

Nanopartículas de plata como control de *Bipolaris zeae* Zivan en magueySilver nanoparticles as control of *Bipolaris zeae* Zivan in magueyIris López Gómez ^a, Víctor A. Cardozo Mata ^b, Víctor H. Pérez España ^c, Teresa Romero Cortés ^d, José A. Pescador Rojas ^e, Mariana Saucedo García ^f**Abstract:**

Maguey is a plant widely used for multiple purposes. Nevertheless, due to overexploitation and the presence of pathogenic microorganisms, the plant is in danger of possible extinction. Among the most common diseases of maguey is leaf spot disease ("Negrilla") caused by *Bipolaris zeae* Zivan. The main of the current study was to investigate the effect of silver nanoparticles in the *in vitro* growth of the pathogenic agent and in sprayed plants with silver particles before (preventive treatment) or after (curative treatment) inoculation with the fungus. The results indicated that silver nanoparticles inhibited the mycelial growth of pathogenic fungus in a dose-response relationship. The inhibitory effect was also observed in the experiments *in vivo*, where both corrective and curative treatments caused a decrease in the incidence and severity of Negrilla disease in the inoculated plants. Taken together, these results provide evidence of the potential use of the silver nanoparticles for the management of Negrilla disease in maguey.

Keywords:Preventive control, curative control, Negrilla disease, *A. salmiana***Resumen:**

El maguey es un recurso ampliamente aprovechado por los múltiples servicios que ofrece. Sin embargo, la sobreexplotación y la presencia de enfermedades amenazan constantemente su conservación. Entre las enfermedades más persistentes de la planta se encuentra la Negrilla, causada por *Bipolaris zeae* Zivan, que se caracteriza por la aparición de manchas foliares negras. El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto de nanopartículas de plata sobre el crecimiento del hongo en condiciones *in vitro* y sobre plantas asperjadas con nanopartículas sobre la parte foliar antes (tratamiento preventivo) o después (tratamiento curativo) de la inoculación con el agente fúngico. Los resultados demostraron que las nanopartículas resultaron tóxicas para el crecimiento *in vitro* del hongo, mientras que en los experimentos *in vivo*, ambos tratamientos disminuyeron los índices de incidencia y severidad en las plantas infectadas. Los resultados del presente trabajo evidencian el potencial de las nanopartículas para el manejo de la enfermedad de la Negrilla en el maguey.

^a Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo | Instituto de Ciencias Agropecuarias | Tulancingo de Bravo-Hidalgo | México, <https://orcid.org/0009-0009-7074-2214>, Email: lo317293@uaeh.edu.mx

^b Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo | Escuela Superior de Apan | Apan-Hidalgo | México, <https://orcid.org/0000-0003-4065-7245>, Email: cardozo.victor1686@gmail.com

^c Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo | Escuela Superior de Apan | Apan-Hidalgo | México, <https://orcid.org/0000-0003-2519-8677>, Email: victorhugo_perez@uaeh.edu.mx

^d Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo | Escuela Superior de Apan | Apan-Hidalgo | México, <https://orcid.org/0000-0002-2615-1435>, Email: romero@uaeh.edu.mx

^e Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo | Escuela Superior de Apan | Apan-Hidalgo | México, <https://orcid.org/0000-0003-1928-8342>, Email: josealfredo_pescador@uaeh.edu.mx

^f Autor de Correspondencia, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo | Instituto de Ciencias Agropecuarias | Tulancingo de Bravo-Hidalgo | México, <https://orcid.org/0000-0001-7073-9263>, Email: saucedo@uaeh.edu.mx

Palabras Clave:

Control preventivo, control curativo, enfermedad de la Negrilla, *A. salmiana*

Introducción

Agave salmiana, comúnmente conocida como maguey pulquero, es una planta forestal no maderable endémica de México que se distribuye normalmente en los estados de México, Hidalgo, Tlaxcala y Puebla. Su uso data desde los tiempos prehispánicos para fines gastronómicos, ornamentales, medicinales, de construcción y vestimenta (Esparza-Ibarra et al., 2015). Particularmente en el Estado de Hidalgo, *A. salmiana* se utiliza para la producción de pulque, barbacoa, mixiote, ixtle, entre otros.

La sobreexplotación de *A. salmiana*, así como el robo de pencas para la preparación de platillos gastronómicos, la extracción parcial o total del agave para la obtención de plagas comestibles, la escasa planeación de cultivo y la presencia de enfermedades ha puesto en peligro la existencia de este ejemplar.

La Negrilla o Viruela es una enfermedad de *A. salmiana* que se caracteriza por la aparición de manchas foliares de color negro. El primer agente causal que se relacionó a dicha enfermedad fue *Asterina mexicana* (Job, 1900); sin embargo, gracias a las herramientas moleculares, se ha identificado como agente causante a *Bipolaris zeae* Zivan (Romero-Cortes et al., 2024).

Los géneros de *Curvularia* y *Bipolaris* suelen formar un consorcio microbiano que puede provocar enfermedades como mancha foliar, pudrición de la raíz y tizón en cultivos de la familia Poaceae (maíz, arroz, trigo o sorgo); sin embargo, al ser parásitos no obligados, éstos también pueden infectar al menos otros 60 géneros de las familias Anacardiaceae, Araceae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Malvaceae, Rutaceae y Zingiberaceae (Martin, 1971; Manamgoda et al., 2012; Manzar et al., 2022).

Los métodos de control de la Negrilla en *A. salmiana* son escasos. Comúnmente se recurren a métodos mecánicos en los que las pencas afectadas son retiradas para su incineración o entierro. Esta última actividad es una de las causas por las que se disemina la enfermedad, ya que las esporas, al permanecer en el suelo, son transportadas por animales o aire hasta encontrar un nuevo hospedero. Respecto al método químico, suelen usarse fungicidas como tratamiento preventivo o curativo: difenoconazol, propiconazol o trifloxystrobin (Otoni et al., 2000; SENASICA, 2021), los cuales al ser utilizados sin una planeación correcta pueden afectar la salud de los

consumidores, productores y medio ambiente (Jiménez-Quintero, 2016; Grady y Lucio-Goough, 2018).

La plata ha sido utilizada por mucho tiempo como agente antimicrobiano. En la micropropagación de cultivos o tejidos, además de evitar contaminaciones, promueve el crecimiento y desarrollo de los explantes. Asimismo, se ha reportado que el uso de nanopartículas de plata (AgNPs) promueve la germinación de semillas y crecimiento de plántulas de diversos cultivos, y actúa como fungicida contra los agentes fitopatógenos *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum* y *Curvularia* sp. en plantas de *Arabidopsis thaliana* (Balashanmugam et al., 2016).

Por lo anterior, en el presente estudio se evaluó la eficiencia de las AgNPs sobre el crecimiento *in vitro* de *Bipolaris zeae* Zivan así como en el manejo de la Negrilla en plantas de *A. salmiana*.

Materiales y métodos

Aislamiento, crecimiento de *Bipolaris zeae* Zivan

El agente fúngico fue aislado de individuos de *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck con sintomatología de la enfermedad de la Negrilla y conservado en glicerol al 4% a temperaturas de ultracongelación. Para reactivar el hongo, éste fue inoculado en medio PDA (pH 5) e incubado a 28 °C en condiciones de oscuridad.

Síntesis de las nanopartículas de plata

Se montó un reactor en el que a un matraz de fondo redondo con 3 cuellos se le colocó un termómetro, una jeringa para inyectar la solución reactante y en la parte central un sistema refrigerante.

Para la síntesis de las AgNPs se añadieron 50 ml de una solución de AgNO₃ (1.32 mM, 18.2 MΩ·cm) al reactor, el cual fue puesto a reflujo a 100 °C con agitación vigorosa. Posteriormente, se añadió 5 ml de una solución acuosa al 1% de Na₃C₆H₅O₇ como agente reductor y estabilizador, observándose el color amarillo característico de dispersiones coloidales metálicas de Ag con tamaño nanométrico. Al finalizar 2 h de reacción, se obtuvieron dispersiones de coloidales estables en concentraciones de 80, 100 y 150 ppm.

Caracterización de las nanopartículas de plata (AgNPs)

A los coloides de AgNPs con concentraciones de 80, 100 y 150 ppm, se les realizó una caracterización óptica con un espectrofotómetro UV-Visible (Thermo Scientific Serie GENESYS 10S).

Envenenamiento de medios de cultivo con AgNPs

Para el envenenamiento del medio de cultivo con las AgNPs, se añadió el volumen requerido de una solución madre de AgNPs para alcanzar concentraciones finales de 0, 10, 30 y 45 ppm sobre el medio PDA antes de su solidificación. Posteriormente se colocaron discos de 4 mm de diámetro con crecimiento micelar en la parte central de la caja Petri y se incubaron a 28 °C para su evaluación posterior.

El crecimiento micelar del hongo fue medido con un vernier digital durante los primeros 5 días de incubación. Los datos obtenidos se usaron para el cálculo de la velocidad del porcentaje de inhibición del crecimiento micelar de acuerdo con la ecuación 1:

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{\text{crecimiento radial con AgNPs}}{\text{crecimiento radial del control}} * 100 \quad (1)$$

Inoculación de plantas de *A. salmiana* con el agente causante de la Negrilla

Para comprobar los postulados de Koch y evaluar el efecto *in vivo* de las AgNPs, se seleccionaron cajas de Petri conteniendo PDA completamente cubiertas de micelio fúngico. En condiciones estériles y de asepsia, el micelio fue desprendido del medio de cultivo para su maceración hasta la obtención de una pasta uniforme. Dicha pasta fue filtrada en 2 ocasiones con una solución de Tween al 20% y centrifugada a una velocidad de 5,000 rpm durante 15 min, rescatando el pellet que contenía a las esporas. La cuantificación de las esporas se realizó con una cámara de Neubauer y la suspensión se ajustó a una concentración final de 1×10^5 esporas ml^{-1} .

Para la inoculación 20 μl de la suspensión de esporas fue aplicado sobre las heridas foliares de las plantas de *A. salmiana*.

Aplicación de AgNPs por aspersión en tejido foliar de *A. salmiana*

Para la realización de los experimentos *in vivo* se seleccionaron 96 hijuelos de maguey (*A. salmiana* Otto ex Salm-Dyck) visualmente sanos y conservados bajo agricultura protegida.

Para descartar algún efecto toxicológico de las AgNPs sobre los hijuelos, éstos fueron heridos en la parte foliar en secciones de 4 mm de diámetro y asperjados con una

suspensión de AgNPs (0, 80, 100 o 150 ppm). El tratamiento constó de tres aplicaciones, una por semana. Una vez descartado un efecto toxicológico de las AgNPs sobre los hijuelos, se evaluó si la aplicación de AgNPs podría tener efecto preventivo sobre la incidencia y severidad causada por la Negrilla en las plantas de agave. Para ello, se aplicaron AgNPs (0, 80, 100 o 150 ppm) sobre las heridas foliares en tres ocasiones: primera aplicación 14 días antes de la inoculación con el agente fúngico; segunda aplicación 7 días antes y; tercera aplicación el mismo día de la inoculación.

En referencia a la evaluación del efecto curativo de la enfermedad, se aplicaron las AgNPs (0, 80, 100 o 150 ppm) sobre las heridas foliares el mismo día de la inoculación con el agente patológico, así como a los 7 y 14 días post-inoculación.

Medición de incidencia y severidad de plantas de *A. salmiana* inoculadas con el agente causante de la Negrilla

La incidencia y severidad de la enfermedad de las plantas de *A. salmiana* inoculadas con el agente patológico se evaluó a los 70 días post-inoculación. El porcentaje de incidencia se determinó dividiendo el número de plantas enfermas entre el total de plantas evaluadas por cada tratamiento y multiplicadas por 100 (Nutter et al., 2006).

La severidad se evaluó mediante la escala propuesta en la Tabla 1. El número de plantas con cierto grado de severidad se dividió entre el número total de plantas bajo el mismo tratamiento multiplicado por 100.

Tabla 1. Categorías de severidad para la evaluación de daños producidos por el agente causal de Negrilla en *Agave salmiana*

Grado de severidad	Descripción
0	0% de follaje afectado: Planta visualmente sana.
1	1 al 20% de follaje afectado: Hojas basales con amarillamiento y/o necrosis apical, manchas verdes o amarillo claro a oscuras, ovoides o redondas
2	21 al 40% de follaje afectado: Hojas basales amarillas con necrosis, hojas medias con manchas verde o amarillo claro a oscuras, ovoides o redondas con un halo clorótico, distribuidas uniformemente sobre el área foliar.
3	41 al 60% de follaje afectado: Hojas con necrosis, manchas amarillas o marrones a

	negras, distribuidas uniformemente sobre el área foliar.
4	61 al 80% de follaje afectado: Hojas con manchas grisáceas a negras en ambas caras de la penca distribuidas uniformemente sobre el área foliar.
5	81 al 100% de follaje afectado: Planta totalmente cubierta por manchas negras en el área foliar, hojas medias con clorosis o necrosis y hojas basales completamente secas.

Resultados

Caracterización óptica de AgNPs

El tono amarillento de las AgNPs dispersas en agua desionizada, está relacionado con sus tamaños promedio; esta característica se explica por medio del fenómeno físico conocido como resonancia de plasmón de superficie (RPS). Mediante la espectroscopía UV-visible, se realizó la caracterización óptica de las muestras coloidales sintetizadas, se obtuvieron las curvas de absorbancia, donde los picos máximos de la RPS para las muestras de 45 y 150 ppm se localizaron a una longitud de onda de 432 nm para ambos analitos (Fig. 1). La intensidad en la absorción óptica de la plata fue más pronunciada conforme se incrementó la concentración de las AgNPs.

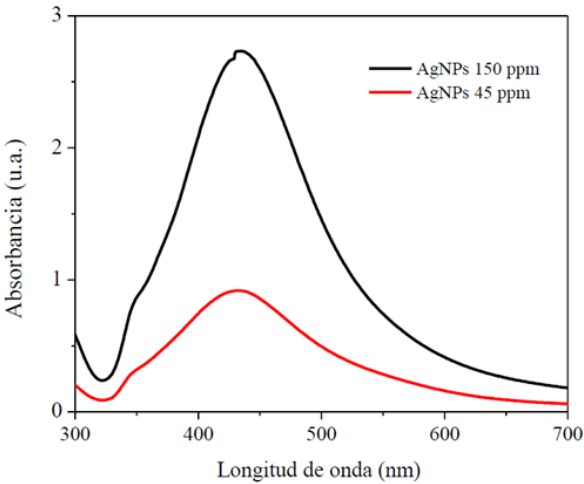


Figura 1. Curvas de absorbancia a diferentes concentraciones de AgNP obtenidas por Espectroscopía UV-Vis.

Efecto de las AgNPs sobre la inhibición del crecimiento in vitro de Bipolaris zeae Zivan

Para evaluar si las nanopartículas tenían un efecto inhibitorio sobre el crecimiento micelial del hongo

responsable de la Negrilla, se envenenó el medio PDA con diferentes concentraciones de AgNPs (10, 30 o 45 ppm). La inhibición del crecimiento micelial por efecto de las AgNPs se mantuvo constante desde los 3 hasta los 5 días postratamiento. La inhibición del crecimiento varió de acuerdo con la dosis aplicada, siendo la concentración de 45 ppm la que presentó el mayor efecto inhibitorio del crecimiento fúngico (Fig. 2).

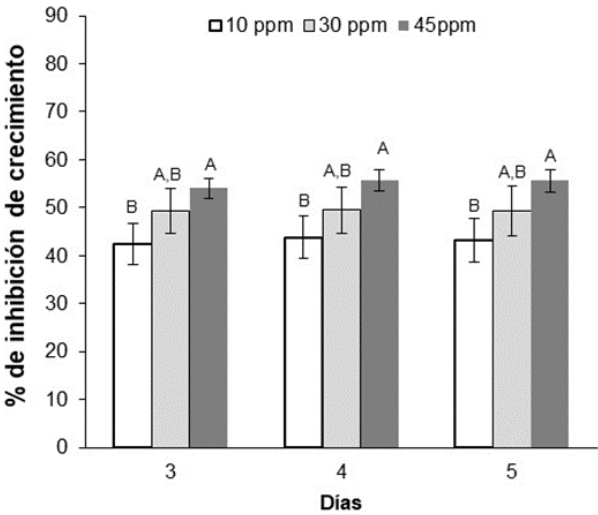


Figura 2. Inhibición in vitro del crecimiento del agente fitopatológico a diferentes concentraciones de AgNPs en medio PDA. Cada columna representa el promedio del porcentaje de inhibición del crecimiento radial, mientras que las barras representan su respectiva desviación estándar. Letras diferentes sobre las barras indican diferencia significativa entre los tratamientos (Tukey, $p<0.05$).

Evaluación de incidencia y severidad de la Negrilla en plantas de A. salmiana

Para evaluar la eficiencia de las AgNPs en la prevención o disminución de los síntomas de enfermedad sobre el tejido foliar de A. salmiana, se analizó el fenotipo de las plantas a los 70 días post-inoculación (Fig. 3). La aspersión del tejido foliar con AgNPs no produjo cambios visibles en su fenotipo (Fig. 3A), sugiriendo una inocuidad de las AgNPs sobre el tejido foliar. Respecto a las plantas inoculadas con el agente patógeno que no recibieron tratamiento con AgNPs, Control (-), se observa una marcada necrosis en el tejido foliar (Fig. 3B), a diferencia de las plantas inoculadas y asperjadas con AgNPs, tanto en el tratamiento preventivo como curativo (Fig. 3C,D, respectivamente).



Figura 3. Efecto *in vivo* de las AgNP en plantas inoculadas con el agente fitopatógeno de la Negrilla. Fotografías representativas de plantas de *A. salmiana* a los 70 días post-inoculación. (A) Fenotipo de plantas asperjadas con AgNP y no inoculadas (análisis toxicológico). (B) Fenotipo de plantas inoculadas sin tratamiento con AgNP (Control (-)). (C) Fenotipo de plantas bajo tratamiento preventivo e inoculadas con el agente patógeno. (D) Fenotipo de plantas bajo tratamiento curativo e inoculadas con el agente patógeno.

Asimismo, basados en los fenotipos de las plantas se determinó la incidencia y severidad de la enfermedad a los 70 días después de la inoculación.

En la Tabla 2 se presentan los porcentajes de incidencia, en la que se aprecia que el tratamiento preventivo con 150 ppm AgNPs disminuyó hasta un 37.5% la incidencia de la enfermedad, mientras que el tratamiento curativo la redujo en un 50% a la misma concentración, indicando que las AgNPs son una alternativa para el control de la enfermedad.

Tabla 2. Porcentaje de incidencia de la enfermedad de la Negrilla en plantas de *A. salmiana*

AgNPs (ppm)	Preventivo	Curativo
0	100	100
80	75	100
100	87.5	100
150	62.5	50

Para la evaluación de la severidad, sólo se analizaron las plantas tratadas con las AgNPs a una concentración de 150 ppm por ser las más eficiente. Los criterios que se utilizaron para el análisis del fenotipo de las plantas están resumidos en la Tabla 1. Como se observa en la Tabla 3, la severidad de la enfermedad de la Negrilla sobre el tejido foliar de las plantas disminuyó sustancialmente tras la aplicación del tratamiento preventivo o curativo con las AgNPs en comparación con las plantas control (-). El máximo nivel de severidad detectado en el tratamiento preventivo fue de 2, mientras que para el curativo fue de 3. Además, mientras que el tratamiento preventivo

concentró la mayor cantidad de plantas enfermas con un Nivel 1 de severidad (50%), en el curativo se concentraron en el nivel 0 (ausencia de síntomas; 50%), indicando que ambos tratamientos resultan eficientes para el control de la Negrilla.

Tabla 3. Porcentaje de severidad de la enfermedad de la Negrilla en plantas de *A. salmiana*.

Tratamiento	Nivel de Severidad					
	0	1	2	3	4	5
Control (-)	0	0	12.5	50	37.5	0
Preventivo	37.5	50	12.5	0	0	0
Curativo	50	25	12.5	12.5	0	0

NOTA: Control (-) representa a las plantas inoculadas con el agente patógeno sin tratamiento

Discusión

Para determinar si las AgNPs inhibían el crecimiento de *Bipolaris zeae* se contaminó el medio de crecimiento PDA con diferentes concentraciones de AgNPs (10, 30, 45 ppm). A partir de los resultados, se observó que la concentración de 45 ppm fue la que presentó mayor efecto inhibitorio sobre el crecimiento del hongo. Este resultado coincide con lo reportado por Gutarowska y colaboradores (Gutarowska et al., 2012), quienes encontraron que las AgNPs a la misma concentración inhibieron el 94% del crecimiento de diferentes hongos (*Aspergillus niger*, *Penicillium digitatum*, *Cladosporium cladosporoides*, *Alternaria alternata*, *Mucor racemosus*, *Rhizopus nigricans*, entre otros). Asimismo, Pietrzak y Gutarowska (Pietrzak y Gutarowska, 2015), encontraron que las AgNPs a 45 ppm también inhibieron el crecimiento *in vitro* de *Alternaria alternata* y *Cryptococcus laurentii* en un 33 y 85%, respectivamente. Por otra parte, Ansari y colaboradores (Ansari et al., 2023) reportaron una inhibición del 81% sobre el crecimiento de *Alternaria solani* al utilizar una concentración de 50 ppm, indicando que las AgNPs a una concentración de 45 ppm resulta en una óptima inhibición del crecimiento fúngico.

Respecto a las condiciones *in vivo*, primero se evaluó la toxicidad de las AgNPs sobre las plantas de *A. salmiana* y se encontró que la aspersión con estas partículas no generó daños sobre éstas, similar a lo reportado en plántulas de tomate (Álvarez-Carvajal et al., 2020). Sin embargo, no se puede garantizar la inocuidad de las AgNPs sobre las plantas, pues sólo se analizó el fenotipo de éstas. Actualmente, existen reportes que aseguran que el Ag⁺ es la segunda forma más tóxica de un metal pesado, superado solo por el mercurio (Doudoroff, 1953;

Albright et al., 1972). De igual forma, se ha reportado que los iones Ag^+ , presentes en las AgNPs sí generan toxicidad en las plantas de las familias Poaceae y Solanaceae. Por ejemplo, las AgNPs a concentraciones de 10, 20, 40, 50 ppm aplicadas en trigo (*Triticum aestivum* L.) producen aberraciones cromosómicas (Albright et al., 1972), mientras que su aplicación en plantas de papa (*Solanum tuberosum*) a concentraciones de 20 mg l^{-1} incrementan estrés oxidativo y muerte celular (Bagherzadeh y Ehsanpour, 2016). En plantas de haba (*Vicia faba*), las AgNPs a una concentración de 800 $\mu\text{g kg}^{-1}$ disminuyen la germinación, longitud de brotes y raíces, así como un retraso en nodulación de la raíz (Abd-Alla et al., 2016).

Sobre la efectividad de las AgNPs para el manejo de la Negrilla, en el presente trabajo se evaluaron concentraciones de 80, 100 y 150 ppm, dosis similares a las utilizadas para controlar a los fitopatógenos *Xanthomonas perforans*, *Aspergillium flavus*, *Penicillium verrucosum*, *Fusarium chlamydosporum* y *Fusarium oxysporum* en los cultivos de jitomate (*Solanum lycopersicum*) y rábano blanco (*Raphanus sativus* var. *aegyptiacus*) (Álvarez-Carvajal et al., 2020; Ocoy et al., 2013; Ali et al., 2015).

De acuerdo con los resultados del presente trabajo tanto para el tratamiento preventivo como curativo, disminuyeron la incidencia y severidad de la enfermedad a 150 ppm, coincidiendo con lo reportado por Ali y colaboradores (Ali et al., 2015) para el control de los fitopatógenos *Aspergillium flavus*, *Penicillium verrucosum* y *Fusarium chlamydosporum* en plantas de jitomate. En dicha investigación se implementaron AgNPs a concentraciones de 0, 50, 100, 150 y 200 ppm, de ellas la de 150 ppm fue la que presentó mejor inhibición ($\approx 50\%$). Juntos, estos resultados indican que el uso de AgNPs es una alternativa viable de manejo preventivo o curativo para la enfermedad de la Negrilla en plantas de *A. salmiana*.

Conclusiones

Las nanopartículas de plata inhiben el crecimiento *in vitro* de *Bipolaris zeae*, hongo fitopatógeno identificado como responsable de la enfermedad "Negrilla" en *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck. Este tratamiento también resulta efectivo contra la infección de plantas inoculadas con el agente patológico tanto en su manejo preventivo como curativo, aportando una alternativa a los fungicidas convencionales.

Conflicto de intereses

Los autores manifiestan no presentar conflictos de interés.

Referencias

- Abd-Alla MH, Nafady NA, Khalaf DM. (2016). Assessment of silver nanoparticles contamination on fababean-*Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*-*Glomus aggregatum* symbiosis: Implications for induction of autophagy process in root nodule. *Agriculture Ecosystems and Environment*, 218, 163–177. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2015.11.022>
- Abdelsalam NR, Abdel-Megeed A, Ali HM.; Salem MZM, et al. (2018). Genotoxicity effects of silver nanoparticles on wheat (*Triticum aestivum* L.) root tip cells. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 155, 76–85. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.02.069>
- Albright LJ, Wentworth JW, Wilson EM. (1972). Technique for measuring metallic salt effects upon the indigenous heterotrophic microflora of a natural water. *Water Research*, 6: 1589–1596. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(72\)90083-8](https://doi.org/10.1016/0043-1354(72)90083-8)
- Ali SM, Youssef NM, Nafady NA. (2015). Application of biosynthesized silver nanoparticles for the control of the land snail *Eobania vermiculata* and some phytopathogenic fungi. *Journal of nanomaterials*, 2015:218904. <https://doi.org/10.1155/2015/218904>
- Álvarez-Carvajal F, González-Soto TE, Armenta-Calderón A, Méndez-Ibarra R, et al. (2020). Silver nanoparticles coated with chitosan against *Fusarium oxysporum* causing the tomato wilt. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud*, 22:73-80. <https://doi.org/10.18633/biotecnica.v22i3.952>
- Ansari M, Ahmed S, Abbasi A, Hamad NA. et al. (2023). Green synthesized silver nanoparticles: A novel approach for the enhanced growth and yield of tomato against early blight disease. *Microorganisms*, 14:886. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11040886>
- Bagherzadeh H, Ehsanpour AA. (2016). Silver nanoparticles and silver ions: Oxidative stress responses and toxicity in potato (*Solanum tuberosum* L.) grown *in vitro*. *Horticulture, Environment and Biotechnology*, 57: 544–553. <https://doi.org/10.1007/s13580-016-0083-z>
- Balashanmugam P, Balakumaran MD, Murugan R, Dhanapal K, et al. (2016). Phytochemical synthesis of silver nanoparticles, optimization and evaluation of *in vitro* antifungal activity against human and plant pathogens. *Microbiological Research*, 192:52–64. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2016.06.004>
- Doudoroff P, Katz M. (1953). Critical review of literature on the toxicity of industrial wastes and their components to fish, II: The metals, as salts. *Sewage Ind Wastes* 25: 802–812
- Esparza-Ibarra EL, Violante-González J, Monks S, Cadena J, Araujo-Andrade C, Rössel-Kipping ED. (2015). Los agaves mezcaleros del altiplano Potosino y Zacatecano. *Estudios en Biodiversidad*, 20: 227–245. <http://ricaxcan.uaz.edu.mx/jspui/handle/20.500.11845/568>
- Grady PA, Lucio-Gough L. (2018). El automanejo de las enfermedades crónicas: un método integral de atención. *American Journal of Public Health*, 108 (Suppl), S437-S44. <https://doi.org/10.2105/AJPH.2014.302041s>
- Gutarowska B, Skora J, Zduniak K, et al. (2012). Analysis of the sensitivity of microorganisms contaminating museums and archives to silver nanoparticles. *International Biodeterioration & Biodegradation*. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2011.12.002>

- Jiménez-Quintero CA, Pantoja-Estrada A, Ferrey-Leonel H. (2016). Health risks of farmers for using and handling pesticides in the watershed: La Pila. *Revista Universidad y Salud*, 18 (3):417-431. <http://dx.doi.org/10.22267/rus.161803.48>
- Job BE, Matlack EB. (1900). New species of fungi from various localities with notes on some published species. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, 27(2):49-64
- Romero-Cortes T, Pérez España VH, Pescador-Rojas JA, et al. (2024). First report of leaf spot disease ("Negrilla") on *Agave salmiana* Otto Ex Salm-Dyck (ssp. *salmiana*) plants caused by *Bipolaris zeae* Zivan in Mexico. *Agronomy*, 14, 623. <https://doi.org/10.3390/agronomy14030623>
- Manamgoda DS, Cai L, McKenzie EHC, et al. (2012). A phylogenetic and taxonomic re-evaluation of the *Bipolaris* – *Cochliobolus* – *Curvularia* complex. *Fungal Diversity*, 56: 131–144. <https://doi.org/10.1007/s13225-012-0189-2>
- Manzar N, Kashyap AS, Maurya A, et al. (2022). Multi-gene phylogenetic approach for identification and diversity analysis of *Bipolaris maydis* and *Curvularia lunata* isolates causing foliar blight of *Zea mays*. *Journal of Fungi*, 8: 802. <https://doi.org/10.3390/jof8080802>
- Martin BE. (1971). *Dematiaceous Hyphomycetes*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England, 608
- Nutter FW, Esker PD, Coelho RAN. (2006). Disease assessment concepts and the advancements made in improving the accuracy and precision of plant disease Data. *European Journal of Plant Pathology*, 115:95-103. <https://doi.org/10.1007/s10658-005-1230-z>
- Ocsoy I, Paret ML, Ocsoy MA, Kunwar S, et al. (2013). Nanotechnology in plant disease management: DNA-directed silver nanoparticles on graphene oxide as an antibacterial against *Xanthomonas perforans*. *ACS nano*, 7(10), 8972–8980. <https://doi.org/10.1021/nn4034794>
- Otoni G, Ferreira de Oliverira W, Silva AL, et al. (2000). Eficiencia de funguicidas no controle de mancha no controle de mancha parda (*Bipolaris oryzae*) en arroz (*Oryza sativa*). *Pesquisa Agropecuaria Tropical*, 30(2): 59-62
- Pietrzak K, Gutarowska B. (2015). Influence of the silver nanoparticles on microbial community in different environments. *Acta Biochimica Polonica*, 62(4), 721-724. https://doi.org/10.18388/abp.2015_1118
- SENASICA. (2021). Ficha Técnica. Mancha marrón del arroz. *Cochliobolus miyabeanus* (*Bipolaris oryzae*). Dirección General de Sanidad Vegetal Dirección del Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria