

**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE
NANOPARTÍCULAS DE PLATA
BIOSINTETIZADAS A PARTIR DE
EXTRACTOS DE TRES ESPECIES DE
Agave PARA INHIBIR *Bacillus licheniformis***

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF SILVER
NANOPARTICLES BIOSYNTHESIZED
FROM EXTRACTS OF THREE SPECIES
OF *Agave* TO INHIBIT *Bacillus licheniformis***

Martínez Martínez, Sandra Yarensy; Amaury Martín Arzate Fernández; María Guadalupe González Pedroza; Hilda García-Núñez y Eulogio De la Cruz Torres

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA BIOSINTETIZADAS A PARTIR DE EXTRACTOS DE TRES ESPECIES DE *Agave* PARA INHIBIR *Bacillus licheniformis*

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF SILVER NANOPARTICLES BIOSYNTHESIZED FROM EXTRACTS OF THREE SPECIES OF *Agave* TO INHIBIT *Bacillus licheniformis*



Actividad antibacteriana de nanopartículas de plata biosintetizadas a partir de extractos de tres especies de *Agave* para inhibir *Bacillus licheniformis*

Antibacterial activity of silver nanoparticles biosynthesized from extracts of three species of *Agave* to inhibit *Bacillus licheniformis*

Sandra Yarensy Martínez Martínez; Amaury Martín Arzate Fernández; María Guadalupe González Pedroza; Hilda García-Núñez y Eulogio De la Cruz Torres

ACTIVIDAD
ANTIBACTERIANA DE
NANOPARTÍCULAS DE
PLATA BIOSINTETIZADAS
A PARTIR DE EXTRACTOS
DE TRES ESPECIES DE
Agave PARA INHIBIR
Bacillus licheniformis

ANTIBACTERIAL
ACTIVITY OF SILVER
NANOPARTICLES
BIOSYNTHESIZED FROM
EXTRACTS OF THREE
SPECIES OF *Agave* TO
INHIBIT *Bacillus licheniformis*

POLIBOTÁNICA

Instituto Politécnico Nacional

Núm. 58: 149-157. Julio 2024

DOI:
10.18387/polibotanica.58.10

Sandra Yarensy Martínez Martínez <https://orcid.org/0009-0006-9317-545X>

Amaury Martín Arzate Fernández

Autor de correspondencia: amaury1963@yahoo.com.mx

<https://orcid.org/0000-0001-8603-0099>

Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Fitomejoramiento, Facultad de Ciencias Agrícolas, UAEMéx, Toluca, Estado de México, México

María Guadalupe González Pedroza <https://orcid.org/0000-0002-6095-9673>

Departamento de Biotecnología, Facultad de Ciencias, UAEMéx,

Toluca, Estado de México, México

Hilda García-Núñez

Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Fitomejoramiento, Facultad de Ciencias Agrícolas, UAEMéx, Toluca, Estado de México, México

Eulogio De la Cruz Torres <https://orcid.org/0000-0002-6870-1765>

Departamento de Biología, Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares, Ocoyoacac, Estado de México, México

RESUMEN: *Bacillus licheniformis* es un agente contaminante del cultivo *in vitro* de plantas de agave, lo cual provoca pérdidas en su propagación. El uso de nanopartículas de plata (AgNPs) biosintetizadas a partir de extractos acuosos de especies de este género, es una alternativa ecológica para controlar la contaminación causada por este microorganismo. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la actividad antibacteriana de AgNPs biosintetizadas a partir de extractos acuosos de tres especies de *Agave* (*A. tequilana*, *A. cupreata* y *A. salmiana*), como agentes reductores para biosintetizar AgNPs, para inhibir el crecimiento de *B. licheniformis* y caracterizar las nanopartículas biosintetizadas. Para la biosíntesis de AgNPs se probaron extractos acuosos de tres especies de *Agave* y seis concentraciones relación volumen de Ag: volumen de extracto. Se evaluó la actividad antibacteriana mediante la prueba de sensibilidad de Kirby-Bauer y finalmente, las AgNPs se caracterizaron mediante análisis espectroscópico UV-Vis, microscopía electrónica de transmisión y espectroscopia de rayos X de energía dispersiva. Las AgNPs biosintetizadas a partir de *A. tequilana* y *A. cupreata* que presentaron un menor tamaño mostraron una mejor eficacia antibacteriana contra *B. licheniformis* que las AgNPs con un tamaño mayor, biosintetizadas a partir de *A. salmiana*. Nuestros resultados proporcionan un método ecológico, simple y de bajo costo para la biosíntesis de AgNPs con actividad antibacteriana.

Palabras clave: *Agave tequilana*; *Agave cupreata*; *Agave salmiana*; nanopartículas; actividad antibacteriana.

ABSTRACT: *Bacillus licheniformis* is a contaminating agent in the *in vitro* cultivation of agave plants, which causes losses in its propagation. The use of silver nanoparticles (AgNPs) biosynthesized from aqueous extracts of species of this genus is an ecological alternative to control the contamination caused by this microorganism. The objective of the present work was to evaluate the antibacterial activity of AgNPs biosynthesized from aqueous extracts of three species of *Agave* (*A. tequilana*, *A. cupreata* and *A. salmiana*), as reducing agents to biosynthesize AgNPs, to inhibit the growth of *B. licheniformis* and characterize the biosynthesized

nanoparticles. For the biosynthesis of AgNPs, aqueous extracts of three *Agave* species and six concentrations ratio volume of Ag: volume of extract were evaluated.

The antibacterial activity was evaluated using the Kirby-Bauer sensitivity test and finally, the AgNPs were characterized by UV-Vis spectroscopic analysis, transmission electron microscopy and energy-dispersive X-ray spectroscopy. The AgNPs biosynthesized from *A. tequilana* and *A. cupreata* that had a smaller size showed better antibacterial efficacy against *B. licheniformis* than the AgNPs with a larger size, biosynthesized from *A. salmiana*. Our results provide a green, simple, and low-cost method for the biosynthesis of AgNPs with antibacterial activity.

Key words: *Agave tequilana*; *Agave cupreata*; *Agave salmiana*; nanoparticles; antibacterial activity.

INTRODUCCIÓN

El cultivo del género *Agave* tiene gran demanda debido a su importancia social, económica y cultural. Una de las principales problemáticas fitosanitarias que afecta la calidad de este, es la presencia de agentes patógenos causantes de enfermedades tanto en condiciones *in vitro* como *ex vitro*. En este sentido se ha reportado la presencia de *Bacillus licheniformis*, una bacteria grampositiva endógena (Martínez-Rodríguez *et al.*, 2019), que coloniza el tejido interno de la raíz y tallo de la planta, lo cual dificulta la propagación *in vitro* de la especie (Abreu *et al.*, 2016). Aunado a esto, el control por métodos químicos es ineficiente, incrementa los costos de propagación y genera un impacto negativo al ambiente. Por lo tanto, los investigadores se han centrado en el desarrollo de nuevos productos antimicrobianos, biodegradables y renovables (Hind *et al.*, 2016). En este sentido, se ha reportado el efecto antibacteriano de nanopartículas de plata, con aplicaciones potenciales en los campos de salud, medicina y agricultura (Carrillo *et al.*, 2014). Hoy en día, para la síntesis de nanopartículas verdes, se emplean varios componentes biológicos como microbios, algas, enzimas y extractos de plantas de manera efectiva (Farah *et al.*, 2022). La síntesis de nanopartículas utilizando extractos de plantas se está utilizando como un enfoque innovador para la formulación de nanopartículas metálicas debido a su naturaleza rápida, económica, ecológica y segura. Factores como el tipo de extracto vegetal y su concentración pueden afectar las características morfológicas de las nanopartículas y su eficiencia antibacteriana (López-Naranjo *et al.*, 2018).

Por otro lado, en las cadenas productivas de bebidas alcohólicas derivadas del agave en las que se utiliza *A. tequilana* para la elaboración de tequila, *A. cupreata* para el mezcal y *A. salmiana* para el pulque, sólo la piña de esta planta tiene importancia comercial mientras que las hojas constituyen un residuo agroindustrial (Nava-Cruza *et al.*, 2015).

Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue evaluar la actividad antibacteriana de AgNPs biosintetizadas a partir de extractos acuosos de tres especies de agave (*A. tequilana*, *A. cupreata* y *A. salmiana*) para inhibir el crecimiento de *B. licheniformis* y caracterizar las nanopartículas biosintetizadas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación del extracto

Las plantas fueron obtenidas del Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Fitomejoramiento, Toluca, Estado de México. Se seleccionaron plantas de *Agave tequilana* (ATE), *A. cupreata* (ACU) y *A. salmiana* (ASA) de las cuales se recolectaron hojas de cada especie, se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 3% y se enjuagaron con agua destilada estéril. Posteriormente, las hojas se colocaron en un horno de secado a 45°C por tres meses para su deshidratación. Después de este periodo, se preparó el extracto acuoso de hoja para cada una de las especies de *Agave*: se mezcló 0.5 g de las hojas con 100 ml de agua destilada estéril y se calentó hasta punto de ebullición durante 1 minuto. Los extractos se filtraron diez veces y se realizó un segundo filtrado utilizando una unidad de ultrafiltración Amicon de 30 kDa para purificarlos.

Biosíntesis de AgNPs

Para la biosíntesis de nanopartículas se utilizó la metodología propuesta por González-Pedroza *et al* (2021), se utilizó una solución acuosa 0.1 mM de nitrato de plata (Sigma-Aldrich) y extractos de ATE, ACU y ASA en relación 0.1g de biomasa/mL. La biosíntesis, consiste en una reacción redox en la cual el agente reductor son los extractos acuosos y el agente oxidante es la sal precursora, las cuales se hacen reaccionar a punto de ebullición y pH neutro, para estos experimentos se utilizaron seis concentraciones de relación volumen de Ag: volumen de extracto (5:5, 5:3, 3:4, 2:5, 1:5 y 3:5), para las tres especies.

Ensayo antibacteriano

Para evaluar la actividad antibacteriana se siguió la prueba de sensibilidad de Kirby-Bauer, se extendieron 2 mL de suspensión de *Bacillus licheniformis* que contenía 1.8×10^5 UFC/mL sobre placas Petri con medio agar. Se colocaron discos con las seis concentraciones de extractos de AgNPs biosintetizadas a partir de ATE, ACU y ASA (Tabla 1), cada disco de 6 mm contenía 10 μ l de AgNPs. Las placas petri que contenían los tratamientos del bioensayo se incubaron a 28°C durante 24 horas. Después de este periodo, se midió el halo de inhibición generado por las AgNPs sobre *B. licheniformis*.

Tabla 1. Concentraciones de los tratamientos de la prueba de sensibilidad de Kirby-Bauer.

Table 1. Treatment concentrations of the Kirby-Bauer sensitivity test.

Tratamientos	Concentraciones
ATE+ <i>B. licheniformis</i>	[5:5=1, 5:3=2, 3:4=3, 2:5=4, 1:5=5, 3:5=6]
ACU+ <i>B. licheniformis</i>	[5:5=1, 5:3=2, 3:4=3, 2:5=4, 1:5=5, 3:5=6]
ASA+ <i>B. licheniformis</i>	[5:5=1, 5:3=2, 3:4=3, 2:5=4, 1:5=5, 3:5=6]
Control: <i>B. licheniformis</i>	

Caracterización de AgNPs

Se realizó un análisis espectroscópico UV-Vis para monitorear la formación de AgNPs utilizando un espectrofotómetro UV-Vis (espectrofotómetro VE-5100UV, VELAB EE. UU.) Se analizó en un rango de 200 a 800 nm, en modo de absorción.

Las propiedades estructurales de las nanoestructuras formadas, tales como morfología, tamaño de partículas y distribución de estas; fueron caracterizadas mediante un microscopio electrónico de transmisión (TEM) JEM 2010. El análisis elemental de las nanopartículas se evaluó mediante espectroscopia de rayos X de dispersión de energía (EDS).

Análisis estadístico

Los experimentos incluyeron un diseño totalmente aleatorio, con tres repeticiones y se realizaron por triplicado. Los datos obtenidos del ensayo antibacteriano se sometieron a un análisis de varianza seguido de una prueba de Tukey ($P \leq 0.05$) utilizando el software Stathgraphics versión Centurion.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Actividad antibacteriana

La actividad antibacteriana de AgNPs biosintetizadas a partir de extractos de agave se evaluó frente a *B. licheniformis*, una bacteria grampositiva. Se encontró que las AgNPs biosintetizadas a partir de extracto de agave inhiben el crecimiento de *B. licheniformis* (Figura 1). Se sabe que el mecanismo antibacteriano general de la plata es mediante la degradación de la pared celular y la inhibición de la actividad enzimática intracelular (Morales-Luckie *et al.*, 2016). También se ha propuesto que los iones de plata liberados de las nanopartículas de plata pueden inactivar la replicación del ADN y provocar la inhibición de las funciones enzimáticas como resultado de su interacción con restos de fósforo en el ADN (Sánchez-Vieyra *et al.*, 2023).

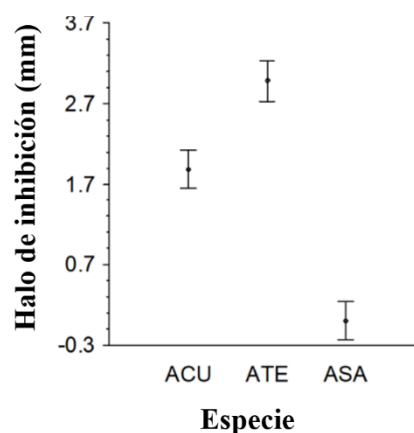


Figura 1. Gráfica de comparación de medias del efecto antibacteriano de AgNPs biosintetizadas con tres especies de *Agave* (*A. cupreata*= ACU, *A. tequilana*=ATE, *A. salmiana*= ASA).

Figure 1. Mean comparison graph of the antibacterial effect of AgNPs biosynthesized with three *Agave* species (*A. cupreata*= ACU, *A. tequilana*=ATE, *A. salmiana*= ASA).

Los análisis estadísticos ($P \leq 0.05$) mostraron que el mayor halo de inhibición hacia *B. licheniformis* con las AgNPs biosintetizadas fue con ATE cuyo halo fue de 2.9 mm, seguido de ACU con 1.9 mm; mientras que, con ASA, no se observó halo de inhibición. Esto evidencia una actividad antibacteriana diferente según el extracto de agave utilizado. La diferencia en la actividad antibacteriana del extracto de la planta depende de la variación de los componentes químicos presentes en el *Agave* (Ahumada-Santos *et al.*, 2013; García-Morales *et al.* 2022). Los principales compuestos bioactivos del género *Agave* son los polifenoles que engloban un gran grupo de compuestos, como flavonoides, quinonas, ácidos fenólicos, flavanoles, flavonas y taninos (Moreno-Luna *et al.*, 2022).

No se observó diferencia estadística en la aplicación de las seis concentraciones usadas en la biosíntesis de AgNPs con ATE para el control de *B. licheniformis*. Para el caso de ACU, se observó que el menor halo de inhibición se obtuvo en las concentraciones: 1 (5:5), 2(5:3) y 3 (3:4), mientras que para la concentración 5 (1:5) que presenta un mayor contenido de extracto de hoja se observó un aumento significativo con un valor de 2.9 mm de halo de inhibición (Figura 2B).

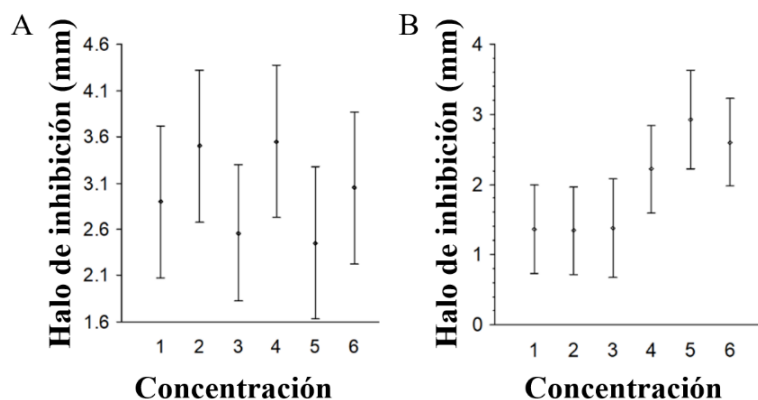


Figura 2. Gráfica de comparación de medias del efecto antibacteriano de AgNPs biosintetizadas utilizando seis concentraciones de relación volumen Ag: volumen extracto. A) *A. tequilana* y B) *A. cupreata*. 1= 5:5, 2= 5:3, 3= 3:4, 4= 2:5, 5= 1:5 y 6= 3:5.

Figure 2. Mean comparison graph of the antibacterial effect of biosynthesized AgNPs using six concentrations of Ag volume ratio: extract volume. A) *A. tequilana* and B) *A. cupreata*. 1= 5:5, 2= 5:3, 3= 3:4, 4= 2:5, 5= 1:5 and 6= 3:5.

Estos resultados concuerdan con lo reportado por López-Naranjo *et al.* (2018) quienes lograron mejorar la capacidad antibacteriana de AgNPs sobre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* utilizando una concentración alta de extracto de agave, lo que generó la presencia de un mayor contenido de AgNPs.

Caracterización de AgNPs

Los espectros de absorción de nanopartículas de plata suelen mostrar una banda de absorción de resonancia de plasmón entre longitudes de onda de 392 y 492 nm (Chowdhury *et al.*, 2016), lo que corrobora la presencia de AgNPs biosintetizadas en el presente trabajo.

Los valores de absorbancia para ATE en las seis concentraciones oscilaron de 0.5- 1.2 (Figura 3A), para ACU de 0.2 – 0.3 (Figura 3B), y en ASA se obtuvieron los valores más altos (1.2- 3.5) (Figura 3C) que pudieran estar relacionados con un mayor tamaño de partícula (5.6 nm). Se sabe que las ligeras variaciones en los valores de absorbancia están relacionadas con cambios en el tamaño y la concentración de las partículas (Tripathy *et al.*, 2010) causados por variaciones en la cantidad de metabolitos presentes en las especies (Asimuddin *et al.*, 2020).

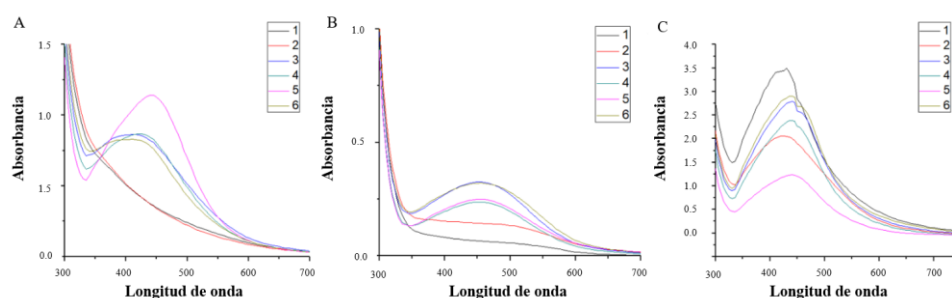


Figura 3. Espectros de rango UV-Vis de AgNPs biosintetizadas a partir de extractos de tres especies de *Agave*: A) *A. tequilana*, B) *A. cupreata* y C) *A. salmiana*, utilizando seis concentraciones de relación volumen Ag: volumen extracto. 1= 5:5, 2= 5:3, 3= 3:4, 4= 2:5, 5= 1:5 y 6= 3:5.

Figure 3. UV-Vis range spectra of AgNPs biosynthesized from extracts of three *Agave* species: A) *A. tequilana*, B) *A. cupreata* and C) *A. salmiana*, using six concentrations of Ag volume ratio: extract volume. 1= 5:5, 2= 5:3, 3= 3:4, 4= 2:5, 5= 1:5 and 6= 3:5.

Las imágenes TEM de las AgNPs se obtuvieron únicamente en la concentración 5 (1:5) de las tres especies de *Agave*. Se obtuvieron AgNPs cuasi esféricas con un tamaño de 3.5 nm, 2.1 y 5.6 para ATE (Figura 4A y B), ACU (Figura 4D y E) y ASA (Figura 4.G y H), respectivamente. Por otro lado, el histograma de distribución de tamaño de las AgNPs biosintetizadas a partir de ATE osciló entre ~1 y 20 nm ($X = 3,5$ nm, $\sigma = 2$ nm, Figura 4C), para ACU osciló entre ~0,5 y 11,5 nm ($X = 2,1$ nm, $\sigma = 0,8$ nm, Figura 4.F), y en ASA osciló entre ~1 y 50 nm ($X = 5,6$ nm, $\sigma = 6$ nm, Figura 4I).

La forma, el tamaño y la cantidad de nanopartículas tienen un efecto sobre el potencial antimicrobiano de las nanopartículas de plata (Iravani *et al.*, 2014). El tamaño de las nanopartículas metálicas garantiza que una superficie significativamente grande de las partículas esté en contacto con el efluente bacteriano.

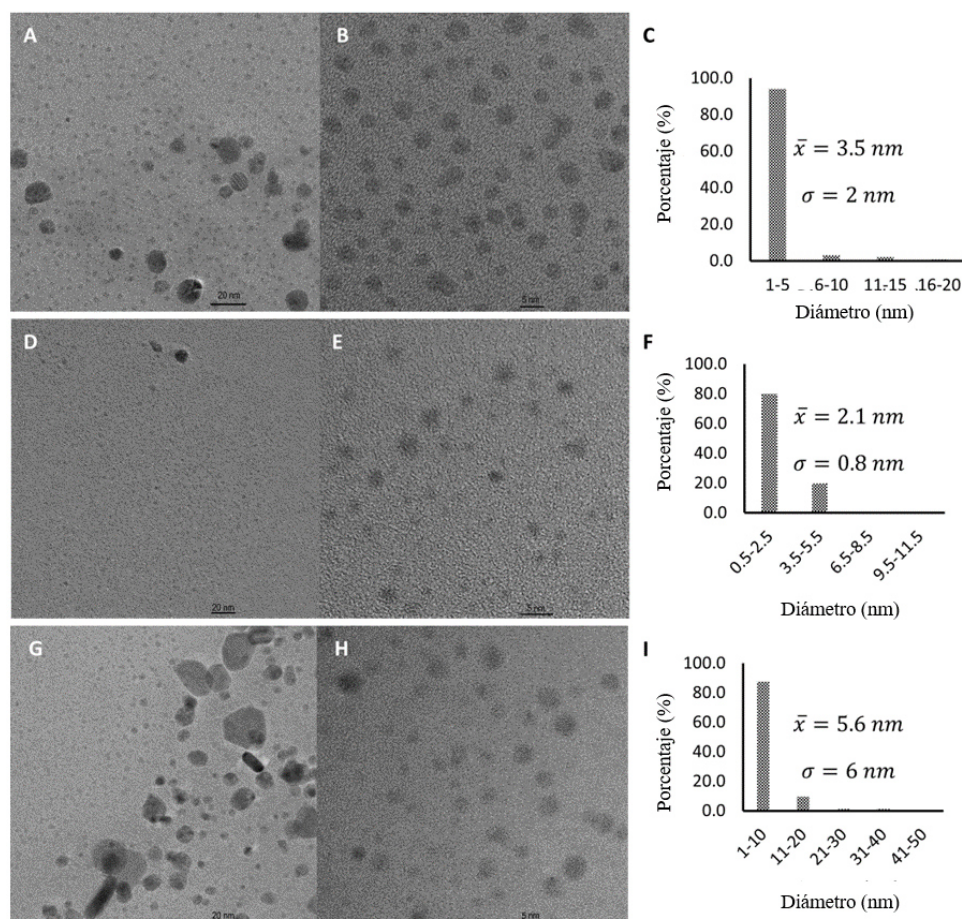


Figura 4. Imágenes TEM de nanopartículas de plata biosintetizadas a partir de tres especies de *Agave*: A-B) *A. tequilana*, D-E) *A. cupreata*, G-H) *A. salmiana* y C, F, I) histograma de distribución de tamaño de AgNPs, respectivamente.

Figure 4. TEM images of silver nanoparticles biosynthesized from three *Agave* species: A-B) *A. tequilana*, D-E) *A. cupreata*, G-H) *A. salmiana* and C, F, I) size distribution histogram of AgNPs, respectively.

La mayor aglomeración de AgNPs se obtuvo al utilizar el extracto de ASA como agente reductor. Sin embargo, cuando se utilizaron extractos ATE y ACU, no se observó aglomeración de partículas, lo que confirma la estabilidad de las soluciones de AgNPs (Chowdhury *et al.*, 2016). La estabilidad se considera una cuestión crucial con respecto a la aplicación de AgNPs, ya que la generación de agregados conduce a la pérdida de actividad antibacteriana (Kvítek *et al.* 2008).

El análisis EDS proporciona el estado cualitativo y cuantitativo de los elementos que pueden estar involucrados en la formación de nanopartículas. Generalmente, los nanocristales de plata metálica muestran un pico típico de alrededor de 3 keV correspondiente al elemento Ag (Ibrahim, 2015), como se muestra en la Figura 4, lo que confirma la existencia de este último.

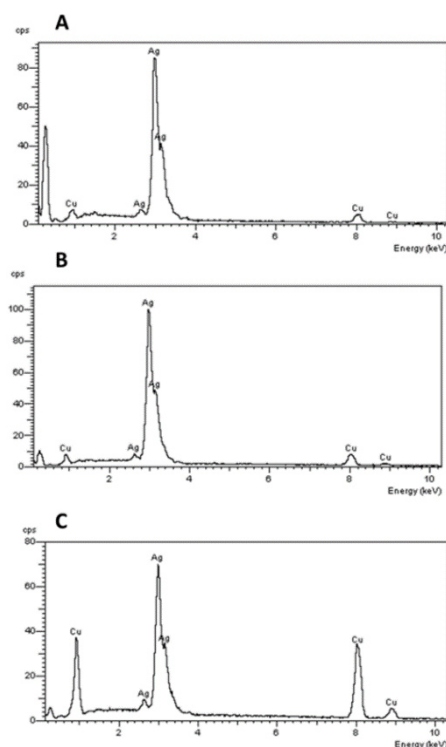


Figura 5. Perfil EDS de AgNPs biosintetizadas a partir de tres especies de *Agave*: A) *A. tequilana*, B) *A. cupreata* y C) *A. salmiana*.

Figure 5. EDS profile of AgNPs biosynthesized from three *Agave* species: A) *A. tequilana*, B) *A. cupreata* and C) *A. salmiana*.

CONCLUSIONES

Este es el primer informe que muestra el efecto antibacteriano de AgNPs biosintetizadas a partir de extractos de agave para el control de *B. licheniformis*.

Las AgNPs biosintetizadas a partir de ATE mostraron un mayor potencial antibacteriano, y podrían ser un control alternativo en la contaminación de cultivos *in vitro*.

Los espectros de absorción de AgNPs mostraron una banda de absorción de resonancia de plasmón entre longitudes de onda de 392 y 492 nm, lo que corroboró la presencia de AgNPs.

Las AgNPs presentaron una forma cuasi esférica con un tamaño de 3.5 nm con ATE, 2.1 nm con ACU y 5.6 nm con ASA.

LITERATURA CITADA

- Abreu, E., Sosa, M., Ascunce Del Sol, G., y González, G. (2016). Efecto de antibióticos en la propagación *in vitro* de *Agave fourcroydes* Lem. *Biología Vegetal*, 16 (1), 31–36.
- Ahumada-Santos, Y. P. Montes-Avila, J., Uribe-Beltrán, M.J., Díaz-Camacho, S.P., López-Angulo, G., Vega-Aviña, R., López-Valenzuela, J.A., José Basilio Heredia, J.B., y Delgado-Vargas, F. (2013). Chemical characterization, antioxidant and antibacterial activities of six *Agave* species from Sinaloa, Mexico. *Industrial Crops and Products*, 49, 143–149.
- Asimuddin, M., Rafi Shaik, M., Farooq, S., Rafiq, M., Alwarthan, A., Jamil, K., y Khan., M. (2020). *Azadirachta indica* based biosynthesis of silver nanoparticles and evaluation of their antibacterial and cytotoxic effects. *Journal of King Saud University - Science*, 32 (1), 648–656.

Recibido:
24/enero/2024

Aceptado:
20/junio/2024

- Chowdhury, N. R., MacGregor-Ramiasa, M., Zilm, P., Majewski, P., y Vasilev, K. (2016). 'Chocolate' silver nanoparticles: Synthesis, antibacterial activity and cytotoxicity. *Journal of Colloid and Interface Science*, 482, 151–158.
- Farah, S., Bashir, A., Laiba, A., Saad, A.K., Abdur, R., Anees, A.K., Afia, Z., Yahia, N.M., Zainab, M.A., Mohamed, F.R., y Javad, S.R. (2022). Antineoplastic and Cytotoxic Evaluation of Green AgNPs and Crude Extracts from *Agave americana*, *Mentha spicata*, and *Mangifera indica* Leaves. *Journal of Nanomaterials*, 2022, 1-13.
- García-Morales, S., Corzo-Jiménez, I.J., Silva-Córdova, N.F., Soto-Cordero, A.M., Rodríguez-Mejía, D.I., Pardo-Núñez, J., y León-Morales, J.M. (2022). Comparative study of steroidal saponin content in leaves of five *Agave* species. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 102 (13), 5653–5659.
- González-Pedroza, M.G., Argueta-Figueroa, L., García-Contreras, R., Jiménez-Martínez, Y., Martínez-Martínez, E., Navarro-Marchal, S.A., Marchal, J.A., Morales-Luckie, R.A., y Boulaiz, H. (2021). Silver Nanoparticles from *Annona muricata* Peel and Leaf Extracts as a Potential Potent, Biocompatible and Low Cost Antitumor Tool. *Nanomaterials*, 11, 1-17.
- Hind, E.O., Adel, Z., Ahmed, B., Moha, T., y François, B. (2016). Dielectric Properties of Paper Made from Pulps Loaded with Ferroelectric Particles. *Journal of Nanomaterials*, 2016, 1-10.
- Ibrahim, H. M. M. (2015). Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using banana peel extract and their antimicrobial activity against representative microorganisms. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 8, 265–275.
- Iravani, S., Korbekandi, H., Mirmohammadi, S. V., y Zolfaghari, B. (2014). Synthesis of silver nanoparticles: chemical, physical and biological methods. *Research in pharmaceutical sciences*, 9 (6), 385–406.
- Kvítek, L., Panacek, A., Soukupová, J., Kolář, M., Večeřová, R., Pucek, R., Holecová, M., y Zbořil, R. (2008). Effect of Surfactants and Polymers on Stability and Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles (NPs). *J. Phys. Chem. C*, 112, 5825–5834.
- López-Naranjo, E.J., Hernández-Rosales, I.P., Bueno-Durán, A.Y., Martínez-Aguilar, M.L., González-Ortiz, L.J., Pérez-Fonseca, A.A., Robledo-Ortiz, J.R., Sánchez-Peña, M.J., y Manzano-Ramírez, A. (2018). Biosynthesis of silver nanoparticles using a natural extract obtained from an agroindustrial residue of the tequila industry. *Materials Letters*, 213, 278-281
- Martínez-Rodríguez, A., Macedo-Raygoza, G., Huerta-Robles, A.X., Reyes-Sepulveda, I., Lozano-Lopez, J., García-Ochoa, E.Y., Fierro-Kong, L., Medeiros, Mascio, White, J. y Beltran-Garcia, M.J. (2019). *Agave seed endophytes: Ecology and impacts on root architecture, nutrient acquisition, and cold stress tolerance*. En: Verma, S., White, J. (eds) *Seed Endophytes*. Springer, Cham.139-170.
- Morales-Luckie, R.A., Lopezfuentes-Ruiz, A.A., Olea-Mejía, O.F., Liliana, A.F., Sanchez-Mendieta, V., Brostow, W., y Hinestroza, J.P. (2016). Synthesis of silver nanoparticles using aqueous extracts of *Heterotheca inuloides* as reducing agent and natural fibers as templates: *Agave lechuguilla* and silk. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 1;69, 429-436.
- Moreno-Luna, F.B., Herrera-Pérez, J.L., Bautista-Hernández, A., Meraz-Melo, M.A., Santoyo-Salazar, J., y Vázquez-Cuchillo, O. (2022). Biosynthesis of gold nanoparticles from *Agave potatorum* extracts: effect of the solvent in the extraction, *Materials Today Sustainability*, 20, 1-8.
- Nava-Cruza, N. Y., Medina-Morales, M. A., Martínez, J. L., Rodríguez, R., y Aguilera, C. N. (2015). *Agave* biotechnology: An overview. *Critical Reviews in Biotechnology*, 35 (4), 546–559.
- Sánchez-Vieyra, M.T., Ojeda-Martínez, M., Ocegüera-Contreras, E., Rodríguez-Preciado, S. Y., Díaz-Zaragoza, M., Martínez-Zérega, B. E., González-Solis, J. L., y Osegüera-Galindo, D. O. (2023). Eco-friendly high-rate formation of silver nanoparticles in agave inulin and its bactericidal effect against *Escherichia coli*. *Materials Science-Poland*, 41(3), 62-73.
- Tripathy, A., Raichur, A., Chandrasekaran, N., Prathna, T., and Mukherjee, A. (2010). Process variables in biomimetic synthesis of silver nanoparticles by aqueous extract of *Azadirachta indica* (Neem) leaves. *J Nanopart Res*, 2, 237–246.