eficaz.

Conclusión. Las partículas ZnO-R mostraron una prometedora actividad antifúngica contra *Rhizoctonia* sp. La eficacia aumentó a concentraciones de 500 y 1000 ppm, lo que dio lugar a una inhibición significativa del crecimiento fúngico. La morfología y la concentración de las partículas son factores clave que influyen en el crecimiento antifúngico. Este resultado demuestra que la morfología de las partículas de ZnO desempeña un papel crucial en el control de las enfermedades fúngicas con *Rhizoctonia* sp.

Palabras clave: ZnO, Hongo patógeno, Hidrotérmico, MEB, DRX, Inhibición micelial



INTRODUCCIÓN

El complejo *Rhizoctonia* es un grupo heterogéneo de hongos filamentosos que no producen esporas asexuales y comparten características morfológicas generales, como la formación de micelio y de esclerocios marrones (García, 2008). *Rhizoctonia solani* es la especie más importante del género que afecta a diversos cultivos de diferentes familias, entre ellas Poaceae (maíz, arroz, trigo, cebada, avena), Fabaceae (soya, cacahuete, frijol, alfalfa, garbanzo, lenteja, chícharo), Solanaceae (tabaco, papa), Amaranthaceae (remolacha azucarera), Brassicaceae (colza), Rubiaceae (café), Malvaceae (algodón), Asteraceae (lechuga), Araceae (potos), Moraceae (ficus) y Linaceae (lino) (Ajayi and Bradley, 2018; DGSV-CNRF, 2020). Este patógeno puede causar daños graves, lo que provoca pérdidas del 80 al 100 % de las plántulas y reducciones del rendimiento final de hasta un 30 %. Según la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF) y la Norma Internacional para Medidas Fitosanitarias (NIMF) n.º 8, “Determinación del estado de plagas en una zona”, *Rhizoctonia solani* está presente en todas las zonas plantadas con cultivos hospedantes en México, lo que clasifica como plaga no cuarentenaria según la NIMF n.º 5, “Glosario de términos fitosanitarios” (DGSV-CNRF, 2020).

Existen diversas medidas de control para gestionar los patógenos, entre ellas semillas limpias certificadas, labranza, rotación de cultivos con especies no hospedadoras, tratamientos de semillas con fungicidas y, cuando sea posible, el uso de variedades de cultivos resistentes (Ajayi and Bradley, 2018). El control químico mediante fungicidas sigue siendo una de las estrategias más utilizadas en la agricultura moderna debido a su eficacia, rapidez, practicidad y viabilidad económica (Jáquez-Matas *et al.*, 2022). Sin embargo, las poblaciones de hongos a las que se dirigen estos productos químicos pueden desarrollar resistencia con el tiempo (Carmona y Sautua, 2017). Además, la capacidad de *Rhizoctonia solani* para sobrevivir al invierno en forma de esclerocios de larga duración en el suelo y su capacidad para infectar una amplia gama de cultivos; hacen que la rotación de cultivos por sí sola sea una estrategia de gestión insuficiente, lo que pone de relieve la necesidad de opciones de control alternativas (Ajayi and Bradley, 2018; Akber *et al.*, 2023).

La aplicación de la nanotecnología en la agricultura resulta especialmente interesante dada la producción masiva de productos agrícolas necesaria para satisfacer la demanda mundial (Mridha, *et al.*, 2025). Los nanomateriales ofrecen alternativas para mitigar y remediar los problemas colaterales asociados a la agricultura moderna (Rodríguez y Díaz, 2024).

Entre estos materiales, las partículas de óxidos como ZnO, TiO₂, CuO y Fe₂O₃ se utilizan habitualmente en diversos campos (Lira *et al.*, 2018; Zhu *et al.*, 2019). Las nanopartículas (NPs) de TiO₂ tienen aplicaciones en cosméticos, fibras funcionales, plásticos, tintas, pinturas, cerámicas finas y como colorantes alimentarios, además de servir como barreras protectoras en envases de productos comestibles (Zhu *et al.*, 2019). Las NPs de plata son conocidas por su actividad antimicrobiana y se incorporan a superficies destinadas al contacto con alimentos (Lira *et al.*, 2018). Las NPs de óxido de cobre (CuO) se utilizan en superconductores, en aplicaciones de resistencia térmica, como aditivos para recubrimientos, como materiales antibacterianos y como materiales magnéticos. Las NPs de ZnO, además de ser tóxicas para las células tumorales humanas, han demostrado actividad antimicrobiana, ya sea inhibiendo o potenciando el crecimiento microbiano (Zhu *et al.*, 2019).

La actividad antifúngica del ZnO ha sido reportada frente a algunos hongos patógenos. Por ejemplo, las partículas de ZnO sintetizadas mediante métodos hidrotérmicos y de coprecipitación demostraron actividad antifúngica frente a *Colletotrichum gloeosporioides*, inhibiendo la germinación de esporas y provocando la deformación de las hifas (De la Rosa *et al.*, 2018). Las NPs de ZnO con tamaños entre 20 y 45 nm mostraron una capacidad antifúngica significativa frente a *Erythricium salmonicolor*, patógeno responsable de la enfermedad rosa del café (Arciniegas *et al.*, 2017). Además, las NPs de ZnO han demostrado actividad antifúngica frente a *Fusarium oxysporum* al inhibir el crecimiento micelial y la esporulación *in vitro* (González *et al.*, 2021). Del mismo modo, varios estudios han confirmado la actividad antifúngica de las partículas de ZnO frente a *Rhizoctonia solani* (Al-Dhabaan *et al.*, 2017; Khan and Siddiqui, 2021; Al-Zaidi *et al.*, 2023).

Sin embargo, Pariona *et al.* (2020) señalan que se han realizado pocos estudios sobre el impacto de la morfología de las partículas de ZnO en su actividad antifúngica. Por lo tanto, el presente estudio tuvo como objetivo sintetizar micropartículas (MPs) de ZnO con tres morfologías distintas para evaluar su actividad antifúngica *in vitro* frente a *Rhizoctonia* sp.

MATERIALES Y MÉTODOS

Reactivos. Los reactivos utilizados para la síntesis fueron acetato de zinc dihidratado, hidróxido de potasio de la marca SigmaAldrich, alcohol etílico desnaturalizado al 96 % de la marca Golden Bell y agua tridestilada (J. T. Baker). Para la evaluación antifúngica se utilizó agar papa dextrosa (PDA) de la marca BD-Bioxon y, como control positivo, el fungicida comercial Interthiram 480 (ICF), cuyo ingrediente activo es tiram (bis(dimetiltiocarbamoil) disulfuro), con una composición del 42 % en peso, equivalente a 480 g de ingrediente activo por litro.

Síntesis de MPs de ZnO. Las MPs de ZnO fueron sintetizadas mediante el método hidrotérmico para obtener tres morfologías tridimensionales distintas. Estas formas se obtuvieron utilizando acetato de zinc dihidratado ($Zn(O_2CCH_3)_2(H_2O)_2$) como precursor y variando la concentración de hidróxido de potasio (KOH). La relación molar entre el $Zn(O_2CCH_3)_2(H_2O)_2$ y el KOH fue de 1:9 para el ZnO en forma de varillas (ZnO-R), de 1:3 para el ZnO en morfología laminar (ZnO-L) y de 1:1 para el ZnO en forma de prismas hexagonales (ZnO-P). Para cada síntesis, el $Zn(O_2CCH_3)_2(H_2O)_2$ y el KOH se disolvieron simultáneamente en agua tridestilada (15 mL); luego, se adicionó gota a gota de etanol al 96 % (15 mL). A continuación, la solución resultante se transfirió a una autoclave de 46 mL y se colocó en un horno tipo mufla a 160 °C durante 18 h. Después, se recogieron las partículas del precipitado, se transfirieron a tubos de centrifuga de 35 mL y se lavaron dos veces con agua tridestilada. Este proceso se realizó mediante centrifugación a 5000 rpm durante 5 min, seguida de la decantación del sobrenadante. Por último, los tubos de plástico con el precipitado lavado se colocaron en un horno a 80 °C durante 12 h. Después, el material seco se recuperó, se molió finamente en un mortero de ágata y se identificó la muestra correspondiente.

Caracterización de las MPs. La caracterización morfológica se realizó mediante microscopía electrónica de barrido (MEB) en el equipo Jeol JSM-7401F. La estructura se estudió mediante patrones de difracción de rayos X (DRX) obtenidos con un difractómetro Philips X-Pert a 40 kV y 30 mA, utilizando radiación Cu K α ($\lambda = 0.15418$ nm) en geometría

Bragg-Brentano. El ángulo de barrido 2θ fue entre 20 y 80° , con un paso de 0.015° . Los patrones se indexaron para ZnO y se utilizó la tarjeta JCPDS: 00-036-1451 como referencia (Sedefoglu, 2023).

Preparación de cultivos envenenados con MPs de ZnO. Los medios de cultivo envenenados con las MPs de ZnO se prepararon conforme a lo reportado por Guerrero *et al.* (2007) con algunas modificaciones. Las tres MPs de ZnO con morfologías identificadas como ZnO-P, ZnO-L y ZnO-R fueron incorporadas en medios de cultivo con agar PDA. Se añadieron a cada caja Petri (con 90 mm de diámetro) las cantidades necesarias de MPs de ZnO y fungicida comercial (ICF), seguido del volumen necesario de medio de cultivo con agar PDA para alcanzar concentraciones finales de 200 (C), 500 (B) y 1000 (A) ppm. Los controles negativos fueron cajas Petri con medio de cultivo agar PDA sin MPs de ZnO. Para cada concentración se preparó por triplicado. Los medios de cultivo se mantuvieron en observación durante 24 horas para evaluar su esterilidad.

Inoculación fúngica. La actividad antifúngica de las MPs de ZnO frente a *Rhizoctonia* sp. se evaluó mediante el método descrito por Derbalah *et al.* (2019), con algunas modificaciones. Para el ensayo se utilizó una cepa de *Rhizoctonia* sp. aislada de una papa adquirida en Chihuahua, Chih. México. Para este ensayo se prepararon un total de 39 cajas Petri, 27 para los tratamientos con las MPs de ZnO, tres réplicas independientes para el control negativo y nueve para el control positivo (ICF).

Se colocó un disco de agar de 5 mm de diámetro en cajas Petri con el cultivo de *Rhizoctonia* sp., luego se incubó a $27 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 7 días. El crecimiento radial se midió cada 24 h usando un vernier.

Análisis microscópico. Después de siete días de inoculación, se preparó por duplicado, para las observaciones en fresco (preparaciones húmedas) de la siguiente manera. Se colocó micelio del hongo desde las cajas Petri en portaobjetos con una gota de azul de algodón lactofenol; se cubrieron con un cubreobjetos y se observaron en un microscopio ZEISS modelo Primostar 1.

Análisis estadístico. Un diseño factorial con tres factores fue desarrollado, el modelo general del diseño experimental se muestra en la ecuación (1):

$$y_{ijkl} = m + MP_i + C_j + D_k + MP_i * C_j + MP_i * D_k + C_j * D_k + MP_i * C_j * D_k + e_{ijkl} \quad (1)$$

Donde y_{ijkl} es la variable de respuesta (crecimiento micelial en mm), m es la media global, MP_i representa el tipo de micropartícula con niveles ZnO-P, ZnO-R, ZnO-L y el control positivo ICF; C_j corresponde a la concentración de MP con niveles 200, 500 y 1000 ppm; D_k es el tiempo de crecimiento micelial con niveles 1 al 7, l es el número de repeticiones y e es el error. También, el modelo incluye las interacciones dobles ($MP_i * C_j$, $MP_i * D_k$, y $C_j * D_k$) y el triple ($MP_i * C_j * D_k$).

Se aplicaron las pruebas de Grubbs y Kolmogorov-Smirnov para detectar valores atípicos y evaluar la normalidad de los datos, respectivamente. Posteriormente, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para identificar los efectos significativos de los factores y sus interacciones. Por último, se realizaron pruebas de comparación múltiple de medias mediante la prueba de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Todos los análisis se realizaron en los programas MINITAB 20.3 y OriginPro 2021, con un nivel de significancia de $p \leq 0.05$.

RESULTADOS

Caracterización fisicoquímica. Las micrografías por MEB de las tres morfologías y las distribuciones de tamaño de las MPs se muestran en la Figura 1. Se incluyeron imágenes de cada morfología adquiridas en baja y alta magnificación. La mayoría de ellas presentan una forma hexagonal, con tamaños variables según el tipo de morfología. Las micrografías de las Figuras 1A y 1D muestran partículas en forma de prismas hexagonales (ZnO-P) con un tamaño medio de 8487 ± 2074 nm, y la mayoría de ellas presenta marcadas hendiduras en su superficie (Figura 1D). En el caso de las partículas laminares (ZnO-L), se observan con distintas orientaciones (Figuras 1B y 1E). El diámetro promedio observado fue de 508 ± 155 nm y el espesor aproximado fue de 60 nm, exhibiendo una superficie lisa. En el caso de las partículas en forma de varillas (ZnO-R), en las imágenes se observan partículas alargadas en forma de prisma hexagonal puntiagudo (Figura 1C y Figura 1F) con una longitud media de 2326 ± 1437 nm. Estas imágenes confirman la síntesis de las tres morfologías de MPs de ZnO.

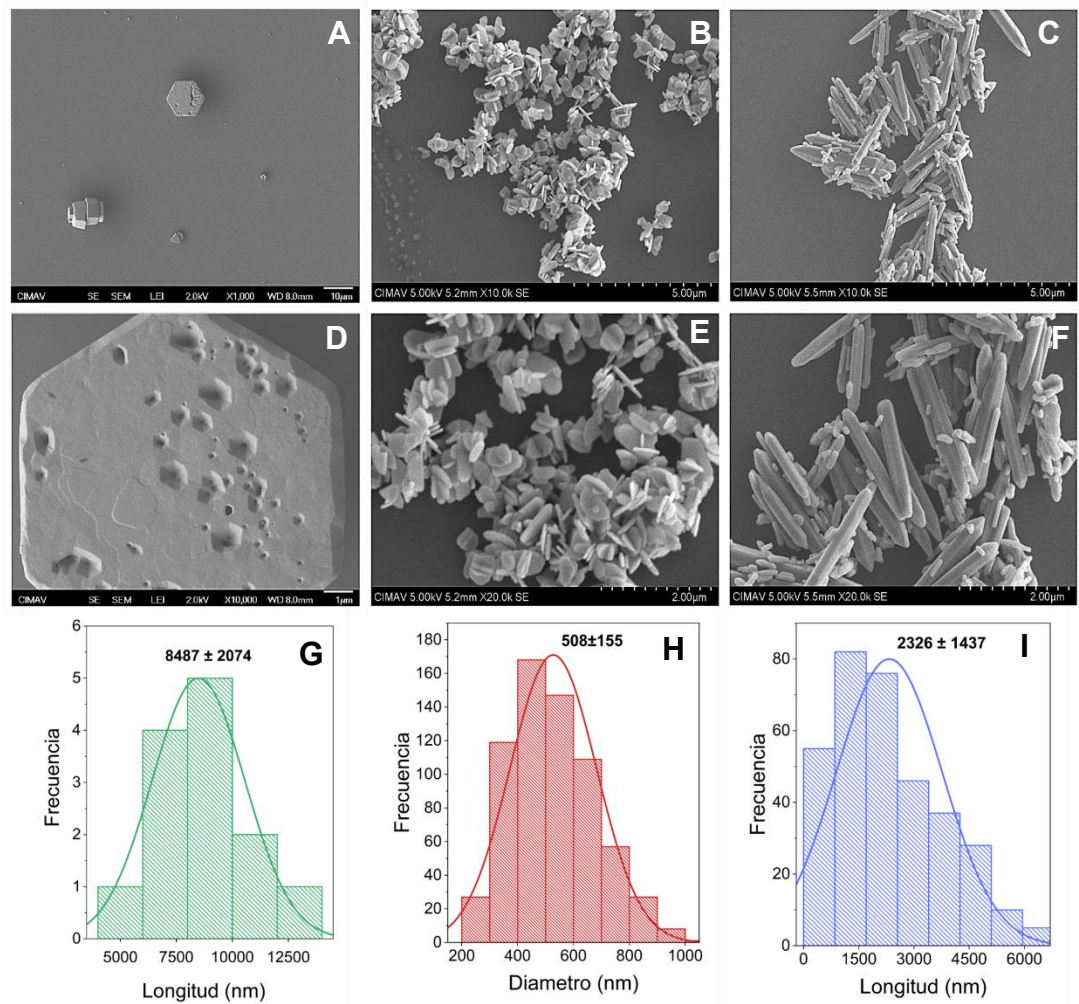


Figura 1. Micrografías obtenidas por MEB de las MPs de ZnO con las tres morfologías, ZnO-P (A, D), ZnO-L (B, E) y ZnO-R (C, F). Distribución de tamaños de partículas de ZnO-P (G), ZnO-L (H) y ZnO-R (I).

Los patrones de difracción de rayos X muestran un perfil similar en todas las muestras obtenidas. En la Figura 2 se observa que todos los patrones presentan una estructura policristalina. Las intensidades no cambiaron proporcionalmente, aunque las partículas mostraron formas distintas (Figura 1). Estos patrones se indexaron para ZnO utilizando con la tarjeta JCPDS No. 00-036-1451. Estos resultados confirman la cristalinidad de las MPs de ZnO en las tres morfologías.

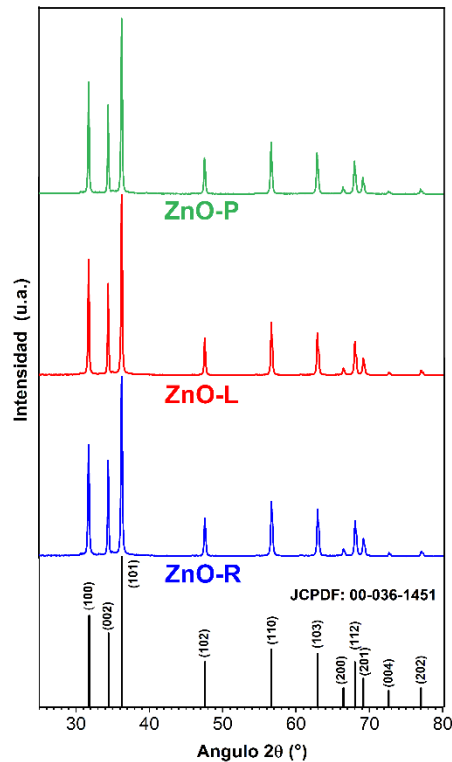


Figura 2. Patrones de difracción de rayos X (DRX) de las tres MPs de ZnO: ZnO-P (verde), ZnO-L (rojo) y ZnO-R (azul). Todos los picos de difracción se indexan con la estructura hexagonal de wurtzita del ZnO (JCPDF: 00-036-1451).

Actividad antifúngica de MPs de ZnO frente a *Rhizoctonia* sp.

Observación macroscópica. El crecimiento micelial promedio (mm) de *Rhizoctonia* sp. durante los días de incubación se muestra en la Figura 3. Los valores corresponden a la media de tres réplicas de la prueba antifúngica y las barras de error representan la desviación estándar. El primer día, el control negativo mostró un crecimiento de 13.5 ± 0.42 mm (Figura 3E). A la concentración más baja (200 ppm), con el ICF se observó un tamaño de 11.9 ± 0.57 mm (Figura 3D). Por el contrario, en la muestra de ZnO-P se midió un crecimiento de 12.6 ± 2.11 mm (Figura 3A), lo que indica actividad antifúngica en esta etapa temprana con los tratamientos empleando MPs de ZnO. A la misma concentración, la muestra de ZnO-L presentó un diámetro de 8.9 ± 0.26 mm (Figura 3B) y la de ZnO-R, de 8.3 ± 0.36 mm (Figura 3C).

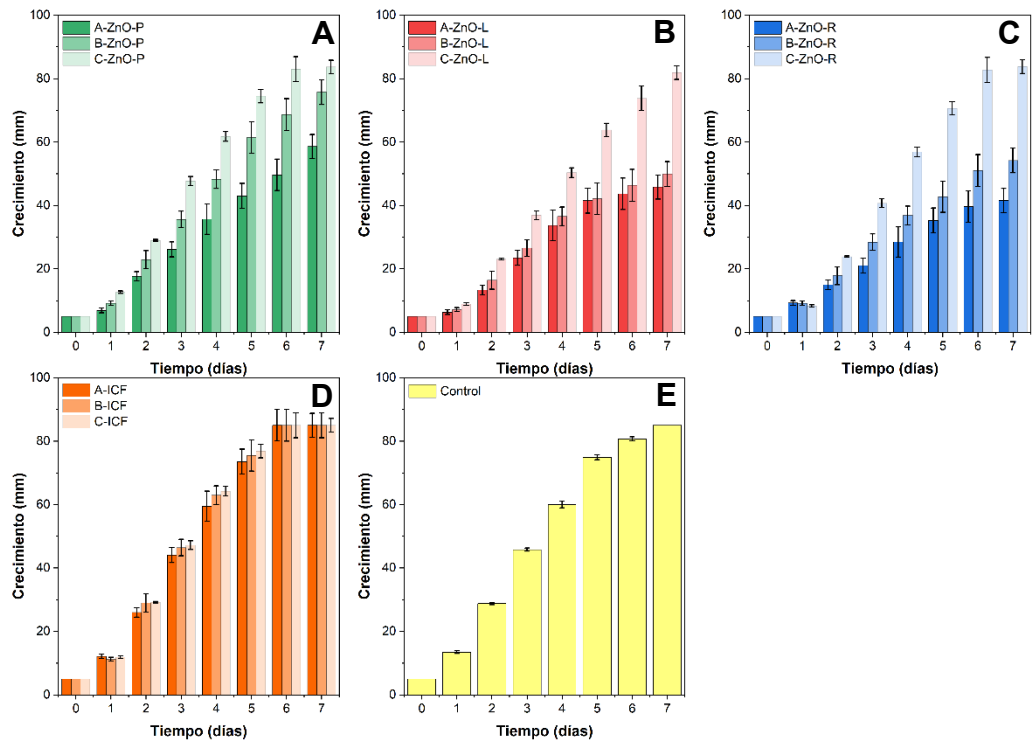


Figura 3. Crecimiento (mm) de *Rhizoctonia* sp. respecto al tiempo (días) con las muestras (A) ZnO-P, (B) ZnO-L y (C) ZnO-R comparadas con ICF (D) y el control negativo (E). Las etiquetas (A, B y C) en las gráficas corresponden a las concentraciones A: 1000 ppm, B: 500 ppm y C: 200 ppm.

Después de tres días de incubación, el control negativo alcanzó un crecimiento de 45.7 ± 0.52 mm, valor inferior al obtenido con las concentraciones de 200 ppm y 500 ppm de ICF, que registraron 47.2 ± 2.5 mm y 46.4 ± 1.25 mm, respectivamente. También con 200 ppm de ZnO-P que alcanzó 47.7 ± 5.05 mm. El mismo día, con 1000 ppm de ZnO-R se observó la mayor actividad antifúngica, con una inhibición del crecimiento de 21 ± 2.36 mm.

Al sexto día, el control mostró un crecimiento de 80.7 ± 0.64 mm, que fue superado por las tres concentraciones de ICF y por las concentraciones de 200 ppm de ZnO-P y ZnO-R, que registraron crecimientos de 83 ± 3.46 mm y 82.7 ± 3.93 mm, respectivamente. Los resultados indican una menor eficacia antifúngica de los tratamientos en estas condiciones.

La inspección realizada con imágenes del séptimo día se presenta en la Figura 4, donde se ilustran con mayor detalle las diferencias entre los tratamientos. En estas imágenes, los números (1, 2 y 3) representan las tres repeticiones, y las letras A, B y C indican las concentraciones de 1000, 500 y 200 ppm, respectivamente. A 200 ppm (columna C) los tratamientos con MPs de ZnO no mostraron una diferencia notable en comparación con el control negativo (Figura 4E). A la concentración de 500 ppm (columna B), la muestra ZnO-P (Figura 4A) fue el tratamiento que causó la menor inhibición, aparte del ICF, seguido de la muestra ZnO-R (Figura 4C). Por el contrario, con 500 ppm de la muestra ZnO-L (Figura 4B) se observó la mayor inhibición de *Rhizoctonia* sp. A 1000 ppm (columna A) se observó una inhibición significativa en todos los tratamientos, siendo ZnO-R (Figura 4C) el que mostró la mayor actividad antifúngica, seguido de ZnO-L (Figura 4B).

Otra observación importante fue la presencia de esclerocios, las estructuras resistentes de *Rhizoctonia* sp., a 200 ppm en todos los tratamientos y el ICF. A 500 ppm, solo el ZnO-

P (Figura 4A) presentó esclerocios, mientras que, a 1000 ppm, ninguno de los tratamientos dio lugar a su formación.

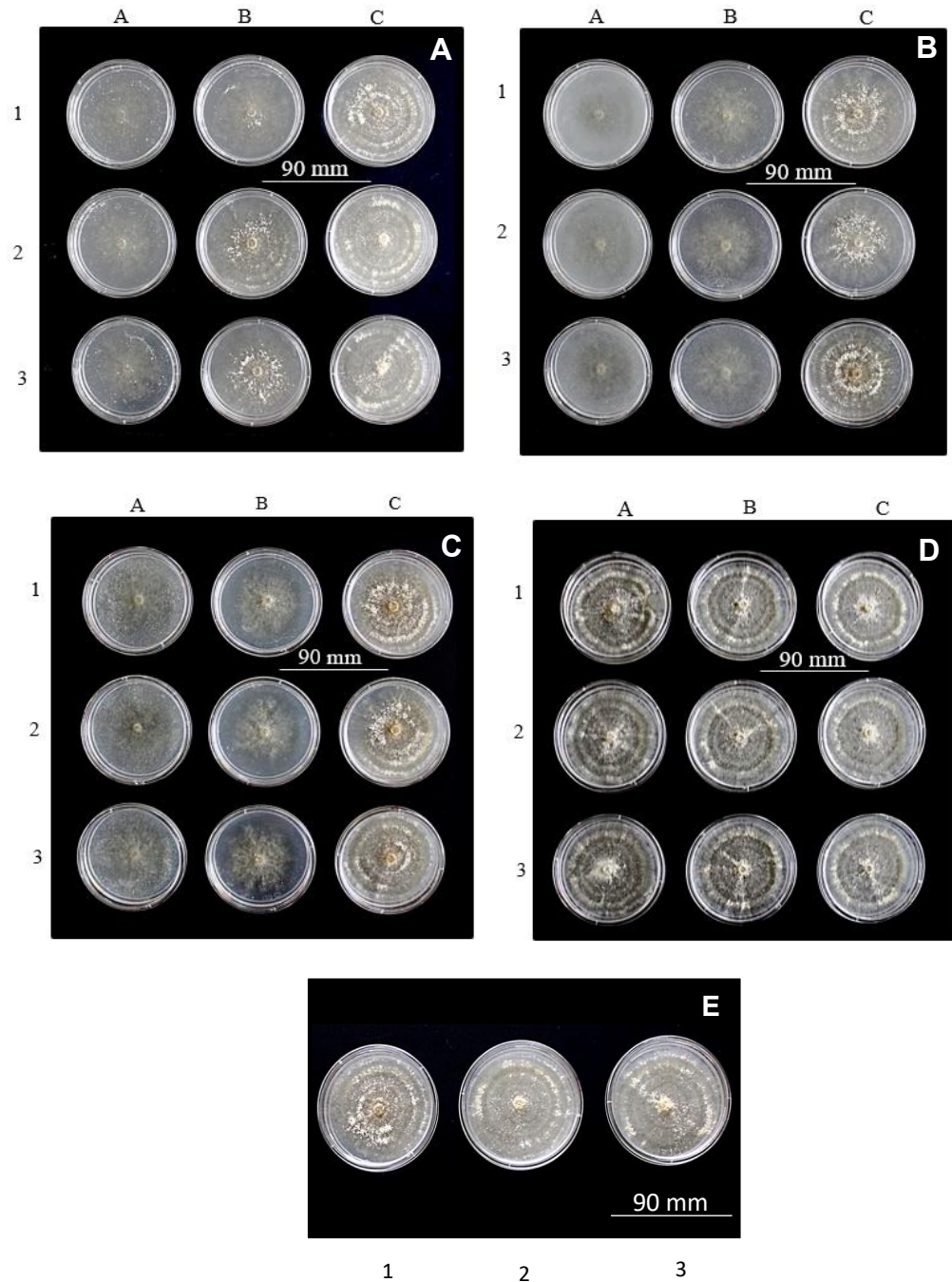


Figura 4. Morfología macroscópica del micelio aéreo. *Rhizoctonia* sp. en agar PDA con MPs: las imágenes se obtuvieron en la inspección del séptimo día, (A) ZnO-P, (B) ZnO-L, (C) ZnO-R en comparación con ICF (D) y el control negativo (E). Las etiquetas de las columnas (A, B y C) en los gráficos representan las siguientes concentraciones: A, 1000 ppm; B, 500 ppm; y C, 200 ppm. Los números etiquetados como 1, 2 y 3 representan el número de repeticiones.

Observación microscópica. Las imágenes de la formación de hifas en sinema fueron obtenidas con un microscopio óptico y se muestran en la Figura 5. Las etiquetas A, B y C corresponden a concentraciones de 1000, 500 y 200 ppm, respectivamente. Estas imágenes revelaron hifas septadas largas de tamaño uniforme para el control negativo. La

ramificación de estas hifas fue perpendicular y las puntas de los septos terminales aparecen ligeramente curvadas y estrechas.

Los tratamientos con 200 ppm de las muestras de ZnO-P y ZnO-L, 500 ppm con la muestra de ZnO-P y 200, 500, 1000 ppm de ICF, mostraron la formación de hifas parecidas a estructuras sinémicas, caracterizadas por conidióforos agrupados en penachos o formaciones en forma de cepillo (Ormeño, 2024). Además, a 200 ppm se observó una pérdida notable de la integridad de la membrana plasmática, especialmente en ZnO-R, donde el grosor de las hifas cambió, y en ZnO-L, se produjo un enrollamiento de las hifas.

A la concentración más alta (1000 ppm, fila A), todos los tratamientos dieron lugar a una pérdida completa de la estructura micelial, con un grosor variable de las hifas, presentando hifas enrolladas y condensación de material, la cual se cree que es citoplasma, según se observó al microscopio óptico (Figura 5).

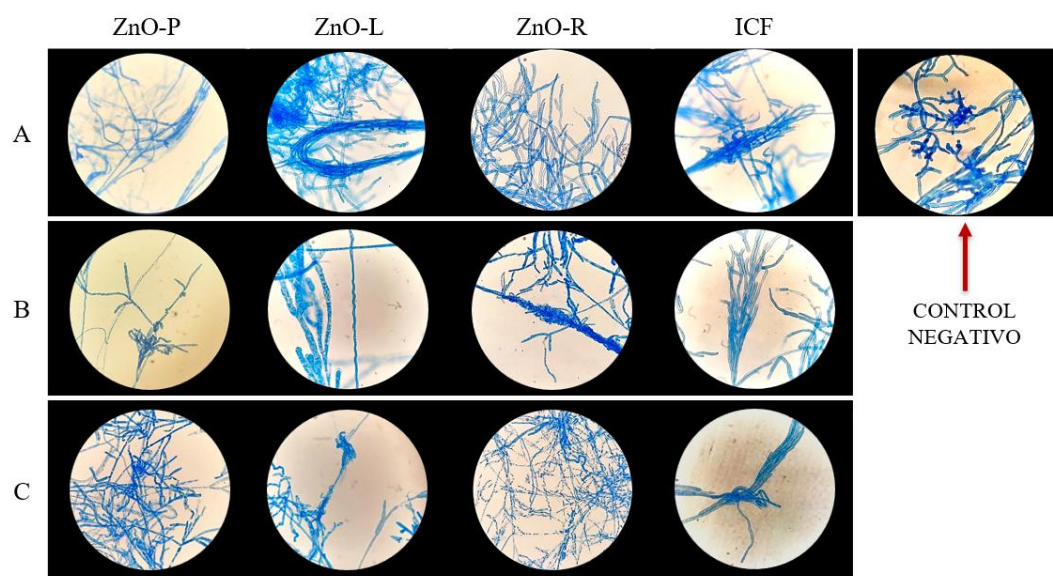


Figura 5. Morfología microscópica de *Rhizoctonia* sp. en agar PDA con concentraciones de MPs de ZnO, A: 1000 ppm, B: 500 ppm y C: 200 ppm; ZnO-P, ZnO-L, ZnO-R en comparación con ICF y el control negativo tras 7 días de crecimiento. El aumento del microscopio óptico fue de 40X. Usando tinción azul de lactofenol.

Análisis estadístico. Los resultados de los análisis de datos relativos a la hipótesis de normalidad se muestran en el análisis de la prueba de Grubbs, que evidencia la ausencia de valores atípicos ($p = 0.05$), similarmente la prueba de Kolmogorov-Smirnov comprobó la hipótesis de normalidad ($p=0.05$).

Los resultados de la ANOVA se presentan en Cuadro 1. El valor F del modelo fue estadísticamente significativo ($p < 0.05$), lo que indica que el modelo lineal es adecuado para el análisis. El valor de R^2 fue de 0.98, lo que indica que el modelo explica la varianza de manera significativa. Además, para todas las fuentes de variación, los valores F calculados fueron notablemente superiores a los valores F críticos correspondientes ($F\text{-valor} \gg F_{\text{Crítico}}$) y, en todos los casos, los valores p asociados fueron < 0.05 . Estos resultados demuestran que los efectos observados son estadísticamente significativos y refuerzan la fiabilidad del modelo.

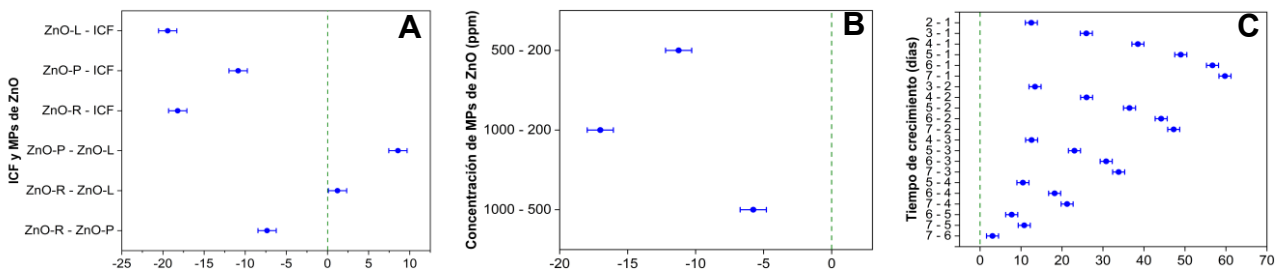
Cuadro 1. ANOVA para el crecimiento micelial (mm) en función del tipo y la concentración de MPs de ZnO, así como del tiempo de incubación (días).

Fuente	GL	SS	CM	F-valor	F _{Critic}	p-valor
MP	3	15052	5017.2	502.48	2.66	0.000
Concentración	2	12581	6290.4	630.00	3.05	0.000
Día	6	111770	18628.3	1865.68	2.13	0.000
MP* Concentración	6	4047	674.5	67.55	2.13	0.000
MP*Día	18	3246	180.3	18.06	1.65	0.000
Concentración *Día	12	3337	278.1	27.85	1.74	0.000
MP* Concentración*Día	36	2051	57.0	5.71	1.49	0.000

GL: grados de libertad. SS: Suma de cuadrados. CM: Cuadrados medios. F: Estadístico de Fisher calculado y crítico. p: probabilidad.

El ANOVA reveló diferencias significativas en los factores tratamiento, concentración y tiempo, así como en las interacciones dobles y triples con respecto a la variable de respuesta (crecimiento). Los resultados obtenidos mediante el ANOVA respaldan las observaciones previas de las Figuras 3 y 4.

El análisis comparativo de medias utilizando la prueba LSD de Fisher se muestra en las Figuras 6A, 6B y 6C, que corresponden a las comparaciones entre tratamientos, concentraciones y días, respectivamente. Como se puede observar, la comparación de medias en los diferentes niveles tanto para el tratamiento como para la concentración en los días respectivos revela diferencias significativas, ya que ninguno de los intervalos contiene un valor de 0.



Si un intervalo no contiene cero, las medias correspondientes son significativamente diferentes.

Figura 6. Prueba de diferencias de medias para el crecimiento (mm) mediante la prueba LSD de Fisher para (A) tratamientos, (B) concentraciones y (C) tiempo (días).

DISCUSIÓN

Aunque los patrones de DRX confirman la misma fase cristalina en todas las muestras, las micrografías SEM revelan diferencias morfológicas significativas entre las partículas. Las variaciones observadas en la forma y el tamaño de las partículas confirman que las condiciones de síntesis tienen una influencia notable en la morfología (Gulati *et al.*, 2016; Moazzen *et al.*, 2012; Phan y Nguyen, 2017; Shaba *et al.*, 2021).

El crecimiento macroscópico de los hongos revela la actividad antifúngica de las MPs de ZnO en función de la concentración contra *Rhizoctonia* sp. Aunque se observó una inhibición mínima a 200 ppm, especialmente con ZnO-P e ICF, las MPs de ZnO-L y ZnO-R mostraron una mayor inhibición inicial del crecimiento fúngico a la misma concentración. Estas cualidades de las partículas sugieren que tanto la morfología como las

propiedades superficiales influyen en su rendimiento antifúngico, tal y como se ha descrito en estudios anteriores (Cruz *et al.*, 2023; Mantecón, 2015).

La significativa disminución del crecimiento fúngico observada en la muestra de ZnO-R a 1000 ppm indica un efecto antifúngico especialmente fuerte, que puede atribuirse a su morfología alargada, que proporciona una mayor superficie activa y facilita interacciones más eficaces con las células fúngicas (Descanse *et al.*, 2023). Este comportamiento dependiente de la morfología ha sido ampliamente documentado en la literatura sobre nanoestructuras de ZnO, donde se ha observado que la forma y el tamaño se correlacionan con una mayor eficacia antimicrobiana (Tsrör, 2010; Mendes *et al.*, 2024).

Además, la ausencia de formación de esclerocios a concentraciones más altas es muy significativa. Los esclerocios sirven como estructuras de supervivencia para *Rhizoctonia* sp., lo que les permite persistir en condiciones adversas y constituye el inóculo primario para futuras infecciones (Tsrör, 2010). La supresión de los esclerocios a 1000 ppm en todos los tratamientos, especialmente con las MPs de ZnO-L y ZnO-R, sugiere que estas partículas inhiben el crecimiento fúngico y también interfieren en el ciclo de vida del patógeno, lo que ofrece una ventaja potencial frente al tratamiento convencional con ICF (Mantecón, 2015).

Los resultados, revelados por imágenes microscópicas, muestran que las MPs de ZnO tienen un efecto morfológico significativo sobre las hifas de *Rhizoctonia* sp. y que la intensidad de este efecto aumenta a concentraciones más altas. La presencia de estructuras similares a sinemas en los tratamientos con ZnO-P y ZnO-L, así como en los que contienen ICF, sugiere que la exposición a estos agentes puede inducir adaptaciones morfológicas o respuestas de estrés en el hongo (Ormeño, 2024).

Las diferencias observadas en el diámetro y el enrollamiento de las hifas, especialmente con los tratamientos de las muestras ZnO-R y ZnO-L, indican un deterioro celular y podrían reflejar alteraciones en el crecimiento de la pared celular y la estabilidad del citoesqueleto, fenómenos que se describen habitualmente en células fúngicas expuestas a nanomateriales. Estos cambios morfológicos concuerdan con estudios previos que describen alteraciones inducidas por nanomateriales en hongos (Desvani *et al.*, 2018; Garrido, 2016).

A la concentración más alta, la pérdida completa de la morfología micelial, junto con la condensación citoplasmática, sugiere un daño celular grave. Estos efectos pueden atribuirse a mecanismos de estrés oxidativo, en los que las nanopartículas alteran los orgánulos celulares y aumentan la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) (Fu *et al.*, 2014; León *et al.*, 2022). El rol de las ROS en la toxicidad inducida por nanopartículas está ampliamente documentado, ya que pueden provocar peroxidación lipídica, desnaturalización de proteínas y daño al ADN, lo que finalmente conduce a la muerte celular (Fu *et al.*, 2014).

Estos resultados muestran el potencial de las MPs de ZnO, especialmente a concentraciones elevadas, para ejercer actividad antifúngica mediante la alteración física de las estructuras celulares y los mecanismos bioquímicos relacionados con el estrés oxidativo. Este doble efecto de acción podría posicionar a las MPs de ZnO como una alternativa prometedora o como complemento de los agentes antifúngicos tradicionales en el tratamiento de patógenos como *Rhizoctonia* sp.

Los análisis estadísticos confirman la fiabilidad de los datos experimentales y la idoneidad de emplear métodos paramétricos para una evaluación más detallada. La ausencia de valores atípicos y la verificación de la normalidad mediante las pruebas de Grubbs y Kolmogorov-Smirnov, junto con los gráficos de residuales, proporcionan pruebas

sólidas que respaldan la integridad del conjunto de datos. Esta rigurosa validación estadística es esencial para evaluar fenómenos biológicos, especialmente en ensayos antifúngicos, donde la variabilidad puede ser elevada (Field, 2013).

Los resultados significativos del ANOVA indican que los factores como tipo de tratamiento, concentración y tiempo de exposición (en días) tienen una fuerte influencia en el crecimiento fúngico. El alto valor de R^2 (0.98) indica un excelente ajuste del modelo a los datos experimentales, lo que sugiere que casi toda la variabilidad en las mediciones de crecimiento se explica por las variables experimentales y sus interacciones. Estos hallazgos son coherentes con las tendencias observadas en las Figuras 3 y 4, que enfatizan las diferencias morfológicas y de crecimiento entre los tratamientos.

La prueba LSD de Fisher aclara aún más las diferencias específicas entre los grupos de tratamiento, las concentraciones y el tiempo de inoculación en días, revelando diferencias significativas entre todas las condiciones evaluadas. El hecho de que ninguno de los intervalos de confianza incluya el cero refuerza la conclusión de que los tratamientos tuvieron efectos medibles y estadísticamente significativos sobre el crecimiento fúngico. Los resultados estadísticos validan las observaciones experimentales y confirman la eficacia de tratamientos específicos con MPs de ZnO, utilizando concentraciones más altas y tiempos de exposición prolongados, para inhibir el crecimiento fúngico. Estos resultados respaldan la posible aplicación de las MPs de ZnO con morfología de varillas (ZnO-R) como agentes antifúngicos, lo que justifica futuras investigaciones destinadas a explorar su eficacia en diferentes condiciones ambientales y contra otros hongos fitopatógenos.

CONCLUSIONES

Las partículas de ZnO con distintas morfologías mostraron una variación significativa en su actividad antifúngica. Al comparar las MPs de ZnO con las morfologías de prismas hexagonales, láminas y varillas a 200 ppm, se concluye que ninguna de ellas presenta actividad antifúngica. Sin embargo, a 500 ppm y 1000 ppm, todas las MPs de ZnO analizadas mostraron un efecto inhibitorio, tanto en el crecimiento como en la presencia de esclerocios. En la concentración media, las partículas laminares (ZnO-L) dieron los mejores resultados. Por el contrario, a la concentración máxima, las partículas tipo varilla (ZnO-R) resultaron ser las inhibitorias más eficaces. El efecto de la morfología y la concentración de MPs de ZnO, así como el tiempo en días y sus interacciones, fue estadísticamente significativo en el crecimiento de *Rhizoctonia* sp. ($p \leq 0.05$).

Estos resultados confirman el potencial uso de MPs de ZnO como fungicida con distintas morfologías en la agricultura. Sin embargo, es necesario realizar estudios *in vivo* para verificar y visualizar los efectos de las partículas de ZnO en las plantas.

Limitaciones

Este estudio se llevó a cabo en condiciones *in vitro*, por lo tanto, los resultados pueden diferir en entornos reales o en sistemas biológicos más complejos. Solo se evaluó un patógeno (*Rhizoctonia* sp.), lo que limita la generalización de los hallazgos a otras especies de hongos. Además, no se evaluaron los posibles efectos ecotoxicológicos o fitotóxicos de las MPs de ZnO, lo cual debería abordarse en futuros estudios.

Conflictos de interés

Los autores declaran que no tienen ningún conflicto de interés en relación con la publicación de este artículo.

Financiamiento

Esta investigación no recibió financiamiento externo.

Agradecimientos

La primera autora agradece a la SECIHTI el apoyo económico como ayudante de investigador del SNII-III. Los autores desean agradecer a los laboratorios del CIMAV, Chihuahua, México, especialmente a Andrés Issak González Jacquez, César C. Porras Leyva, Marco A. Ruiz Esparza y Raul Ochoa por la ayuda técnica en la adquisición de resultados experimentales. También se agradece a la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Chihuahua por proporcionar el espacio para la evaluación antifúngica de las partículas de ZnO y a Yecli Cecilia Varela Lozano por su apoyo y colaboración continua en el desarrollo experimental.

Contribución de autores

Flor Macías-Mendoza: Conceptualización, adquisición y procesamiento de datos, redacción – borrador original. **Laila Muñoz-Castellanos:** Metodología, Validación, redacción – revisión y edición. **Juan C. Pantoja-Espinoza:** Análisis formal, supervisión, visualización, redacción – revisión y edición. **Francisco Paraguay-Delgado:** Investigación, administración del proyecto, redacción – revisión y edición.

REFERENCIAS

- Akber MA, Mubeen M, Sohail MA, Khan SW, Solanki MK, *et al.* 2023. Global distribution, traditional and modern detection, diagnostic, and management approaches of *Rhizoctonia solani* associated with legume crops. *Frontiers in Microbiology* 13:1091288. doi: 10.3389/fmicb.2022.1091288.
- Al-Dhabaan F, Shoala T, Ali A, Alaa M and Abd-Elsalam K. 2017. Chemically-produced copper, zinc nanoparticles and chitosan–bimetallic nanocomposites and their antifungal activity against three phytopathogenic fungi. *International Journal of Agricultural Technology*. 13:753-769. ISSN 1686-9141
- Al-Zaidi W, Ali A, and Muhsen T. 2023. Efficacy of nanoparticle zinc oxide in the resistance of fungus *Rhizoctonia solani* causing black scurf disease in local potatoes. *Caspian Journal of Environmental Sciences* 21:95–103. <https://doi.org/10.22124/CJES.2023.6199>
- Arciniegas P, Patiño M, Mosquera L, Guerrero J and Rodríguez J. 2017. ZnO nanoparticles (ZnO-NPs) and their antifungal activity against coffee fungus *Erythricium salmonicolor*. *Applied Nanoscience* 7:225–241. <https://doi.org/10.1007/s13204-017-0561-3>
- Ajayi O and Bradley C. 2018. *Rhizoctonia solani*: Taxonomy, population biology and management of *Rhizoctonia* seedling disease of soybean. *Plant Pathology* 67:3–17. <https://doi.org/10.1111/ppa.12733>
- Carmona M y Sautua F. 2017. La problemática de la resistencia de hongos a fungicidas. causas y efectos en cultivos extensivos. *Agronomía & Ambiente* 37:1-19. <http://agronomiayambiente.agro.uba.ar/index.php/AyA/article/view/60->
- Cruz G, Solis R, Ramirez J, Solis J, Gómez M, *et al.* 2023. Actividad de recubrimientos de quitosano, nanopartículas de quitosano y ZnO contra hongos aislados e identificados molecularmente de frutas con potencial de exportación en la zona norte del Perú. *Manglar* 20:397-403. <https://doi.org/10.57188/manglar.2023.046>
- De la Rosa S, Martínez P, Gomez S, Corral M, Quintana P, *et al.* 2018. Antifungal activity of ZnO and MgO nanomaterials and their mixtures against *Colletotrichum gloeosporioides* strains from tropical fruit. *Bioinorganic Chemistry and Applications* 2018:3498527. <https://doi.org/10.1155/2018/3498527>

- Derbalah A, Elsharkawy MM, Hamza A and El-Shaer A. 2019. Resistance induction in cucumber and direct antifungal activity of zirconium oxide nanoparticles against *Rhizoctonia solani*. Pesticide Biochemistry and Physiology 157:230–236. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2019.03.018>
- Descanse J, Betancourth C, Salazar C y Sañudo B. 2023. Estudio epidemiológico de *Rhizoctonia solani* Kühn en cinco genotipos comerciales de papa (*Solanum tuberosum* L.) de Nariño. Revista de Investigación Agraria y Ambiental 14:73-89. <https://doi.org/10.22490/21456453.6353>
- Desvani S, Lestari I, Wibowo H, Supyani N, Poromarto S, *et al.* 2018. Morphological characteristics and virulence of *Rhizoctonia solani* isolates collected from some rice production areas in some districts of Central Java. AIP Conference Proceedings 2011:020068. <https://doi.org/10.1063/1.5054472>
- DGSV-CNRF. 2020. Dirección General de Sanidad Vegetal. Obtenido de: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/600968/Pudrici_n_de_la_ra_z.pdf. Consulta, octubre 2024.
- Field A. 2013. Discovering statistics using IBM SPSS statistics. Fourth Edition. Sage Publications Ltd. USA. ISBN:978-1-4462-4918-5. https://scholar.google.com/scholar?hl=en&as_sdt=0%2C5&q=Discovering+statistics+using+IBM+SPSS+statistics&btnG=
- Fu P, Xia Q, Hwang H, Ray P and Yu H. 2014. Mechanisms of nanotoxicity: Generation of reactive oxygen species. Journal of Food and Drug Analysis, 22: 64–75. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2014.01.005>
- García M. 2008. Reseña de “Aspectos de sistemática y biología del complejo *Rhizoctonia*”. Fitosanidad 12:147-159. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=209115572003>
- Garrido C. 2016. Evaluación de la actividad micoparasítica de 15 cepas de *Trichoderma* spp. frente a *Rhizoctonia solani*, utilizando frijol caupí (*Vigna unguiculata*) en laboratorio. Tesis, Universidad Nacional de Trujillo. Ciencias Agropecuarias. Trujillo, Perú.
- González A, Hernández A, Betancourt R, Ochoa Y, Valdez L, *et al.* 2021. Antifungal activity of zinc oxide nanoparticles in *Fusarium oxysporum*- *Solanum lycopersicum* pathosystem under controlled conditions. Journal of Phytopathology 169:533–544. <https://doi.org/10.1111/jph.13023>
- Guerrero E, Solís S, Hernández F, Flores A, Sandoval V, *et al.* 2007. Actividad biológica *in vitro* de extractos de *Flourensia cernua* D.C. en Patógenos de Postcosecha: *Alternaria alternata* (Fr.:Fr.) Keissl., *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. y Sacc. y *Penicillium digitatum* (Pers.:Fr.) Sacc. Revista Mexicana de Fitopatología 25:48–53. e-ISSN 2007-8080.
- Gulati S, Sachdeva M and Bhasin KK. 2018. Capping agents in nanoparticle synthesis: Surfactant and solvent system. AIP conference proceedings 1953:030214. <https://doi.org/10.1063/1.5032549>
- Jáquez-Matas SV, Pérez-Santiago G, Máquez-Linares MA y Pérez-Verdín G. 2022. Impactos económicos y ambientales de los plaguicidas en cultivos de maíz, alfalfa y nogal en Durango, México. Revista Internacional de Contaminación Ambiental. 38:219-233. <https://doi.org/10.20937/RICA.54169>
- Khan M and Siddiqui Z. 2021. Role of zinc oxide nanoparticles in the management of disease complex of beetroot (*Beta vulgaris* L.) caused by *Pectobacterium betavasculorum*, *Meloidogyne incognita* and *Rhizoctonia solani*. Horticulture, Environment, and Biotechnology 62:225–241. <https://doi.org/10.1007/s13580-020-00312-z>
- León J, Vázquez R and Juárez K. 2022. Desbalance del sistema antioxidante causado por la exposición a nanopartículas de óxido de zinc y óxido de cobre. Mundo Nano Revista Interdisciplinaria En Nanociencia y Nanotecnología 15:1-13. <https://doi.org/10.22201/ceiich.24485691e.2022.29.69701>
- Lira R, Méndez B, Santos G y Vera RI. 2018. Potencial de la nanotecnología en la agricultura. Acta universitaria 28:9–24. <https://doi.org/10.15174/au.2018.1575>
- Mantecón, J. 2015. Fungicidas aplicados al suelo como estrategia de manejo integrado de enfermedades en papa, bajo escenarios de elevada infestación inicial y residual. Revista Latinoamericana de la Papa 19:29-39 <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5512105>
- Mendes AR, Granadeiro CM, Leite A, Pereira E, Teixeira, *et al.* 2024. Optimizing Antimicrobial Efficacy: Investigating the Impact of Zinc Oxide Nanoparticle Shape and Size. Nanomaterials, 14: 638. <https://doi.org/10.3390/nano14070638>
- Moazzen MA, Borghei SM and Taleshi F. 2012. Change in the morphology of ZnO NPs upon changing the reactant concentration. Applied Nanoscience 3:295–302. <https://doi.org/10.1007/s13204-012-0147-z>
- Mridha D, Lamsal B and Antonangelo JA. 2025. Nanotechnology in agriculture: Innovations for sustainability and greenhouse gas mitigation-A review. Science of the Total Environment, 995:180065. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2025.180065>
- Ormeño, S. 2024. Introducción a los Hongos Fitopatógenos. E.T.S.I. en Topografía, Geodesia y Cartografía (UPM). Primera Edición. Madrid, España. 218p. Archivo Digital UPM. <https://oa.upm.es/82782/>
- Pariona N, Paraguay-Delgado F, Basurto-Cereceda S, Morales-Mendoza JE, Hermida-Montero LA, *et al.* 2020. Shape-dependent antifungal activity of ZnO particles against phytopathogenic fungi. Applied Nanoscience 10: 435-443. <https://doi.org/10.1007/s13204-019-01127-w>

- Phan CM and Nguyen HM. 2017. Role of Capping Agent in Wet Synthesis of Nanoparticles. The Journal of Physical Chemistry A 121:3213–3219. <https://doi.org/10.1021/acs.jpca.7b02186>
- Rodríguez V and Díaz E. 2024. Potencial de los nanomateriales en la agricultura: retos y oportunidades. Mundo Nano 17:1-20. <https://doi.org/10.22201/ceiich.24485691e.2024.32.69802>
- Sedefoglu N. 2023. Characterization and photocatalytic activity of ZnO nanoparticles by green synthesis method. Optik, 288: 171217. <https://doi.org/10.1016/j.ijleo.2023.171217>
- Shaba EY, Jacob JO, Tijani JO and Suleiman MA. 2021. A critical review of synthesis parameters affecting the properties of zinc oxide nanoparticle and its application in wastewater treatment. Applied Water Science 11:1-48. <https://doi.org/10.1007/s13201-021-01370-z>
- Tsrar, L. 2010. Biology, epidemiology and management of *Rhizoctonia solani* on potato. Journal of Phytopathology 158:649–658. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2010.01671.x>
- Zhu Y, Wu J, Chen M, Liu X, Xiong Y, *et al.* 2019. Recent advances in the biotoxicity of metal oxide nanoparticles: Impacts on plants, animals and microorganisms. Chemosphere 237:124403. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124403>