

Efecto de la biomasa sonicada de la cianobacteria *Nostoc commune* sobre el crecimiento de *Fusarium oxysporum* "In vitro"

Effect of the biomass of the cyanobacterium *Nostoc commune* on the growth of *Fusarium oxysporum* "In vitro"

Ana I. Pico^{1*}; Juan D. Jaraba¹; Alfredo J. Jarma¹; Dairo J. Pérez Polo¹
Diana S. Herazo¹; Adriana Vallejo¹; Yirlis Y. Pineda¹; Daniela Vegliante¹
Anthony R. Ariza¹; María C. Ardila¹; Juan C. Pareja¹

Recibido para publicación: 24 de septiembre de 2023 - Aceptado para publicación: 20 de octubre de 2023

RESUMEN

La cianobacteria *Nostoc commune*, contiene compuestos bioactivos con actividad antimicrobiana y potencial para el control de fitopatógenos. Este trabajo tuvo como objetivo, determinar el efecto in vitro de biomasa sonicada de la cianobacteria, sobre el crecimiento de *Fusarium oxysporum*. Para ello, la biomasa de *N. commune*, fue disuelta en agua destilada estéril y sometida a procesos de centrifugación y ruptura celular asistida por ultrasonido. Su efecto antifúngico se evaluó mediante la técnica de difusión en disco (Kirby-Bauer) en medio de cultivo PDA (Papa Dextrosa Agar). En el centro de la caja de Petri, se ubicó un disco de agar (0,7 cm) con micelio puro del hongo, alrededor de este, se ubicaron 4 discos de papel filtro (0,7 cm), impregnados con biomasa de la cianobacteria. Discos del patógeno fueron sembrados en el mismo medio en ausencia de la cianobacteria, como control. El crecimiento del hongo se midió hasta que el control cubrió la totalidad de la caja de Petri, para determinar el Porcentaje de Inhibición del Crecimiento Radial (PICR %). La velocidad de crecimiento del hongo fue más lenta en las etapas iniciales de medición y el PICR fluctuó entre 33% y 58%. Sin embargo, no se presentaron halos de inhibición en el crecimiento del hongo, por lo que se asume, que el efecto antifúngico de la cianobacteria, no se mantuvo en el tiempo, pero, se podría potencializar mejorando el proceso de extracción de los compuestos.

Palabras clave: Antimicrobiano, metabolitos secundarios; biomasa; biocontrol; crecimiento micelial.

ABSTRACT

The cyanobacteria *Nostoc commune* contains bioactive compounds with antimicrobial activity and high potential to control of phytopathogens. The objective of this work was to determine the in vitro effect of sonicated biomass of these cyanobacteria on the growth of *Fusarium oxysporum*. The biomass of *N. commune* was dissolved in sterile distilled water and subjected to centrifugation processes and ultrasound-assisted cell rupture. The antifungal effect was evaluated using the disk diffusion technique (Kirby-Bauer) in a PDA (Potato Dextrose Agar) medium. In the center of the Petri dish, an agar disk (0.7 cm) with pure mycelium of the fungus was placed in the center of the Petri dish and, around it, four filter paper disk impregnated with the algae extract (0.7 cm) were placed. The radial growth of the pathogen was measured in the presence and absence of *N. commune*, until the control covered the entire Petri dish to assess the Percentage of Radial Inhibition of the pathogen (PICR %). The growth rate of the fungus was lower in the initial stages of measurement and the PICR fluctuated between 33 and 58%. However, there were no inhibition halos in the growth of the fungus, it is assumed that the antifungal effect of the cyanobacteria was not permanent over the time, but it could be potentiated by improving the extraction process of the extract.

Key words: Antimicrobial, secondary metabolites, biomass, biocontrol, mycelial growth.

Cómo citar

Pico, A.I., Jaraba, J.D., Jarma, A.J., Pérez Polo, D.J., Herazo, D.S., Vallejo, A., Pineda, Y.Y., Vegliante, D., Ariza, A.R. Ardila, M.C. y Pareja, J.C. 2023. Efecto de la biomasa sonicada de la cianobacteria *Nostoc commune* sobre el crecimiento de *Fusarium oxysporum* "In vitro". *Temas Agrarios* 28(2): 233-245. <https://doi.org/10.21897/z1mb9q86>



Temas Agrarios 2023. Este artículo se distribuye bajo los términos de la Licencia Creative Commons Attribution 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es>), que permite copiar, redistribuir, remezclar, transformar y crear a partir del material, de forma no comercial, dando crédito y licencia de forma adecuada a los autores de la obra.

INTRODUCCIÓN

Nostoc commune, es una cianobacteria de coloración verde azul. Esta microalga, filamentosa, posee colonias esféricas, y se le confiere la capacidad de fijación de nitrógeno (Potts, 2000) así como, la producción de muchos pigmentos de interés industrial, químico y farmacéutico (Chih *et al.*, 2021; Androutsopoulou y Makridis, 2023); se le considera un microorganismo con amplia plasticidad ambiental y objeto de estudio por la producción de metabolitos secundarios, con proyecciones interesantes de uso agrícola y ambiental (Anshuman *et al.*, 2013; Khan *et al.*, 2022). Adicionalmente, tiene efectos como promotora del crecimiento vegetal (Baizura *et al.*, 2023), de biorremediación de suelos (Roncero *et al.*, 2019; Cepoi *et al.*, 2022), actividad antioxidante, antimicrobiana y antifúngica, con resultados promisorios a nivel de laboratorio (El-anwar *et al.*, 2011; El-Mougy *et al.*, 2013; Xinjian *et al.*, 2022). Lo anterior, gracias a compuestos químicos contenidos intracelularmente como los fenoles, terpenos, ácidos grasos, flavonoides, etc. (Sathasivam *et al.*, 2019) y que requieren procedimientos para ser extraídos, sintetizados y aplicados posteriormente (Ruíz *et al.*, 2019). Uno de los métodos empleados, es el tratamiento de este tipo de cianobacterias con ultrasonido, al ser rápido, fácil y reproducible (Corona-Jiménez *et al.*, 2016), empleando ondas de presión acústica de alta potencia y baja frecuencia, las cuales crean burbujas de vapor o gas, liberando los compuestos presentes en la biomasa sonicada (Ramón y Gil-Garzón, 2021).

Fusarium oxysporum es un hongo fitopatógeno que afecta a cultivos de musáceas en la región Caribe, siendo una de las enfermedades de mayor importancia económica (López-Zapata y Castaño-Zapata, 2019; Manzo *et al.*, 2020),

especialmente *F. oxysporum* f. sp. *cubense* raza 4 tropical, catalogada como la más destructiva en plantas de banano (Bragard *et al.*, 2022) por su persistencia y diseminación (ICA, 2023) y cuyo manejo en campo, ha involucrado múltiples estrategias, dentro de las cuales, la aplicación de fungicidas ha primado sobre el resto por la necesidad de reducción de pérdidas. Sin embargo, otra práctica de manejo que también se ha explorado, involucra la aplicación de microorganismos, generalmente en base a hongos y bacterias (Thangavelu y Gopi, 2015; Sánchez *et al.*, 2021), pues sus efectos antagónicos son ampliamente estudiados y conocidos.

Dentro de este grupo, cabe destacar investigaciones realizadas en otros países, donde se ha validado la producción y síntesis de compuestos de interés de las cianobacterias en general, asociados a factores intrínsecos, biológicos, y ambientales (González *et al.*, 2021; Gorgich *et al.*, 2021), cuyo efecto antimicrobiano ha sido respaldado con destacados e interesantes hallazgos a nivel de laboratorio e invernadero, en cultivos de interés agrícola (Biondi *et al.*, 2004). A pesar de esto, el uso de las cianobacterias en cultivos comerciales aún en Colombia es un campo de estudio por explorar y aunque hay algunos acercamientos, en la región Caribe aún se desconoce su utilidad, bondades y formas de aplicación. Una primera exploración preliminar consiste en analizar el comportamiento *in vitro* de las cianobacterias sobre el crecimiento de este tipo de hongos.

Según reportes realizados por otros autores, la biomasa de las cianobacterias al ser sometida a un adecuado tratamiento, podría conducir a mejores resultados *in vitro*, ya que, aquellos en los que se induce ruptura celular para la liberación de metabolitos, han demostrado ejercer mejor biocontrol (Abdel-Raouf *et al.*, 2012; Toribio *et al.*, 2021, Righini *et al.*, 2022). Es por ello que, el objetivo de la presente investigación consistió en determinar el

efecto *in vitro* de la biomasa sonicada de la cianobacteria, sobre el crecimiento de *Fusarium oxysporum*, empleando la técnica de sensidiscos impregnados de la biomasa cianobacteriana, y realizando seguimiento del crecimiento micelial del patógeno, con la finalidad de cuantificar la eficiencia del uso primario de la misma, o si es necesario un tratamiento diferente de esta, para aplicaciones posteriores.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización. El experimento se realizó en el año 2022, en el Laboratorio de Sanidad Acuícola y Calidad de Aguas y el Laboratorio de Prácticas de Fitopatología, de la Universidad de Córdoba (8°47'37"1 latitud N y 75° 51'51"4 longitud W).

Agente fitopatógeno. La cepa del hongo fitopatógeno fue aislada y purificada de pseudotallo de plantas de banano con síntomas de marchitez por *Fusarium oxysporum*, de acuerdo a la metodología recomendada por García-Bastidas et al. (2020). Cortes rectangulares de 1 cm de muestra, se desinfectaron durante 2 minutos con hipoclorito de sodio (1,5 %) y un enjuague sucesivo durante 1 minuto con agua destilada estéril; seguido de un lavado con alcohol (70%), y tres lavados con agua destilada estéril (1 minuto); posteriormente se sembraron en cajas Petri con Papa Dextrosa Agar (PDA) y del crecimiento micelial obtenido, se realizaron repiques sucesivos en medio PDA para finalmente, obtener un cultivo monospórico de este (Figura 1).

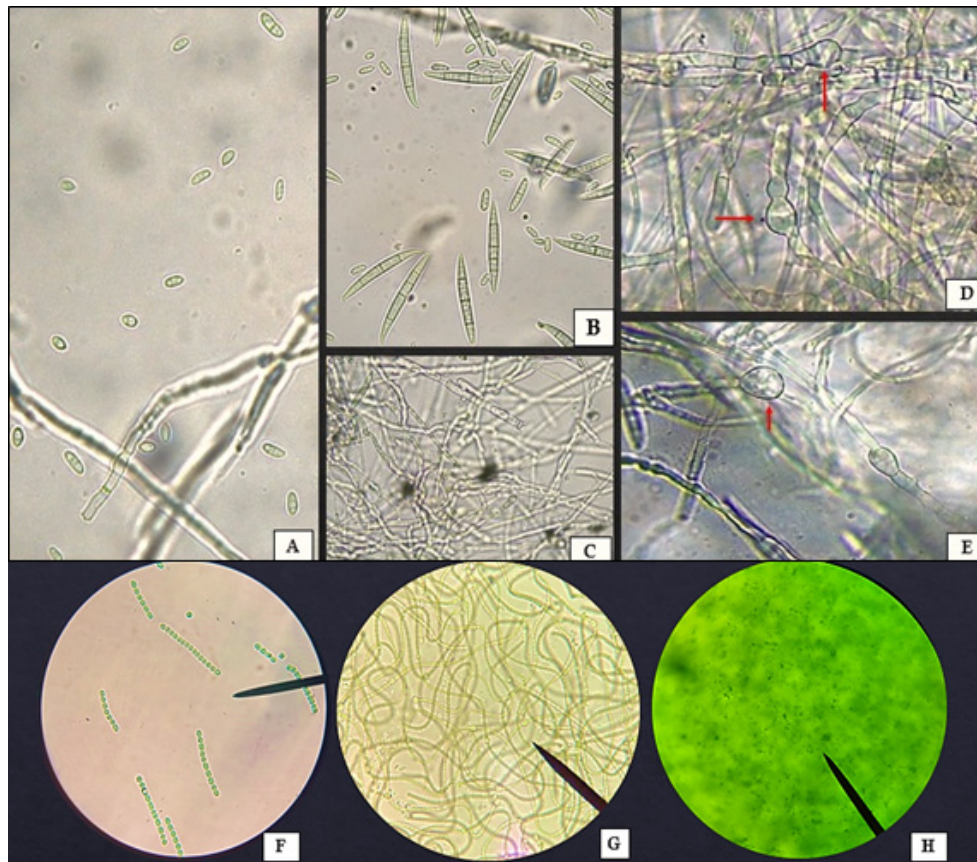


Figura 1. A. Microconidias, B. Macroconidias, C. Micelio, D. Clamidosporas intercalares, E. Clamidospora terminal F. Filamentos aislados de *N. commune* (40X), G. Filamentos diferenciados en la biomasa sin sonicar, H. Ruptura celular apreciada en microscopio (40X), luego de sonicación de la biomasa.

Identificación molecular del hongo. La extracción de ADN se realizó a partir de cultivos monospóricos, usando el Kit de purificación de ADN genómico de plantas PureLink™ (Invitrogen). Para la amplificación de los ITS se emplearon los cebadores universales ITS3 (GCATCGATGAAGAACGCAGC) e ITS4 (TCCTCCGCTTATTGATATGC) (White *et al.*, 1990). Se empleó una temperatura de anillamiento de 54 °C. El producto de la PCR se verificó mediante electroforesis en gel de agarosa al 2% corrido en Buffer TBE 1X por 60 minutos a 100 Voltios; el volumen del amplicon cargado fue de 5 µL y 1 µL de marcador de peso molecular. El gel se observó bajo un fotodocumentador Labnet U1001.

Los productos de la PCR fueron enviados al Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional, sede Bogotá, para su secuenciación. Las secuencias obtenidas resultantes, se compararon por similitud, con las registradas en el banco de secuencias (GenBank) del National Center for Biotechnology Information (NCBI, 2023), utilizando el algoritmo BLAST (Basic Local Alignment Search Tool). Las secuencias fueron visualizadas con el programa Chromas, versión 2.5 y una vez identificado el aislamiento, fue registrado en la base de datos del GenBank.

Procedencia de la cianobacteria. La cianobacteria fue obtenida de la empresa Microalgas Oleas de México, y cultivada en el Laboratorio de Sanidad Acuícola y Calidad de Aguas de la Universidad de Córdoba, en medio de cultivo BG11, en estado sólido y líquido, bajo iluminación continua con luz LED blanca ($79,14 \pm 1,94 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), posteriormente el microorganismo se cultivó a temperatura ambiente en contenedores plásticos de 50 L, con aireación permanente, a pH 10.

Tratamiento de la cianobacteria. Tras su cosecha, la biomasa húmeda de la cianobacteria fue sometida a ciclos continuos

de centrifugación (máxima velocidad, 5 minutos) para descartar sobrenadante e impurezas y a procesos de sonicado, de acuerdo con ensayos preliminares realizados, empleando ultrasonido (Fisher Scientific FB120) al 80% de amplitud por 30 ciclos, durante 1 hora y 22 minutos, para disrupción celular (Figura 1).

Ensayos *in vitro*. Se empleó el método de difusión en agar, por difusión superficial en disco (Kirby-Bauer). Se adicionaron 25 mL de PDA en cajas de 9 cm estériles; se utilizaron 4 discos de papel filtro Double Ring (7 mm) impregnados con la biomasa de la cianobacteria en cada caja Petri, a los cuales se les aplicaron 250 µL de biomasa de la cianobacteria. En el centro, se colocó un disco de 7 mm con micelio del hongo. Se empleó el mismo procedimiento para el fungicida comercial SICO 250 EC (Difenoconazol). El testigo absoluto fue el hongo en crecimiento libre, en ausencia de discos. Se tuvieron cuatro réplicas por tratamiento.

Los resultados se evaluaron mediante la lectura diaria en centímetros del crecimiento del hongo con una regla milimétrica y la presencia o no, de halos de inhibición hasta que el testigo cubriera la totalidad de la caja de Petri. Con los datos, se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento radial - PICR (Salazar *et al.*, 2012) mediante la fórmula:

$$\left[\frac{(R1 - R2)}{R1} * 100 \right]$$

Donde, R1= crecimiento radial (cm) del hongo en el control, y R2= crecimiento radial (cm) del hongo en interacción con la biomasa.

Análisis estadístico de los datos. Se utilizó un diseño completamente aleatorio de un factor de dos tratamientos y cuatro repeticiones en medidas repetidas en el tiempo. Los tratamientos fueron: control

químico y control con cianobacteria, donde se evaluó el PICR entre las 72 y 264 horas después de la aplicación de los tratamientos, con frecuencia de 24 horas.

Los datos de PICR se procesaron con el programa estadístico R versión 4.3.1 (R Core Team, 2015), mediante un análisis de varianza con los respectivos ajustes del error en términos de repetición (sujeto), tratamiento y tiempo; el análisis *post hoc*, se realizó con la prueba SNK al 5%, con el paquete Agricolae (Mendiburu, 2023). Por otra parte, se realizó un análisis de regresión para la respuesta de PICR bajo el efecto de la cianobacteria durante el periodo de incubación (48-264 horas). Los gráficos fueron diseñados con el paquete ggplot2 de R (Wickham, 2016).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización molecular del patógeno.

La secuencia obtenida como resultado de la caracterización molecular del patógeno aislado, fue comparada para identificación con la herramienta BLAST del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI), lo que

permitió identificar *Fusarium oxysporum* a nivel de especie, con porcentajes de identidad entre 98% y 99,02% y con un E Value de $1e-145$. Si bien, la región de Espaciadores Internos Transcritos (ITS), ha sido muy utilizada para realizar un acercamiento y caracterización en este género (Vásquez, 2021; Maldonado, Sánchez y Villarruel, 2023), a nivel de especie, Almonacid (2018), plantea que, no permite diferenciar razas ni formas especiales, como en el caso de este patógeno. Por tanto, dicha identificación molecular, complementó la identificación realizada previamente, mediante caracteres morfológicos del patógeno.

Ensayo antifúngico

El análisis de varianza (ANOVA) de la tabla 1, señaló que, la variable PICR únicamente fue influenciada por los tratamientos aplicados (p -valor $<0,001$ ***). La prueba SNK (5%), mostró diferencias estadísticas entre tratamientos (Figura 2), siendo superior el tratamiento químico sobre la cianobacteria, mostrando una efectividad del 100% durante todas las fechas de medición, frente a un promedio de 47,69% registrado por la biomasa de la cianobacteria.

Tabla 1. Análisis de varianza de la respuesta del PICR de *F. oxysporum* bajo dos tratamientos (químico y cianobacteria) en el tiempo (entre las 48 y 264 horas después de su aplicación).

Fuente	GL	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F	p-valor
Tratamiento	1	5650	5650	184,44***	< 0,001
Tiempo	9	81	9	0,294	0,972
Tratamiento: tiempo	9	470	52	1,704	0,12
Residuales	40	1225	31		

GL: Grados de libertad; ***: Diferencias estadísticas al 0,1%.

Si bien, no hubo diferencias generales del PICR en el tiempo (dada la marcada diferencia entre los tratamientos), la respuesta del PICR de la enfermedad en función de la biomasa sonicada de la cianobacteria, fue explicada

por un modelo cuadrático ($R^2=82,6\%$), donde este parámetro, mostró un comportamiento creciente, en las primeras fechas de medición y posteriormente, a partir de las 135 horas, presentó una tendencia decreciente que

se mantuvo hasta las 264 horas (Figura 3), respuesta que señala un efecto no duradero en el tiempo, contrario al tratamiento químico que fue superior, toda vez que, con este,

se obtuvo un 100% de inhibición sobre el crecimiento micelial, generando un efecto más perdurable en el tiempo (Figura 4).

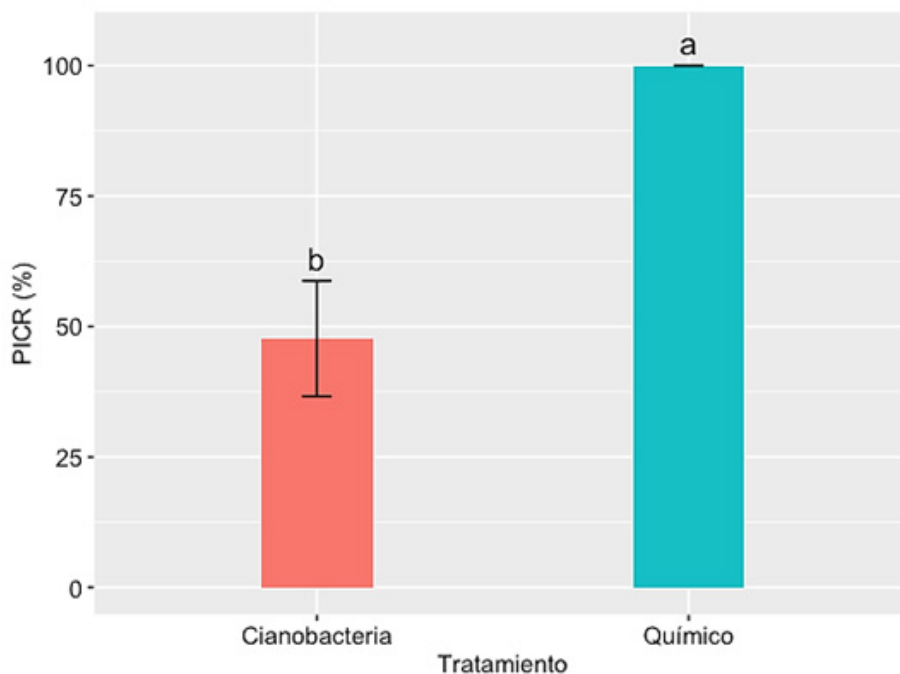


Figura 2. Respuesta promedio del PICR de *F. oxysporum* bajo los tratamientos de control con cianobacteria y control químico. Promedios (barras ± desviación estándar); las letras diferentes indican diferencias estadísticas entre los tratamientos, según la prueba SNK al 5%.

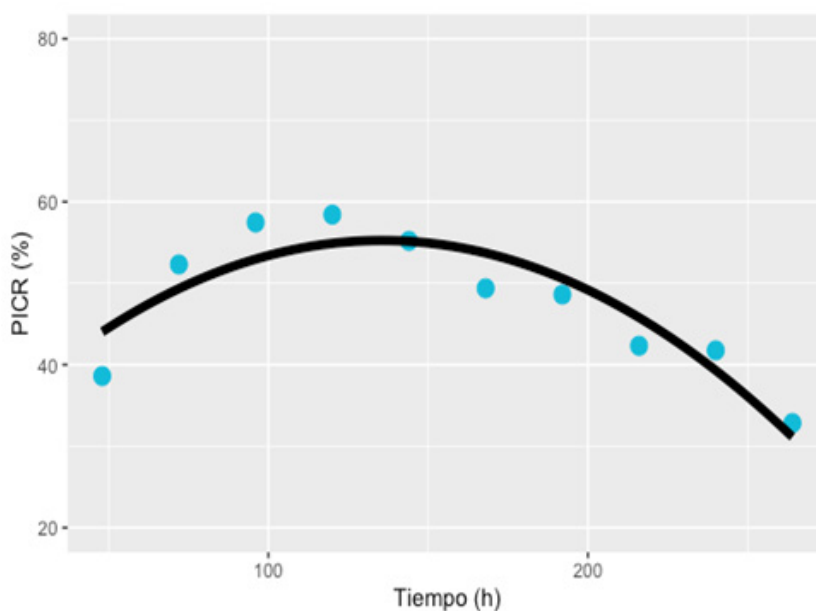


Figura 3. Respuesta del PICR de *F. oxysporum* tras la aplicación de la biomasa de la cianobacteria entre las 48 y 264 horas. *: Diferencias estadísticas al 5%; **: Diferencias estadísticas al 1%.

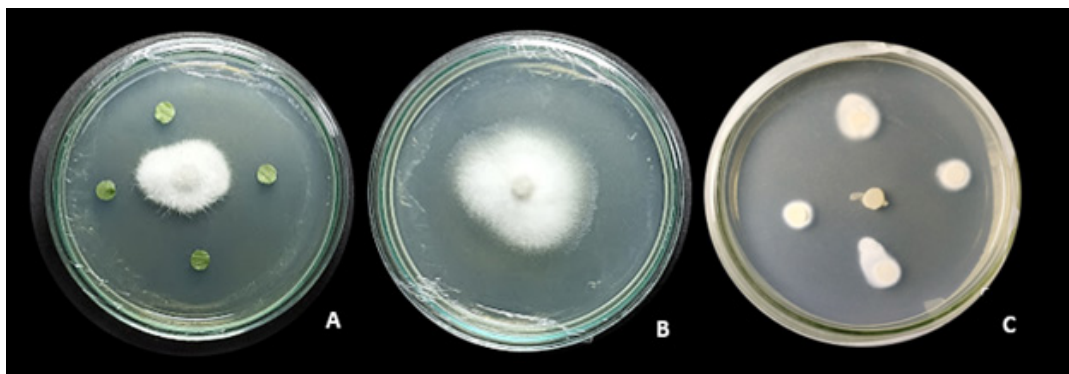


Figura 4. A. Disco del hongo (centro) y discos con biomasa de cianobacteria alrededor. Crecimiento a las 96h, B. Crecimiento del testigo absoluto a las 96h, C. Disco del hongo (centro) y discos con fungicida SICO 250 EC. Crecimiento a las 96h.

Los PICR antes mencionados, coinciden con Ahmed *et al.* (2013), quienes al someter a un proceso de sonicación celular a *Nostoc* sp SAG2306, y evaluar su efecto sobre el crecimiento de *Fusarium solani* (Sacc.), y *Macrophomina phaseolina* (Tassi), observaron un 31,43% y 33% de inhibición micelial después de 7 días.

Por su parte, Rizk (2006), al realizar investigaciones con las cianobacterias *Nostoc muscorum* y *Phormidium fragile*, para el biocontrol de patógenos del suelo (*Fusarium verticillioides*, *Rhizoctonia solani*, y *Sclerotium rolfsii*) concluyó que, el máximo valor de inhibición fue del 52%, muy cercano al reportado en este trabajo y reportó una significativa disminución tanto del número de esporas de *F. verticillioides*, como sobre la producción de esclerocios de *S. rolfsii*.

Sin embargo, contrasta con reportes realizados por Kim y Kim (2008), quienes al evaluar la actividad antifúngica de la cianobacteria *Nostoc commune* FA-103, hallaron que su extracto crudo tuvo un efecto similar al fungicida Mancozeb, evaluado *in vivo* e *in vitro* sobre aislados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

Este hecho pone de manifiesto que, el tiempo de sonicado, es un factor que influye en la

liberación de compuestos contenidos en el interior de la célula, al respecto, Nunes *et al.* (2023), reportaron que, los tratamientos con ultrasonido sobre las cianobacterias *Pseudoneochloris marina* y *Chlorella zofingiensis*, no tuvieron efectos negativos sobre la síntesis de sus compuestos internos de interés. En tanto, Greenly y Tester (2015), hallaron que, los primeros segundos de sonicación causaron una alteración celular más significativa sobre *Nannochloropsis* sp., mientras que, al exponer la cianobacteria a tiempos más prolongados de ultrasonido, las diferencias con otras especies, fue más notable.

De igual manera, así como este, existen otros factores determinantes que podrían influir sobre el efecto antifúngico que ejercen este tipo de organismos marinos; Stirk y Staden (2022), destacan, por ejemplo, la taxonomía, la edad del cultivo, así como la fase de crecimiento del microorganismo al momento de la cosecha, y el solvente de extracción, como aspectos primordiales a tener en consideración en este tipo de ensayos *in vitro*. Martínez (2012), señala que, los extractos acuosos, a diferencia de las extracciones con solventes orgánicos de las cianobacterias, en algunas ocasiones, no suelen ser tan eficientes para la inhibición del crecimiento de microorganismos.

Nostoc spp., produce sustancias químicas con efecto antibacteriano (Baizura *et al.*, 2023), y para cuya extracción, es posible utilizar solventes orgánicos diferentes al agua, tales como hexano, cloroformo, metanol y etanol, los cuales han mostrado eficiencia en la extracción de compuestos químicos para este tipo de algas (Raj *et al.*, 2023). Sin embargo, alterno a este método, la extracción asistida por ultrasonido, es un método eficiente, rápido y de bajo costo, con el que se pueden obtener también, muy buenos resultados (Azuola y Vargas, 2007).

Tavakoli *et al.* (2021), respaldan el empleo de ultrasonido para optimizar la extracción de compuestos bioactivos y a su vez, mejorar el proceso de determinación de la actividad antioxidante y antibacteriana, de extractos de la cianobacteria *Spirulina platensis*. Wang *et al.* (2014), mencionan que, esto es ocasionado por efecto de la disrupción celular desencadenado por ondas del ultrasonido, que buscan la liberación de compuestos intracelulares de interés.

Este efecto antifúngico, es muy dependiente también, a la especie de cianobacteria en estudio. Mohamed *et al.* (2011), hallaron que, *Nostoc entophytum* mostró mayor efecto inhibitorio que *Nostoc muscorum* sobre *Rhizoctonia solani*.

Es fundamental también, conocer los perfiles químicos y saber con exactitud a qué tipo de compuestos se le atribuye la actividad antimicrobiana, tales como los compuestos fenólicos (Fidor, Konkel y Mazur-Marzec, 2019; Sucasaca y Vergara, 2020; Chung-Chih *et al.*, 2021).

Morsy (2011), manifiesta que, la producción de compuestos fenólicos, saponinas y alcaloides se asocia con los efectos significativos sobre la inhibición del crecimiento de hongos, hallando un PICR de filtrados de *Nostoc muscorum* sobre hongos del suelo entre un 82,8% y 89,4%, mientras que, Gupta y Vyas

(2021), destacaron la actividad antifúngica significativa (9-52 g/mL) de la nostocina de *Nostoc calcícola* sobre *Candida albicans* y *Aspergillus niger*.

Por ello, es posible que la concentración de trabajo haya sido muy baja, teniendo en cuenta que no se conoce con exactitud la existencia y abundancia de compuestos, presentes en la biomasa de la cianobacteria. Por lo que, en futuros estudios, se deben analizar diferentes concentraciones de la biomasa sonicada, así como los diferentes componentes químicos que esta contenga.

CONCLUSIONES

El efecto de inhibición parcial que ejerce la cianobacteria, disminuye con el tiempo y no parece manifestar un comportamiento duradero a través del mismo. En cambio, el control químico resultó más rápido y contundente en el tiempo, pues alcanzó un 100% de inhibición. No se evidenció la formación de halos de inhibición que puedan sugerir un efecto positivo antifúngico contundente con la biomasa sonicada, por tanto, el agua como solvente, no mostró un resultado eficiente.

AGRADECIMIENTOS

Al Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación (Minciencias) de Colombia, por el apoyo financiero del programa Conectando Conocimientos: “Estrategias integrales para valorizar la biomasa microalgal en beneficio del sector agrícola colombiano”.

Conflictos de intereses

El manuscrito fue preparado y revisado con la participación de todos los autores, quienes declaramos que no existe ningún conflicto de intereses que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados.

REFERENCIAS

- Abdel-Raouf, N., Al-Homaidan, A. y Ibraheem, I. 2012.** Agricultural importance of algae. African Journal of Biotechnology 11(54):11648-11658. [10.5897/AJB11.3983](https://doi.org/10.5897/AJB11.3983)
- Ahmed, H., Farghaly, F., Hifney, A. y Abdel-Basset, R. 2013.** Control of sesame wilt and charcoal rot diseases by intact or sonicated cells of *Nostoc* sp SAG2306. Jokull Journal 63(9): 247-271. https://www.researchgate.net/publication/259761271_Control_of_sesame_wilt_and_charcoal_rot_diseases_by_intact_or_sonicated_cells_of_Nostoc_sp_SAG2306
- Almonacid, A. 2018.** Caracterización molecular de *Fusarium oxysporum* aislado de cultivos colombianos de tomate (*Solanum lycopersicum*) con marchitez vascular. Tesis Biólogo, Universidad El Bosque, Bogotá.
- Androusoyopoulou, C. y Makridis, P. 2023.** Antibacterial activity against four fish pathogenic bacteria of twelve microalgae species isolated from lagoons in Western Greece. Microorganisms 11(1396): 1-20. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11061396>
- Anshuman, S., Deepika, M., Sharmila, G. y Muthukumar, C. 2013.** Effect of glucose and phytohaemagglutinin (PHA) rich *Phaseolus vulgaris* extract on growth and protein synthesis of pharmaceutically important cyanobacteria *Nostoc ellipsosporum* NCIM 2786. Journal of Genetic Engineering and Biotechnology 11(1): 33-37. <https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2013.04.002>
- Azuola, R. y Vargas, P. 2007.** Extracción de sustancias asistida por ultrasonido (EUA). Tecnología en marcha 20(4): 30-40. <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/4835781.pdf>
- Baizura, T., Suzianti, N., Kamaludin, N., Yan, W., How, V., Bhatnagar, A., Ma, Z. y Loke, P. 2023.** Biological active metabolites from microalgae for healthcare and pharmaceutical industries: A comprehensive review. Bioresource Technology 372(128661): 1-14. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2023.128661>
- Biondi, N., Piccardi, R., Margheri, C., Rodolfi, L., Smith, G. y Tredici, M. 2004.** Evaluation of *Nostoc* strain ATCC 53789 as a potential source of natural pesticides. Applied and Environmental Microbiology 70(6):3313-3320. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.6.3313-3320.2004>.
- Bragard, C., Baptista, P., Chatzivassiliou, E., Di Serio, F., Gonthier, P., Jaques, J., Fejer, A., MacLeod, A., Sven, C., Milonas, P., Navas-Cortes, J., Parnell, S., Potting, R., Stefani, E., Thulke, H., Van der Werf, W., Vincent, A., Yuen, J., Zappala, L., Migheli, Q., Vloutoglou, I., Maiorano, A., Streissl, F. y Lucien, P. 2022.** Pest categorisation of *Fusarium oxysporum* f.sp. *Cubense* Tropical Race 4. EFSA Journal 20(1): 1-32. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2022.7092>
- Cepoi, L., Zinicovscaia, I., Valuta, A., Codreanu, L., Rudi, L., Chiriac, T., Yushin, N., Grozdov, D. y Peshkova, A. 2022.** Bioremediation capacity of edaphic cyanobacteria *Nostoc linckia* for chromium in association with other heavy-metals-contaminated soils. Environments 9(1):1-14. <https://doi.org/10.3390/environments9010001>

- Chih, C., Yeh, H., Liao, Z., Hung, S., Chen, V. y Lee, P. 2021.** An *in vitro* study shows the potential of *Nostoc commune* (cyanobacteria) polysaccharides extract for wound-healing and anti-allergic use in the cosmetics industry. *Journal of Functional Foods* 87(1): 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2021.104754>
- Chung-Chih, T., Han-Yang, Y., Zhen-Hao, L., Sheng-Wen, H., Boryuan, C., Po-Tsang, L., Fan-Hua, N., Wen-Ling, S., Chia-Ching, C. y Meng-Chou, L. 2021.** An *in vitro* study shows the potential of *Nostoc commune* (cyanobacteria) polysaccharides extract for wound-healing and anti-allergic use in the cosmetics industry. *Journal of Functional Foods* 87(104754): 2-10. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2021.104754>
- Corona-Jiménez, E., Martínez-Navarrete, N., Ruíz-Espinosa, H. y Carranza-Concha, J. 2016.** Ultrasound-assisted extraction of phenolics compounds from chia (*Salvia hispanica* L.) seeds and their antioxidant activity. *Agrociencia* 50(4):403-412. <https://www.scielo.org.mx/pdf/agro/v50n4/1405-3195-agro-50-04-403.pdf>
- El-anwar, M., El-sheekh, M., Metwally, M., El-whab, A. e Ismail, M. 2011.** Antagonistic activity of some fungi and cyanobacteria species against *Rhizoctonia solani*. *International Journal of Plant Patology* 2(3): 101-114. <https://doi.org/10.3923/ijpp.2011.101.114>
- El-Mougy, N. y Abdel-Kader, M. 2013.** Effect of commercial cyanobacteria products on the growth and antagonistic ability of some bioagents under laboratory conditions. *Journal of Pathogens* 2013(838329): 1-11. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1155/2013/838329>
- Fidor, A., Konkel, R. y Mazur-Marzec, H. 2019.** Bioactive peptides produced by cyanobacteria of the genus *Nostoc*: a review. *Mar Drugs* 17(10):561. <https://doi.org/10.3390/md17100561>.
- García-Bastidas, F. A., Pachacama-Gualotuña, S. F., Jarrín-Escudero, D. A., Iza-Arteaga, M. L., Ayala Vásquez, M., Ortiz, H. E., Dix-Luna, O. J., Echegaray, J., Farfán, D., Bartolini, I., Beltrán, C. y Zeballos, G. 2020.** Guía andina para el diagnóstico de *Fusarium* raza 4 Tropical (R4T). *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (syn. *Fusarium odoratissimum*) agente causal de la marchitez por *Fusarium* en musáceas (plátanos y bananos).
- González, R., Velasquez, S., Felix, M., Bengoechea, C., Yañez, I. y Orta, M. 2021.** Identification and effect of ozone and ultrasound pretreatments on *Desmodesmus* sp. and *Tetradesmus obliquus* proteins 60(102514). <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102514>
- Gorgich, M., Martins, A., Mata, T. y Caetano, N. 2021.** Composition, cultivation and potential applications of *Chlorella zofingiensis*. A comprehensive review. *Algal Research* 60(102508). <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102508>
- Greenly, J. y Tester, J. 2015.** Ultrasonic cavitation for disruption of microalgae. *Bioresource Technology* 184(1):276-279. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.11.036>
- Gupta, V. y Vyas, D. 2021.** Antimicrobial effect of a cyclic peptide Nostophycin isolated from wastewater cyanobacteria, *Nostoc calcicola*. *Current Botany* 12(1): 94-101. <https://doi.org/10.25081/cb.2021.v12.6612>

- ICA (Instituto Colombiano Agropecuario). 2023.** Fusarium R4T. <https://www.ica.gov.co/icacomunica/pyp/fusarium-r4t#:~:text=%C2%B-FQu%C3%A9%20es%20la%20Marchitez%20por,el%20hongo%20Fusarium%20oxysporum%20f>
- Khan, F., Shahid, A., Zhu, H., Wang, N., Rizwan, M., Ahmad, N., Xu, J., Asraful, M. y Aamer, M. 2022.** Prospects of algae-based green synthesis of nanoparticles for environmental applications. *Chemosphere* 293(1): 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.133571>
- Kim, J. y Kim, J. 2008.** Inhibitory effect of algal extracts on mycelial growth of the tomato-wilt pathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici*. *Mycobiology* 36(4): 242-248.
- López-Zapata, S. y Castaño-Zapata, J. 2019.** Manejo integrado del mal de Panamá [*Fusarium oxysporum* Schlechtend: Fr.f.sp. *cubense* (E.F. SM.) W.C. Snyder & H.N. Hansen]: una revisión. *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient.* 22(2):1-13.
- Maldonado, L., Sánchez, A. y Villarruel, J. 2023.** Identificación de hongos mediante códigos de barras de ADN. *Ciencia ergo-sum* 31(1):3-11. <https://cienciaergosum.uaemex.mx/article/download/17956/15451>
- Manzo, G., Buenrostro, M., Leopardi, C., Orozco, M. y Guzman, M. 2020.** Genetic Diversity of *Fusarium* wilt disease of banana. En: Trindade, R. y Campos, M. (Ed). *Genetic Variation*. IntechOpen, Rijeka, p1-16. <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.94158>
- Martínez, J. 2012.** Bioprospección de la actividad antimicrobiana y biotóxica de extractos de cianobacterias y microalgas. Tesis Magíster en Ciencias, Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE), Baja California, México.
- Mendiburu, F. 2023.** *Agricolae: Statistical procedures for agricultural research.* <https://cran.r-project.org/web/packages/agricolae/index.html>
- Mohamed, E., El-Sheekh, M., Metwally, M., Ismail, A. y Ismail, M. 2011.** Antagonistic activity of some fungi and cyanobacteria species against *Rhizoctonia solani*. *International Journal of Plant Pathology* 2(3): 101-114. <https://doi.org/10.3923/ijpp.2011.101.114>
- Morsy, K. 2011.** Biological control of *Damping-off*, root rot and wilt diseases of faba bean by cyanobacteria (Blue-Green Algal) culture filtrate. *Egypt, J. Phytopathol* 39(2): 159-171. https://ejp.journals.ekb.eg/article_229994_f12b6e53d3d06ff90cf-9d421eab4d8a8.pdf
- NCBI (National Center for Biotechnology Information). 2023.** *Taxonomy Browse.* <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=474922>
- Nunes, R., Pez, D., Damasceno, L., Rech, R. y Domeneghini, G. 2023.** Effect of ultrasound on *Pseudoneochloris marina* and *Chlorella zofingiensis* growth. *Bioresource Technology* 373(128741). <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2023.128741>

- Potts, M. 2000.** *Nostoc*. The ecology of cyanobacteria. Kluwer Academic Publishers, Países Bajos, p465–504.
- R Development Core Team. 2015.** R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Version. 3.2.2. <http://www.r-project.org/>
- Raj, T., Morya, R., Chandrasekhar, K., Kumar, D., Soam, S., Kumar, R., Kumar, A. y Kim, S. 2023.** Microalgae biomass deconstruction using green solvents: Challenges and future opportunities. *Bioresource Technology* 369(128429). <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.128429>
- Ramón, C. y Gil-Garzón, M. 2021.** Efecto de los parámetros de operación de la extracción asistida por ultrasonido en la obtención de polifenoles de uva: una revisión. *Tecnológicas* 24(51): 1-15. <https://doi.org/10.22430/22565337.1822>
- Righini, H., Francioso, O., Martel Quintana, A. y Roberti, R. 2022.** Cyanobacteria: a natural source for controlling agricultural plant diseases caused by fungi and oomycetes and improving plant growth. *Horticulturae* 8 (58): 2-22. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8010058>
- Rizk, M. 2006.** Growth activities of the sugarbeet pathogens *Sclerotium rolfsii* Sacc., *Rhizoctonia solani* Kühn., and *Fusarium verticillioides* Sacc., under cyanobacterial filtrates stress. *Plant Pathology Journal* 5(2): 212-215. doi: [10.3923/ppj.2006.212.215](https://doi.org/10.3923/ppj.2006.212.215)
- Roncero, B., Román, J., Gómez-Serrano, C., Cantón, Y. y Acién, F. 2019.** Production of a biocrust-cyanobacteria strain (*Nostoc commune*) for large-scale restoration of dryland soils. *Journal of Applied Phycology* (2019) 31:2217–2230. <https://doi.org/10.1007/s10811-019-1749-6>
- Ruíz, M., Jáuregui, M., Medina, E., Jaime, C. y Cerezal, P. 2019.** Rapid green extractions of c-phycoyanin from *Arthrospira maxima* for functional applications. *Applied Sciences* 9(1987):1-13. <https://doi.org/10.3390/app9101987>
- Salazar, E., R. Hernández, A. Tapia, y L. Gómez-Alpizar. 2012.** Identificación molecular del hongo *Colletotrichum* spp., aislado de banano (*Musa* spp.) de altura en la zona de Turrialba y determinación de su sensibilidad a fungicidas poscosecha. *Agron. Costarricense* 36(1):53-68. doi:[10.15517/rac.v36i1.9964](https://doi.org/10.15517/rac.v36i1.9964)
- Sánchez-Espinosa, A., Villarruel-Ordaz, J. y Maldonado-Bonilla, L. 2021.** Mycoparasitic antagonism of a *Trichoderma harzianum* strain isolated from banana plants in Oaxaca, Mexico. *Biocencia* 23(1):127-134. <https://doi.org/10.18633/biocencia.v23i1.1310>
- Sathasivam, R., Radhakrishnan, R., Hashem, A. y AbdAllah, E. 2019.** Microalgae metabolites: a rich source for food and medicine. *Saudi Journal of Biological Sciences* 26(4):709-722. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2017.11.003>
- Stirk, W. A. y Staden, J. 2022.** Bioprospecting for bioactive compounds in microalgae: antimicrobial compounds. *Biotechnology Advances* 59(107977). <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2022.107977>
- Sucasaca, D. y Vergara, F. 2020.** Efecto antifúngico *in vitro* del extracto hidroalcohólico de la nuez de *Anacardium occidentale* L. (marañón) en cepas de *Malassezia* spp. Tesis Químico Farmacéutico, Universidad Roosevelt, Huancayo.

- Tavakoli, S., Hong, H., Wang, K., Yang, Q., Hashemi, H., Zhuang, S., Li, Y., Liang, Y., Tan, Y. y Luo, Y. 2021.** Ultrasonic-assisted food-grade solvent extraction of high-value added compounds from microalgae *Spirulina platensis* and evaluation of their antioxidant and antibacterial properties. *Algal Research* 60(102493): 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102493>
- Thangavelu, R. y Gopi, M. 2015.** Field suppression of *Fusarium* wilt disease in banana by the combined application of native endophytic and rhizospheric bacterial isolates possessing multiple functions. *Phytopathologia Mediterranea* 54(2):241-252 1 [10.14601/Phytopathol_Mediterr-15160](https://doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-15160)
- Toribio, A., Jurado, M., Suárez Estrella, F., López González, J., Martínez Gallardo, M. y López, M. 2021.** Application of sonicated extracts of cyanobacteria and microalgae for the mitigation of bacterial canker in tomato seedlings. *Journal of Applied Phycology* 33(1): 3817-3829. <https://doi.org/10.1007/s10811-021-02599-6>
- Vásquez, D. 2021.** Estudio de la diversidad molecular de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* presente en Colombia. Tesis Magíster en Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Medellín.
- Wang, M., Yuan, W., Jiang, X., Jing, Y. y Wang, Z. 2014.** Disruption of microalgal cells using high-frequency focused ultrasound. *Bioresource Technology* 153(1):315-321. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.11.054>
- White, T., Bruns, T., Lee, S. y Taylor, J. 1990.** PCR Protocols: a guide to methods and applications. En: Innis, M., Gelfand, D., Sninsky, J. y White, T. (Ed). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. Academic Press, San Diego, p315-322. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-372180-8.50042-1>
- Wickham, H. 2016.** ggplot2: Elegant graphics for data analysis (second edition). Springer, Netherlands. ISBN: 978-3-319-24275-0
- Xinjian, W., Zhen, Y., Xuehong, W., Yu, L., Hongjuan, Z., Ruofeng, S., Cidan, L., Cuomu, W., Baocheng, H. 2022.** The structure characterized of *Nostoc commune* polysaccharide and antioxidant activity of Gansu *Nostoc commune*. Research Square. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1473207/v1> [Ugias sequia nest](https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1473207/v1)