



Efecto inhibitorio de nanotubos de carbono con extractos de *Bacillus amyloliquefaciens* sobre hongos fitopatógenos

Inhibitory effect of carbon nanotubes with metabolites of *Bacillus amyloliquefaciens* on pathogenic fungi

Antonio Orozco-Plancarte¹ ,
Ernesto Cerna-Chávez^{3*} ,
Yisa María Ochoa-Fuentes¹,
Jerónimo Landeros-Flores¹ ,
Diana Jasso-de Rodríguez¹ ,
Iliana Ernestina Medina-Ramírez² ,
Victor Olalde-Portugal³ 

¹Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Departamento de Parasitología. Calzada Antonio Narro No. 1923 col. Buenavista. CP. 25315. Saltillo, Coahuila, México.

²Departamento de Química, Universidad Autónoma de Aguascalientes. Avenida Universidad No. 940, Ciudad Universitaria. CP. 20131. Aguascalientes, Aguascalientes, Mexico.

³Departamento de Biotecnología y Bioquímica, Cinvestav, Unidad Irapuato. Libramiento Norte Carretera Irapuato-León Km 9.6. CP. 36824. Irapuato, Guanajuato, México.

*Autor de correspondencia:
jabaly1@yahoo.com

Nota científica

Recibida: 18 de octubre 2021

Aceptada: 01 de febrero 2022

Como citar: Orozco-Plancarte A, Cerna-Chávez E, Ochoa-Fuentes YM, Landeros-Flores J, Jasso-de Rodríguez D, Medina-Ramírez IE, Olalde-Portugal V (2022) Efecto inhibitorio de nanotubos de carbono con extractos de *Bacillus amyloliquefaciens* sobre hongos fitopatógenos. Ecosistemas y Recursos Agropecuarios 9(1): e3155. DOI: 10.19136/era.a9n1.3155

RESUMEN. Las enfermedades inducidas por hongos fitopatógenos generan pérdidas económicas considerables y daños severos a los cultivos agrícolas. El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto inhibitorio *in vitro* de nanotubos de carbono con extractos de *Bacillus amyloliquefaciens* sobre el desarrollo micelial de *Rhizoctonia solani* (Rs), *Fusarium solani* (Fs), *Colletotrichum acutatum* (Ca) y *Alternaria alternata* (Aa). Se analizaron los datos mediante análisis Probit, ANOVA en un diseño completamente al azar de cinco tratamientos con 20 repeticiones y prueba de Tukey ($p \leq 0.05$). Los extractos de *B. amyloliquefaciens* a dosis altas, inhibieron el 100% del crecimiento micelial pero al usar nanotubos de carbono con extractos a dosis bajas, se logró un efecto inhibitorio similar de Rs, Fs, Ca y Aa (100, 90, 90 y 60%) respectivamente. El uso de nanotubos de carbono con extractos de *B. amyloliquefaciens* son una alternativa eficiente en el control *in vitro* de hongos fitopatógenos.

Palabras clave: *Alternaria alternata*, *Colletotrichum acutatum*, *Fusarium solani*, control *in vitro*, *Rhizoctonia solani*.

ABSTRACT. Diseases induced by phytopathogenic fungi generate considerable economic losses and severe damage to agricultural crops. The objective of this research was to evaluate the inhibitory effect *in vitro* of carbon nanotubes with extracts of *Bacillus amyloliquefaciens* on the mycelial development of *Rhizoctonia solani* (Rs), *Fusarium solani* (Fs), *Colletotrichum acutatum* (Ca) and *Alternaria alternata* (Aa). Data were analyzed using Probit, ANOVA analysis in a completely randomized design of five treatments with 20 repetitions and Tukey test ($p \leq 0.05$). *B. amyloliquefaciens* extracts at high doses, inhibited 100% of mycelial growth but by using carbon nanotubes with extracts at low doses, a similar inhibitory effect of Rs, Fs, Ca and Aa (100, 90, 90 and 60%) respectively. The use of carbon nanotubes with extracts of *B. amyloliquefaciens* are an efficient alternative in the *in vitro* control of phytopathogenic fungi.

Key words: *Alternaria alternata*, *Colletotrichum acutatum*, *Fusarium solani*, *in vitro* control, *Rhizoctonia solani*.

INTRODUCCIÓN

En el manejo de las enfermedades fitopatógenas, la nanotecnología ha tomado gran importancia, mediante el uso de nanopartículas y nanomateriales, por poseer la propiedad de penetrar distintas membranas biológicas (Rojas *et al.* 2020). El uso de nanopartículas tiene como objetivo reducir las cantidades de plaguicidas y mejorar la eficiencia con nanopartículas de plata (Ghosh *et al.* 2012) así mismo el uso de nanocompuestos $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{Ag}$ con efectos antibacterianos (Changanquí *et al.* 2019), otro ejemplo clave del uso de nanotubos de carbono es para el transporte de fármacos que favorecen la actividad antibacteriana (Andrade *et al.* 2012).

Por otra parte, la producción de cultivos hortofrutícolas se ve afectada por varias enfermedades agrícolas, como aquellas inducidas por hongos, generando daños severos en los cultivos y ocasionando pérdidas económicas significativas. Por lo que, enfermedades como fusariosis, marchitez o secadera, causadas por *Fusarium oxysporum* y *F. solani*, ocasionan daños en chile, tomate, papa, apio, fresa, entre otros (Mariscal *et al.* 2017, García *et al.* 2018). Otra enfermedad es la caspa negra y cancro en tallo de la papa causada por *Rhizoctonia solani* (Arcos y Zúñiga 2015), el patógeno causa daños cuantitativos y cualitativos en los cultivos de papa en todo el mundo, aunque también puede infectar a un extenso grupo de plantas de diferentes especies de importancia económica (Gour 2012).

El moho negro causado por *Alternaria alternata* afecta plantas y frutos de tomate (Coromoto y Reyes 2018). Algunas especies de *Alternaria* producen metabolitos secundarios (alternariol y las altertoxinas I, II y III) con propiedades tóxicas (Benavidez *et al.* 2013). Sin embargo, la antracnosis causada por *Colletotrichum acutatum* y *C. gloeosporoides* en frutos de aguacate (Campos *et al.* 2016), afecta numerosas plantas y frutos (Farr y Rossman 2021) siendo la enfermedad de postcosecha más importante en muchas regiones y en los países productores (Dann *et al.* 2013).

Actualmente se hace uso indiscriminado de fungicidas sintéticos para el control de estas enfer-

medades, ocasionando resistencia de fitopatógenos, contaminaciones al medio ambiente y en consecuencia daños a la salud humana (Dadaby y Tulk 2015). Por tanto, el uso de microorganismos benéficos del género *Bacillus* spp. (Pedraza *et al.* 2019), particularmente *B. subtilis* y *B. amyloliquefaciens* producen lipopéptidos o metabolitos secundarios como: iturina, surfactina, fengicina y bacilomicina (Mora *et al.* 2011, Beric *et al.* 2012) con actividad fungicida sobre fitopatógenos comunes y con resistencia a fungicidas químicos (Cochrane y Vederas 2014). En este sentido, en la presente investigación se consideraron aspectos para buscar una alternativa de manejo utilizando insumos de menor impacto ambiental, pero con alta efectividad, para integrarla a las prácticas del manejo de enfermedades fungosas. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto inhibitorio de nanotubos de carbono de pared múltiple suplementados con extractos de *B. amyloliquefaciens* sobre el desarrollo micelial de *F. solani*, *R. solani*, *A. alternata* y *C. acutatum* en condiciones *in vitro*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Microorganismos utilizados

Los hongos fitopatógenos *F. solani*, *R. solani*, *A. alternata* y *C. acutatum*, fueron aislados, purificados e identificados en el laboratorio de Toxicología de la UAAAN, los cuales se cultivaron en medio de cultivo Agar Dextrosa y Papa (PDA) (BD Bioxon[®]). La cepa de *B. amyloliquefaciens* fue proporcionada por la empresa Cultra S.A. de C.V. con domicilio en Cd. Mante Tamaulipas, México, y preservada en medio de cultivo Agar Nutritivo (AN) (TM Media[®]) para su posterior uso.

Obtención de extractos de *B. amyloliquefaciens*

Se preparó un litro de medio de cultivo líquido para la producción de iturinas (McKeen *et al.* 1986); se ajustó el pH a 6.0 y se esterilizó en autoclave durante 15 min a 121 °C. Posteriormente se dejó enfriar a temperatura ambiente y después se inoculó con 1 mL de suspensión bacteriana 1×10^6 UFC, dejando en incubación a 30 °C y en agitación constante (150 rpm) por tres días. Transcurrido el tiempo se realizó el

extracto, removiendo las bacterias por centrifugación a 5 000 rpm por 20 min y filtración con filtros de 0.22 μm de diámetro de poro (Linktor[®] Syringe filters) obteniendo el extracto crudo de *B. amyloliquefaciens* (EBa) y se conservó a 4 °C protegida de la luz.

Funcionalización de nanotubos de carbono de pared múltiple (MWCNT)

Se utilizaron MWCNT (Sigma-Aldrich[®]) con un diámetro externo de 50 a 60 nm y 95% de pureza. Para la funcionalización de los MWCNT se modificó la técnica usada por (Cabello *et al.* 2016), procediendo a dispersar 5 mg de MWCNT en 25 mL de ácido clorhídrico al 11%, la solución ácida se sonificó sumergiendo la sonda de ultrasonido (Branson[®] Sonifier 450) a 35% de potencia constante durante 20 min y una temperatura de 60 °C. Transcurrido el tiempo de sonificación se centrifugó a 10 000 rpm por 15 min eliminando el sobrenadante por decantación y se realizaron tres lavados con agua destilada estéril. Posteriormente, los MWCNT modificados se mezclaron en 25 mL de agua destilada estéril y otra muestra en 25 mL de extracto de *B. amyloliquefaciens*, las muestras fueron almacenadas a 4 °C para su conservación.

Evaluación *in vitro* de MWCNT funcionalizados con extractos de *B. amyloliquefaciens* sobre hongos fitopatógenos

Se seleccionó el hongo *F. solani* para determinar la ventana biológica de los bioensayos de inhibición donde se evaluaron tres tratamientos: Extracto de *B. amyloliquefaciens* (EBa), MWCNT modificados mezclados en agua destilada estéril (MWCNT + H₂O), MWCNT modificados y mezclados con extracto de *B. amyloliquefaciens* (MWCNT + EBa) y Testigo (PDA sin tratamiento) con 10 repeticiones, se prepararon nueve dosis (0.1, 0.5, 1, 2.5, 5, 8, 16, 32 y 40 mL L⁻¹ de medio de cultivo PDA) para cada tratamiento y una vez que se obtuvieron las dosis inhibitorias (D_i 70 y D_i 90), se realizó una prueba de efectividad biológica usando las dosis recomendadas para (D_i 70 y D_i 90) de cada tratamiento con 20 repeticiones sobre los fitopatógenos *F. solani*, *R. solani*, *A. alternata* y *C. acutatum*. Se usó el

método de medio de cultivo envenenado (Ochoa *et al.* 2012), posteriormente se colocaron explantes de 0.5 cm de diámetro al centro de la placa con cada fitopatógeno evaluado y se incubaron a 25 \pm 2 °C en oscuridad hasta que el crecimiento de micelio del testigo (PDA sin tratamiento) alcanzó las medidas de la placa. El crecimiento micelial se midió cada 24 h con un vernier, los datos de crecimiento se usaron para calcular los porcentajes de inhibición mediante la siguiente fórmula: (PICR = [(R1-R2)/R1] x 100), donde PICR = Porcentaje de inhibición del Crecimiento Radial, R1 = crecimiento micelial del testigo, R2 = crecimiento micelial del tratamiento.

Análisis estadístico

Se utilizaron los datos obtenidos de porcentaje de inhibición donde se calculó el promedio inhibitorio en cada dosis y para cada tratamiento utilizado, los cuales fueron graficados mediante el programa estadístico R Studio versión 4.0.0. Para la determinación de las dosis inhibitorias (D_i 70 y D_i 90) se calcularon por análisis Probit mediante el programa estadístico Statistical Analysis System versión 9.0 utilizando los datos de PICR obtenidos por medio de la fórmula. En las pruebas de efectividad biológica se realizó un análisis de varianza completamente al azar (ANOVA) y una comparación de medias por Tukey con un nivel de significancia ($p \leq 0.05$) mediante el programa estadístico R Studio versión 4.0.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Evaluación *in vitro* de MWCNT funcionalizados con extractos de *B. amyloliquefaciens* sobre hongos fitopatógenos

Se evaluaron nueve dosis por cada tratamiento sobre *F. solani* donde se observó efecto inhibitorio a partir de 2.5 a 40 mL L⁻¹ (Figura 1). El tratamiento de MWCNT+ EBa presentó el 100% de inhibición de *F. solani* desde la dosis de 8 mL L⁻¹, seguido del tratamiento EBa que presentó inhibiciones de 57 y 90% de *F. solani* a las dosis de 32 y 40 mL L⁻¹, respectivamente y el tratamiento que presentó menor inhibición fue MWCNT+ H₂O (60%) a la dosis de 40 mL L⁻¹, esto puede deberse al efecto

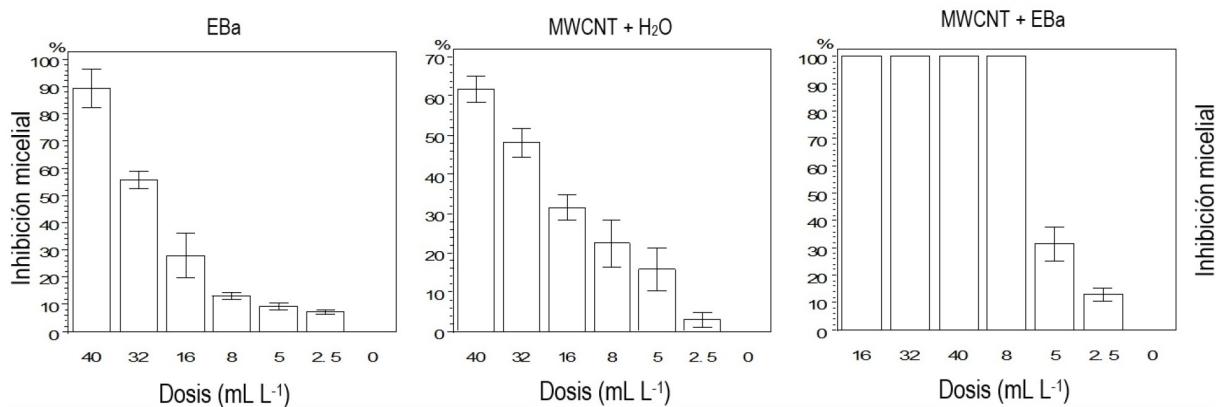


Figura 1. Efecto inhibitorio de nanotubos funcionalizados sobre *F. solani*. EBa = Extracto de *B. amyloliquefaciens*, MWCNT + H₂O = Nanotubos de carbono funcionalizados y mezclados con agua, MWCNT + EBa = Nanotubos de carbono funcionalizados y mezclados con EBa.

sinérgico que se produce al combinarse los nanotubos funcionalizados con los metabolitos (Iturinas) presentes en el extracto de *B. amyloliquefaciens*, ya que fue cultivada en medio de cultivo específico. Con los datos obtenidos PICR se realizó la determinación de las dosis inhibitorias de los tratamientos evaluados (Tabla 1), muestran que el tratamiento MWCNT + EBa presentó las concentraciones más bajas para inhibir *F. solani* con $D_i 70 = 5.94 \text{ mL L}^{-1}$ y $D_i 90 = 8.14 \text{ mL L}^{-1}$, lo cual muestra un alto efecto inhibitorio sobre este fitopatógeno al aplicar los nanotubos funcionalizados con el extracto. A continuación, el tratamiento EBa presentó concentraciones de $D_i 70 = 35.46 \text{ mL L}^{-1}$ y $D_i 90 = 64.43 \text{ mL L}^{-1}$, y las dosis más altas requeridas para inhibir *F. solani* fueron de MWCNT + H₂O, que presentó concentraciones de $D_i 70 = 62.46 \text{ mL L}^{-1}$ y $D_i 90 = 186.58 \text{ mL L}^{-1}$, al comparar estas dosis difieren con las utilizadas por Mejía *et al.* (2016) donde para inhibir la germinación de conidios de *Fusarium* sp. en un 100% usaron la cantidad de 1 mL de extracto de *B. subtilis* disueltos en 1 mL de suspensión de 1×10^8 conidios/mL (1:1 v/v), lo que correspondería a usar 125 mL de EBa por cada 125 mL de medio de cultivo PDA y obtener un volumen final de 250 mL de medio envenenado, sin embargo, en este estudio la cantidad máxima a utilizada de EBa fue de 64.43 mL L^{-1} ($D_i 70$), dosis que alcanzó el 100% de inhibición micelial en los cuatro hongos fitopatógenos evaluados. Es importante señalar que a la fecha no se tienen reportes

científicos sobre las dosis inhibitorias obtenidas de la inhibición micelial de nanotubos de carbono con extractos de *B. amyloliquefaciens*.

Mediante las pruebas de efectividad biológica se demostró que aplicando las dosis obtenidas por el análisis Probit sobre los diferentes hongos fitopatógenos (Figura 2), los tratamientos presentaron diferencias significativas Tukey ($p \leq 0.05$): para el caso de *R. solani* y *F. solani*, los EBa (T1.1 y T1.2) correspondieron a las D_i (70 y 90) ambos tratamientos presentaron efecto inhibitorio de 100%, desde las primeras 24 h hasta 120 y 168 h ya que en este tiempo el crecimiento del testigo alcanza las medidas de la placa (Figura 3), mientras que en los hongos *C. acutatum* y *A. alternata* los T1.2 alcanzaron el 100% de inhibición a partir de 24 h hasta 168 y 216 h y en los T1.1 se obtuvieron valores de inhibición superiores a 90 y 80%, respectivamente. Los resultados obtenidos concuerdan con lo reportado por Badía *et al.* (2011), quienes indicaron que *Fusarium* sp. es inhibido en 90.42% y *A. alternata* en 87.28% utilizando cepas de *Bacillus* spp. (LSB9 y LSB10). Ríos *et al.* (2015) reportaron que *B. amyloliquefaciens* inhibió el desarrollo de *A. alternata* en 64%, además Leyva *et al.* (2017) señalaron que los metabolitos de *B. amyloliquefaciens* (CCIBP-A5) inhibieron el crecimiento de *F. oxysporum* f. sp. cubense en 77.18%, También, Mizumoto *et al.* (2006) indicaron que al usar la iturina A obtenida por fermentación de *B. subtilis* se redujo la incidencia de *R. solani* en 76%. Por su parte,

Tabla 1. Determinación de dosis inhibitorias de los tratamientos sobre *F. solani*.

Tratamiento	Dosis inhibitoria	Dosis probable (mL L ⁻¹)	Limite fiducial inferior 95%	Limite fiducial superior 95%
MWCNT + EBa	D _i 70	5.94	5.37	6.73
	D _i 90	8.14	7.13	9.84
EBa	D _i 70	35.46	31.03	42.53
	D _i 90	64.43	51.81	89.52
MWCNT + H ₂ O	D _i 70	62.46	51.21	79.65
	D _i 90	186.58	137.83	272.97

EBa = Extracto de *B. amilolyquefaciens*, MWCNT + H₂O = Nanotubos de carbono funcionalizados y mezclados con agua y MWCNT + EBa = Nanotubos de carbono funcionalizados y mezclados con EBa.

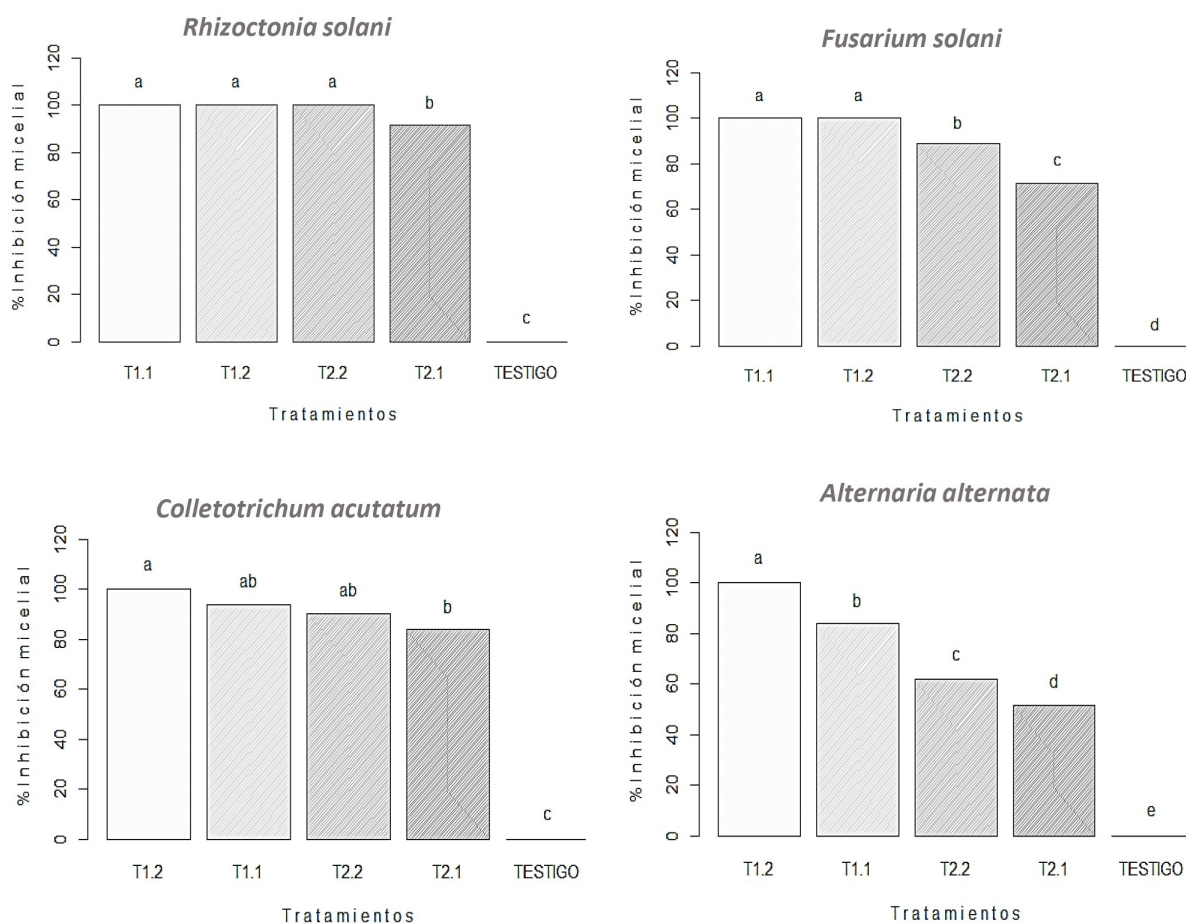


Figura 2. Efectividad biológica de dosis inhibitorias sobre hongos fitopatógenos. T1.1 = D_i 70 EBa, T1.2 = D_i 90 EBa, T2.1 = D_i 70 NTCMW + EBa, T2.2 = D_i 90 NTCMW + EBa. Medias con la misma letra en cada grafica son iguales y tratamientos con diferente letra son estadísticamente diferentes Tukey ($p \leq 0.05$).

Ragazzo *et al.* (2011) reportaron efecto inhibitorio de la iturina A, detectada en halos de inhibición en confrontaciones de *B. subtilis* y *B. licheniformis* frente a *C. gloeosporoides* y *Colletotrichum* sp.

Los MWCNT + EBa (T2.1 y T2.2, de la Figura 2), que equivalen a las D_i (70 y 90): en *R. solani* el T2.2 presentó un valor de 100% de inhibición y

el T2.1 superó el 90%. Se obtuvo un efecto similar en *C. acutatum*, donde el T2.2 inhibió el 90% y el T2.1 superó el 80%. Por otra parte, en *F. solani* ambos tratamientos lograron obtener los valores esperados de 70 y 90% de inhibición, solo en el caso de *A. alternata* los tratamientos evaluados T2.1 y T2.2, mostraron valores de 50 y 60% de inhibición, respec-

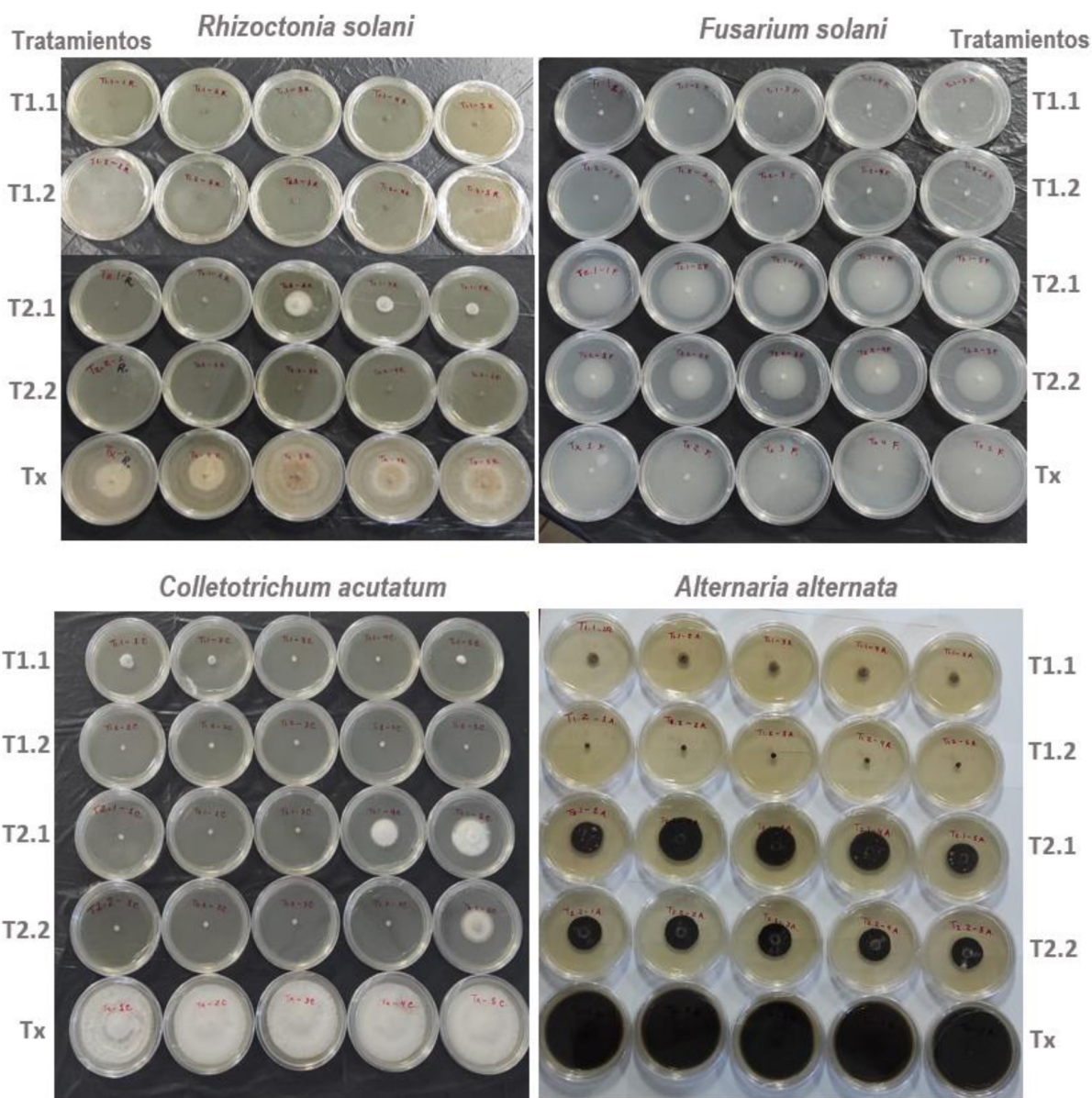


Figura 3. Efecto inhibitorio *in vitro* de dosis inhibitorias sobre hongos fitopatógenos. T1.1 y T1.2 = D_i 70 y D_i 90 de EBa, T2.1 y T2.2 = D_i 70 y D_i 90 de NTCMW + EBa y Tx = Testigo.

tivamente. Hasta el momento el único estudio donde reportan el efecto antifúngico de MWCNT lo realizó Sarlak *et al.* (2014), reportando efectos inhibitorios sobre *A. alternata* ya que usaron MWCNT-g-PCA-EP (Material híbrido de nanotubos de carbono de pared múltiple con encapsulados de moléculas fungicidas de zineb) en condiciones *in vitro*. En otros estudios se ha demostrado el efecto inhibitorio que tienen

las nanopartículas sobre los hongos fitopatógenos, Pariona *et al.* (2018) señalaron que las nanopartículas de cobre (NPs-Cu) lograron un 87 y 90% de inhibición de crecimiento de micelio de *F. solani* con dosis de 0.75 y 1 mg mL⁻¹, respectivamente. Correa *et al.* (2018) reportaron un 100% de inhibición micelial en los hongos: *A. alternata*, *C. gloeosporoides*, *C. fragariae* y *Rhizopus stolonifer* usando nanopartículas

de quitosano y aceite esencial de tomillo (NPs-TEO-Np 3 y 5%).

Los extractos de *B. amyloliquefaciens* (EBa) mostraron efecto inhibitorio de 100% sobre el crecimiento micelial de los hongos fitopatógenos evaluados, usando una dosis alta de 64.43 mL L⁻¹, pero la ventaja de utilizar nanotubos de carbono de pared múltiple funcionalizados y mezclados con el extracto (MWCNT + EBa) se demostró que se requieren dosis bajas ya que con 8.14 mL L⁻¹ se logró un efecto inhibitorio en los hongos *R. solani*, *F. solani*, *C. acutatum* y *A. alternata* de (100, 90, 90 y 60%) a partir de 24 h, respectivamente, ya que estos patógenos afectan a los cultivos en crecimiento y postcosecha, por lo que este tratamiento se puede

considerar como una alternativa en el manejo de hongos fitopatógenos, con insumos de bajo costo y amigables con el medio ambiente.

AGRADECIMIENTOS

Al Ing. José Ricardo Pérez Vela por el financiamiento para el desarrollo de esta investigación a través de la empresa Culta S.A. de C.V. y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada a Antonio Orozco Plancarte (No. CVU: 605454) para la realización de sus estudios de Postgrado.

LITERATURA CITADA

- Andrade CML, López LLI, Sáenz GA (2012) Nanotubos de carbono: funcionalización y aplicaciones biológicas. *Revista Mexicana Ciencias Farmaceuticas* 43: 9-18.
- Arcos J, Zúñiga D (2015) Efecto de rizobacterias en el control de *Rhizoctonia solani* en el cultivo de papa. *Ecología Aplicada* 14: 95-101.
- Badía RMM, Hernández BT, Murrel LJA, Mahillon J, Perez HM (2011) Aislamiento y caracterización de cepas de *Bacillus* asociadas al cultivo del arroz (*Oryza sativa* L.). *Revista Brasileña de Agroecología* 6: 90-99.
- Berić T, Kojić M, Stanković S, Topisirović L, Degrassi G, Myers M, Fira D (2012) Antimicrobial activity of *Bacillus* sp. natural isolates and their potential use in the biocontrol of phytopathogenic bacteria. *Food Technology and Biotechnology* 50: 25-31.
- Benavidez RME, Patriarca A, Cabrera G, Fernández PVE (2013) Determinación de perfiles de producción de metabolitos secundarios característicos de especies del género *Alternaria* aisladas de tomate. *Revista Iberoamericana de Micología* 31: 119-124.
- Cabello ACJ, Sáenz GA, Pérez BC, Sandoval CJ, Ávila OC, Álvarez TC, López CGJ (2016) Modificación de nanotubos de carbono de pared múltiple utilizando energía de ultrasonido a diferentes potencias. *Afinidad LXXIV* 576: 285-290.
- Campos MA, Velázquez Del VMG, Flores MHE, Suarez RR, Ramírez TJA, Hernández LAN (2016) Antagonistic yeasts with potential to control *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. and *Colletotrichum acutatum* J.H. Simmonds on avocado fruits. *Crop Protection* 89: 101-104.
- Changanaquí BK, Alvarado ID, Alarcón CH (2019) Síntesis y caracterización de nanocompuestos Fe₃O₄/Ag: su efecto contra *Enterobacter aerogenes* y *Enterococcus faecalis*. *Revista Colombiana Quimimica* 48: 33-39.
- Cochrane SA, Vederas JC (2014) Lipopeptides from *Bacillus* and *Paenibacillus* spp. A gold mine of antibiotic candidates. *Medicinal Research Reviews* 36: 4-31.
- Coromoto AY, Reyes I (2018) Microorganismos promotores de crecimiento en el biocontrol de *Alternaria alternata* en tomate (*Solanum lycopersicum* L.). *Bioagro* 30: 59-66.

- Correa PZC, Bautista BS, Hernández LM, Marquina VMA (2018) Evaluation of nanoformulations on *in vitro* development of fungal phytopathogens. *Revista Mexicana de Fitopatología* 36: 457-467.
- Dadaby K, Tulk P (2015) Agrochemicals and their impact on human health: An analysis of pesticide use and incidences of diseases in the region of Rincon de Santa Marta. Quebec, Canada: McGill Universite. Disponible en: https://www.mcgill.ca/pfss/files/pfss/agrochemicals_and_their_impact_on_human_health.pdf. Fecha de consulta: 13 de septiembre de 2021.
- Dann EK, Ploetz RC, Coates LM, Pegg KG (2013) Foliar fruit and soilborne diseases. In: Schaffer B, Wolstenhole BN, Whiley AW (Eds) *The avocado: Botany, production and uses*. second ed. CABI. Wallingford, Oxforshire, UK. pp: 380-422.
- Farr DF, Rossman AY (2021) Fungal databases, U.S. National Fungus Collections, ARS, USDA. <https://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/>. Fecha de consulta: 14 de septiembre de 2021.
- García ÁCJ, Valenzuela TGA, Florencio AJG, Ruiz GI, Moreno VM, Hernández MB, López BJA, Bravo PD, Pineda RJM, Quezada G (2018) Organisms associated with damage to post-harvest potato tubers. *Revista Mexicana de Fitopatología* 36: 308-320.
- Ghosh S, Patil S, Ahire M, Kitture R, Kale S, Pardesi K, Cameotra S, Jayesh BJ, Dhavale DD, Jabgunde A, Chopade BA (2012) Synthesis of silver nanoparticles using *Dioscorea bulbifera* tuber extract and evaluation of its synergistic potential in combination with antimicrobial agents. *International Journal of Nanomedicine* 7: 483-496.
- Gour R (2012) Isolation and characterization of Actinomycetes against *Macrophomina phaseolina* and *Rhizoctonia solani*. *Advance Journal Pharmaceutical* 1: 31-30.
- Leyva RL, Cruz MM, Acosta SM, Pichardo T, Bermúdez CI, Alvarado CY (2017) Antagonismo *in vitro* de cepas de *Bacillus* spp. frente a *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense. *Bioteconología Vegetal* 17: 229-236.
- Mariscal ALA, Rivera YA, Dávalos GPA, Dávila MD (2017) Situación actual de hongos asociados a la secadera de la fresa (*Fragaria ananassa* Duch.) en Guanajuato, México. *Agrociencia* 51: 673-681.
- Mckeen CD, Reilly CC, Pusey PL (1986) Production and partial characterization of antifungal substances to *Monilinia fruticola* from *Bacillus subtilis*. *Ecology and Epidemiology* 76: 136-139.
- Mejía BMA, Cristobal AJ, Tun SJM, Reyes RA (2016) Actividad *in vitro* de *Bacillus* spp. en la inhibición de crecimiento micelial de *Fusarium equiseti* y *Fusarium solani* aislado de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.). *Agrociencia* 50: 1123-1135.
- Mizumoto S, Hirai M, Shoda M (2006) Production of lipopeptide antibiotic iturin A using soybean curd residue cultivated with *Bacillus subtilis* in solid-state fermentation. *Applied Microbiology and Biotechnology* 72: 869-875.
- Mora I, Cabrefiga J, Montesinos E (2011) Antimicrobial peptide genes in *Bacillus* strains from plant environments. *International Microbiology* 14: 213-223.
- Ochoa YM, Cerna E, Landeros J, Hernández S, Delgado JC (2012) Evaluación *in vitro* de la actividad antifúngica de cuatro extractos vegetales metanólicos para el control de tres especies de *Fusarium* spp. *Revista Internacional de Botánica Experimental* 81: 69-73.
- Pariona N, Hermida MLA, Martínez EAI, Sánchez RD, Carrión G, López LD, Rosas SG, Rodríguez HB, Duran BZ (2018) Síntesis de nanopartículas de cobre para el control de hongos fitopatógenos. *Revista ECI Perú* 15: 109-116.

- Pedraza LA, López CA, Uribe VD (2019) Mecanismos de acción de *Bacillus* spp. (Bacillaceae) contra microorganismos fitopatógenos durante su interacción con plantas. *Acta biológica Colombiana* 25: 112-125.
- Ragazzo SJA, Robles CA, Lomelí GL, Luna SG, Calderón SM (2011) Selección de cepas de *Bacillus* spp. productoras de antibióticos aisladas de frutos tropicales. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 17: 5-11.
- Rios VC, Caro CJN, Berlanga RDI, Ruíz CMF, Ornelas PJJ, Salas MMA, Villalobos PE, Guerrero PVM (2015) Identification and antagonistic activity *in vitro* of *Bacillus* spp. and *Trichoderma* spp. isolates against common phytopathogenic fungi. *Revista Mexicana de Fitopatología* 34: 84-99.
- Rojas ANG, Regalado IPE, Dávila LMR, Llerena HRC, Rojas ALI (2020) Actividad antimicrobiana de nanopartículas de plata contra bacterias fitopatógenas. *Revista Científica Biológico Agropecuaria Tuxpan* 8: 2-7.
- Sarlak N, Taherifar A, Salehi F (2014) Synthesis of nanopesticides by encapsulating pesticide nanoparticles using functionalized carbon nanotubes and application of new nanocomposite for plant disease treatment. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 62: 4833-4838.