



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**“EVALUACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE HONGOS MICROSCÓPICOS A
TRAVÉS DE BIOENSAYO DUAL”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

LICENCIADA EN BIOTECNOLOGÍA

P R E S E N T A:

LILIANA NUTE QUIROZ

ASESOR:

DR. MARTÍN PABLO ANTONIO MORENO PÉREZ

COASESORA

DRA. LAURA ALEJANDRA SÁNCHEZ PAZ



TOLUCA, ESTADO DE MÉXICO

30 DE JUNIO DE 2023.

ÍNDICE

RESUMEN	11
I. INTRODUCCIÓN	12
II. MARCO TEÓRICO	14
2.1. Infecciones micóticas	14
2.1.1. Infecciones micóticas agrícolas.....	14
2.1.2. Infecciones micóticas por <i>Fusarium solani</i>	16
2.2. Antimicrobianos	16
2.2.1. Antifúngicos	17
2.3. Resistencia a antimicrobianos	18
2.3.1. Resistencia a antifúngicos	19
2.4. Nuevas fuentes de antifúngicos.....	19
2.5. Evaluación de actividad antagónica	23
2.5.1. Bioensayo dual	23
2.5.2. Hongos con capacidad antifúngica	26
III. JUSTIFICACIÓN	29
IV. HIPÓTESIS	30
V. OBJETIVOS	31
VI. METODOLOGÍA	32
6.1. Cepas fúngicas.....	32
6.2. Determinación de la concentración de fungicida comercial a utilizar como control	32
6.3. Bioensayo de cultivo dual	33
6.4. Determinación del porcentaje de inhibición.....	34
6.5 Identificación taxonómica tradicional de cepas fúngicas.....	34

6.6 Conservación de cepas fúngicas.....	35
6.7 Análisis estadístico.....	35
VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	36
7.1. Reactivación de cepas	36
7.2. Determinación del porcentaje de inhibición de antifúngicos comerciales.....	40
7.3. Bioensayo de confrontación dual	40
7.4. Evaluación de porcentaje de inhibición.....	44
7.5. Identificación taxonómica tradicional de cepas con mayor actividad antagónica	50
7.6. Análisis estadístico	52
7.6.1. Prueba T de student	53
VII. CONCLUSIONES.....	55
IX. REFERENCIAS	56

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Sustancias con capacidad antifúngica	21
Cuadro 2. Investigaciones realizadas a partir de bioensayo de cultivo dual	24
Cuadro 3. Especies fúngicas con actividad antimicótica	27
Cuadro 4. Concentraciones de fungicidas agrícolas utilizados	32
Cuadro 5. Determinación del porcentaje de inhibición de dos fungicidas comerciales a dos concentraciones diferentes contra <i>F. solani</i>	40
Cuadro 6. Porcentajes de inhibición de <i>F. solani</i> confrontada a 45 cepas fúngicas saprófitas ...	44
Cuadro 7. Identificación morfológica de cepas con mayor actividad antagónica	50

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Medición del crecimiento de las cepas fúngicas utilizando el programa ImageJ	33
Figura 2. Cepas reactivadas a los 7 días de crecimiento a 25 °C con su respectiva clave de identificación	35
Figura 3. Bioensayos duales de 35 cepas microscópicas frente a <i>F. solani</i>	40
Figura 4. Media y desviación estándar del crecimiento de <i>F. solani</i> en medio PDA a los 7 días de cultivo confrontado a las 45 cepas saprófitas en los bioensayos duales	42
Figura 5. Inhibición de crecimiento del fitopatógeno <i>Fusarium solani</i> confrontado a las cepas saprófitas con registro M3C6, 75 y 95.....	45
Figura 6. Inhibición de crecimiento del fitopatógeno <i>Fusarium solani</i> confrontado a las cepas saprófitas con registro 69, 001 y 110.....	46
Figura 7. Inhibición de crecimiento del fitopatógeno <i>Fusarium solani</i> confrontado a las cepas saprófitas con registro 14,57 y 116.....	47
Figura 8. Inhibición de crecimiento del fitopatógeno <i>Fusarium solani</i> confrontado a las cepas saprófitas con registro 130.....	48
Figura 9. Gráfico de dispersión del % de inhibición del crecimiento de <i>F. solani</i> confrontado a las cepas fúngicas saprófitas y el fungicida comercial	51
Figura 10. Prueba de normalidad Shapiro-Wilk en el programa R studio	52
Figura 11. Hipótesis planteada a evaluar con la prueba t de student de una cola	52
Figura 12. Prueba t de student de una cola realizada en el programa R studio	52
Figura 13. Prueba de comparación de medias de dos grupos independientes	53

RESUMEN

Introducción: Se estima que en México existen al menos 200, 000 especies fúngicas, mayormente micromicetos. A nivel industrial, se han utilizado hongos para mejorar y/o facilitar el desarrollo de nuevos productos, demostrando que los hongos pueden aportar beneficios para el desarrollo humano. Sin embargo, también existen cepas fúngicas consideradas como fitopatógenas, que han demostrado tener repercusiones negativas importantes, como la pérdida de cultivos con su consecuente repercusión económica a nivel mundial. Uno de los patógenos de mayor interés es la especie *Fusarium solani*, es una especie virulenta y actualmente, ninguno de los tratamientos antimicóticos comerciales ha demostrado contrarrestarlo eficientemente. En los últimos años se han propuesto nuevas fuentes de antimicrobianos y antifúngicos, entre ellos algunas especies fúngicas que mostraron actividad antagónica ante agentes micóticos infecciosos. **Objetivo:** Evaluar la capacidad antifúngica de 45 cepas de hongos saprófitos aislados el Estado de México contra el fitopatógeno *F. solani*. **Métodos:** Se reactivaron 45 cepas saprófitas y el hongo *F. solani* ATCC® 32793™ en medio PDA, todas las cepas previamente aisladas. Todos los cultivos se mantuvieron en incubación por 7 días a 25 °C. La confrontación entre las cepas a evaluar y el fitopatógeno se realizó mediante bioensayo de cultivo dual. Como control negativo se utilizó un cultivo exclusivo del patógeno y como controles positivos se utilizaron los fungicidas Captan ultra 50 WP® o Cercobin M®. Todos los bioensayos se realizaron por cuadruplicado. **Resultados:** Un total de 44 cepas inhibieron a *F. solani* en un rango de 4.5 a 76. 26%. Las cepas fúngicas que presentaron mayores porcentajes de inhibición fueron M3C6 (>70%,) y 75 (>70%) seguido de las cepas 95, 69, 001, 110 y 14 (>60%) y las cepas 57, 116 y 130 (>50%). De acuerdo con la clasificación taxonómica basada en las guías de identificación de Barnett y Hunter y Watanabe, se identificaron entre las cepas activas a 3 cepas: *Trichoderma harzianum* (57), *Trichoderma pseudokoningi* (95) y *Nigrospora* sp. (116). Los porcentajes de inhibición del crecimiento de *F. solani* confrontado con los antifúngicos comerciales a dos concentraciones (dosis alta y dosis baja) fueron: en el caso de Captan ultra 50 WP® 1.45% y 1.73% y de Cercobin M®, 0.57% y 0.78%, mientras que los hongos saprófitos que mostraron porcentajes más altos presentaron rangos de inhibición entre 76%-54% de inhibición. Las cepas fúngicas aisladas de suelo del Estado de México tienen actividad antifúngica contra el fitopatógeno *F. solani* y pueden considerarse como una alternativa para el control biológico de *Fusarium solani* y contribuir al desarrollo de fungicidas y/o antimicóticos de origen biotecnológico.

I. INTRODUCCIÓN

Una de las categorías taxonómicas con mayor número de especies después de los insectos, son los hongos. De acuerdo con la base de datos *Species Fungorum* (<http://www.speciesfungorum.org>), actualmente se han descrito al menos 150,600 especies. Sin embargo, se estima que existen aproximadamente de 2 a 11 millones variedades de hongos. Las especies fúngicas son de suma importancia dentro de los ecosistemas y las relaciones intraespecíficas ya que pueden fungir como descomponedores, mutualistas y patógenos (Wu, et al., 2019; Phukhamsakda, et al., 2022).

El impacto que tienen los hongos en la salud humana se ha subestimado, durante 1950 las infecciones fúngicas humanas no eran tan conocidas hasta la llegada de los antibióticos. No obstante, en la actualidad sabemos que los patógenos de origen micótico son responsables de enfermar a millones de personas en todo el mundo, además de provocar la muerte de más de 1.5 millones de seres humanos al año. Por otro lado, las infecciones fúngicas no afectan únicamente a los humanos. Se han reportado alrededor de 8, 000 especies micóticas asociadas a enfermedades en plantas. Muchas de estas enfermedades son alarmantes para la seguridad alimentaria ya que afectan a los cultivos más importantes a nivel mundial (Fisher, et al., 2020).

El género *Fusarium* está conformado por especies que atañen tanto a cultivos agrícolas como al ser humano (Hof, 2020). *Fusarium solani*, es un hongo toxigénico oportunista que produce micotoxinas peligrosas como los tricotecenos y el ácido fusárico (Rashad, Abdel, & Darwish, 2022). Algunos estudios consideran a esta, la especie más virulenta, resistente y con mayor mortalidad, comparada con otras especies del mismo género (Olivares, Luppi, & Díaz, 2018). Las infecciones humanas causadas por *F. solani*, pueden ser superficiales como queratitis u onicomycosis, localizadas como endoftalmitis o sinusitis y diseminadas (Monzón & Rodríguez, 2000). En cuanto al sector agrícola, se ha reportado desde el año 1967 que *F. solani* es uno de los principales responsables de la marchitez en diferentes cultivos de Chile en México (Villa, et al., 2015).

El principal tratamiento utilizado para infecciones humanas por *F. solani* es la anfotericina B deoxicolato, aunque desafortunadamente ha demostrado resultados muy limitados (Olivares, Luppi, & Díaz, 2018). Para infecciones agrícolas se recomienda el uso de plaguicidas de amplio espectro. Desafortunadamente, como se mencionó anteriormente *F. solani* es una de las cepas más resistentes de su género (DECCO Naturally Postharvest, 2020). La resistencia de agentes

patógenos es un problema considerado como una de las amenazas mundiales más importantes del siglo XXI. La Resistencia a Antimicrobianos (RAM) cuenta con diferentes mecanismos de propagación relacionados con genes de resistencia móvil, dichos genes pueden permanecer en cualquier hábitat. Algunos estudios han reportado este tipo de genes en aguas residuales de industrias textiles e incluso en la orina de animales (Smoglica, et al., 2022).

Con el paso de los años la prevalencia de infecciones de origen micótico ha crecido de manera exponencial, alarmando a las organizaciones más importantes como la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO por sus siglas en inglés), ya que muchas de las patogenias no se han comprendido en su totalidad y la recurrencia de estas infecciones aumenta. Se cree que este aumento en la recurrencia está ligado a la resistencia antifúngica que es transmitida y adquirida evolutivamente (Phukhamsakda, et al., 2022).

En los últimos años se han desarrollado investigaciones para solucionar esta problemática. Con ayuda de la ciencia y específicamente de la biotecnología, el ser humano ha buscado nuevas fuentes de antimicrobianos en plantas, bacterias y hongos. Con el objetivo de desarrollar nuevos tratamientos para estas infecciones ayudando al control y prevención de la RAM. Ya que México es catalogado como un país megadiverso de especies, tenemos una extensa variedad de posibles antifúngicos (CNDH, 2019; CONABIO, 2021).

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Infecciones micóticas

A lo largo de la historia se ha reconocido la presencia e importancia de microorganismos en todo tipo de ambientes. Actualmente, sabemos de la presencia de microorganismos en el suelo, cuerpos de agua e incluso en el microbiota intestinal, los cuales han demostrado ser útiles para el desarrollo de productos de primera necesidad como alimentos fermentados, medicamentos, etc. Desafortunadamente, no todos los microorganismos con los que cohabitamos este planeta son benéficos (ArgenBio, 2022).

La prevalencia de enfermedades, la falta de información y tratamientos despertó la curiosidad en nuestros antepasados sobre el origen de una enfermedad y fue así como probaron que las infecciones están estrechamente relacionadas con la presencia de agentes externos, que al entrar en contacto con el hospedero provocan afecciones en el mismo, dichos agentes son denominados patógenos (Van Doorn, 2017; Baron, 1996; Muñoz, Cerrada, & Fernández, 2013). En 1882, el científico alemán Robert Koch sustentó esta idea estableciendo la relación patógeno-hospedero y desarrollando tres postulados, los cuales permiten demostrar cuando un microorganismo es causante de infecciones (Robledo, 2016), a partir de ese momento se inició la búsqueda de sustancias que jueguen un papel antagónico frente a dichos microorganismos, dándoles el término antimicrobianos (Barberán, 2013).

Los hongos son agentes causales tanto de enfermedades invasivas potencialmente mortales en humanos, así como de infecciones agrícolas con una gran importancia económica, debido a las pérdidas que generan. Como todos los microorganismos, estos hongos deben buscar con éxito micronutrientes esenciales como el zinc para poder proliferar, los cuales pueden encontrar en seres humanos, plantas e incluso animales (Liu, et al., 2017; Perlin, Rutemaa, & Alastruey, 2017; Wilson, 2021).

2.1.1. Infecciones micóticas agrícolas.

El sector agrícola es muy importante en el ámbito alimentario y económico de nuestro país. De todas las infecciones agrícolas, el 70-80% son causadas por hongos quienes afectan en el crecimiento y rendimiento de los cultivos, lo que se ha visto reflejado en la pérdida de

aproximadamente 10-15% de los cultivos infectados (Peng, et al., 2021). Se estima que al menos 8, 000 especies de hongos son causantes de 100, 000 enfermedades en las plantas (Shuping & Eloff, 2017). De acuerdo con las estadísticas de la cosecha mundial reportadas entre 2009-2010 por la FAO, sugieren que los hongos afectan a cinco de los cultivos más importantes en el mundo, es decir: arroz, trigo, maíz, papa y soya (Almeida, Rodrigues, & Coelho, 2019).

Dentro de los principales géneros fitopatógenos se encuentran: *Fusarium*, *Giberella*, *Rhizoctonia*, *Verticillium*, *Alternaria* y *Botrytis*, entre otros (Álvarez, Serrano, & Otero, 2021). El Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA), menciona algunas de las especies fúngicas que han impactado a nivel histórico, económico y/o científico en el desarrollo de la fitopatología mundial como: *Phytophthora infestans* causante del tizón tardío en la papa, *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* causante de la roya en el tallo del trigo y *Fusarium oxyspoum* f. sp. *cubense* responsable de la marchitez del plátano (SENASICA, 2019).

Específicamente en nuestro país, algunos de los fitopatógenos que afectan a los cultivos más representativos de la alimentación mexicana tales como chile, ajo, papa, maíz, etc. son: *Phytophthora infestans*, *Alternaria solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Rhizoctonia* spp; *Fusarium* spp; *Phytophthora capsici*, *Verticillium* spp; *Pythium* spp; *Oidiopsis* spp; *Aspergillus* spp; entre otros (Velásquez, Reveles, & Reveles, 2017).

Un estudio realizado en México durante el año 2014, por Manzo y colaboradores reportó que la industria del plátano cosechó una superficie de 74, 585 hectáreas, de donde se obtuvo un total de 2.15 millones de toneladas del producto, con un valor de aproximadamente \$6, 305, 790.00 pesos. La industria bananera alimenta a más de 70, 000 familias originarias de tres regiones del país: Golfo, Pacífico Centro y Pacífico Sur. Las principales infecciones fúngicas que afectan al cultivo de plátano son: mancha foliar (*Mycosphaerella eumusae*), Mal de Panamá (*Fusarium oxysporum* spp.), moho del plátano (*Rolstonia solanacearum*), marchitez bacteriana del plátano (*Xanthomonas campestris*), estas enfermedades en los cultivos de plátano pueden ocasionar un impacto negativo en la industria, afectando a millones de mexicanos (Manzo, Orozco, Martínez, Garrido, & Canto, 2014).

2.1.2. Infecciones micóticas por *Fusarium solani*.

El género *Fusarium* cuenta con alrededor de 100 especies, de las cuales la mayor parte han sido reportadas como patógenos humanos (*F. solani*, *F. oxysporum* y con menor frecuencia *F. verticillioides*, *F. proliferatum*, *F. dimerum* y *F. sacchari*); Al ser uno de los géneros conformado por especies con cierta similitud entre ellas, es difícil su clasificación, por lo cual muchas veces no se menciona la especie (Gaviria, Giraldo, Santa, & Cano, 2018). En su mayoría las especies que conforman este género afectan tanto cultivos agrícolas como al ser humano (Hof, 2020). *Fusarium solani*, es la especie más abundante del género *Fusarium*, es catalogado como un hongo toxigénico oportunista que produce micotoxinas peligrosas como los tricotecenos y el ácido fusárico que afectan cultivos, la salud animal y humana especialmente en pacientes inmunocomprometidos (Rashad, Abdel, & Darwish, 2022; Serrano & Cardona, 2015). Dicha especie es considerada como la más virulenta, resistente y con mayor mortalidad del género, comparado con otras como *Fusarium verticillioides*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium moniliforme*, etc. (Olivares, Luppi, & Díaz, 2018).

Las infecciones en plantas causadas por estos hongos incluyen la marchitez vascular y el tizón, las cuales causan manchas, marchitamiento, pudrición y muerte en hojas, flores, frutos, tallos, granos, o en toda la planta. El impacto de este agente infeccioso ha llegado a afectar del 50% al 80% del producto en cultivos de frijol, piña y trigo respectivamente. En nuestro país, la SENASICA evidenció que estos hongos han contaminado de un 5-76% del maíz y de 40-100% en cultivos de agave (Rodríguez, González, & Montoya, 2022).

2.2. Antimicrobianos

Cuando hablamos de antimicrobianos, es importante mencionar a científicos como Pasteur, Ehrlich, Domagk, Fleming, Florey y Chain, personajes que fungieron como precursores en el desarrollo y la investigación de dichas sustancias, dándonos las bases de una de las estrategias más eficaces para el control y tratamiento de enfermedades infecciosas (Fernández, 2015).

Los antimicrobianos se definen como sustancias de origen natural, biosintético o sintético con capacidad de inhibir o detener el crecimiento de microorganismos causantes de infecciones (patógenos). Estas sustancias pueden ser empleadas en el desarrollo de medicamentos dirigidos a

la prevención y/o tratamiento de infecciones que afectan a todos los seres vivos ya sean animales, plantas y/o humanos, siempre y cuando no afecten la integridad del hospedero (Burnett, 2011; OMS, 2020; Paredes & Roca, 2004). Debido a esto, es importante conocer todos los factores posibles desde el ámbito microbiológico de la infección y químico del tratamiento a utilizar, ya que un mal tratamiento puede traer graves consecuencias al hospedero (Lilley, Collins, & Snyder, 2020).

Los antimicrobianos pueden ser catalogados de acuerdo con:

- **El agente causal de la enfermedad:** Es decir, el agente biológico responsable de las anomalías en el hospedero. Los microorganismos patógenos responsables de las enfermedades son: bacterias, virus, hongos y parásitos. De acuerdo con esto reciben los nombres de antibiótico, antivírico, antifúngico y antiparasitario, respectivamente (OMS, 2020).
- **Método de acción:** vía de acción por la cual desestabiliza al patógeno inhibiendo su desarrollo, por ejemplo: inhibición de síntesis de pared celular, alteración de función de la membrana celular, inhibición de la síntesis proteica e inhibición de la síntesis o función de ácidos nucleicos (Omareda, 2018).

2.2.1. Antifúngicos

Dentro de cada periodo histórico, la sociedad construyó su forma de pensar y actuar ante las distintas enfermedades. En la búsqueda de tratamientos, los primeros hombres utilizaron los elementos que conformaban su entorno como agua, hongos, hojas, hasta su propia saliva. Aplicando el método de prueba y error se logró la identificación de algunas plantas con propiedades curativas, dando origen a la medicina herbolaria, la cual se define como la aplicación de conocimientos botánicos para el tratamiento terapéutico, curativo o preventivo de enfermedades (Lima, Guzmán, López, & Satchwell, 2019). Sin embargo, el desarrollo del ser humano trajo consigo conocimientos que ampliaron las alternativas terapéuticas.

En los últimos años se ha observado un aumento en la incidencia de infecciones de origen micótico y a diferencia de los antibióticos, la existencia de antifúngicos es reducida, tal es el caso de la

anfotericina B, el cual fue el único tratamiento para micosis invasiva durante un largo tiempo (Robbins, Wright, & Cowen, 2016).

Actualmente, en el mercado farmacéutico podemos encontrar tratamientos dirigidos a micosis sistémicas, como: anfotericina B (y sus formulaciones lipídicas), derivados azólicos (fuconazol, Isavuconazol, itraconazol, posaconazol y voriconazol), equinocandinas (anidulafungina, caspofungina y micafungina) y flucitosina. Aunque la anfotericina B ha sido el pilar del tratamiento antifúngico, se ha demostrado que tiene repercusiones en el paciente, debido a que es considerado relativamente tóxico, por lo cual se han desarrollado nuevas formulaciones como triazoles y equinocandinas menos tóxicos (Revankar, 2021).

En el sector agrícola, la cantidad de fungicidas utilizados a nivel mundial es imprecisa, debido a la falta de informes. Sin embargo, en 2014, los 43 países que informaron a la FAO sobre su uso de antimicóticos ayudaron a determinar que los fungicidas elaborados a partir de compuestos inorgánicos, es la más utilizada (43%), seguido de los ditiocarbamatos (17%) y los derivados de azoles (11%).

De los fungicidas presentes en el mercado, exclusivamente siete de estos se usan de manera rutinaria para el tratamiento de infecciones fúngicas en humanos y animales. Estos son: azoles, macrólidos de polieno, flucitosina, equinocandinas y de manera esporádica griseofulvina, alilaminas y yoduros. Por el contrario, algunos de estos tratamientos humanos y animales no son utilizados en cultivos (Miller, Ferreira, & LeJeune, 2022).

2.3. Resistencia a Antimicrobianos.

La evolución de especies patógenas y el uso excesivo de antimicrobianos durante los últimos 80 años ha dado pie a una de las problemáticas más importantes a nivel mundial, la RAM. Existen tratamientos para infecciones humanas y agrícolas, desafortunadamente, en ambos casos la RAM se ha propagado rápidamente alrededor del mundo, debido a la capacidad evolutiva de los microorganismos y a la presencia de los genes de resistencia a antimicrobianos en el ambiente, lo cual nos hace pensar que estos mecanismos de resistencia seguirán evolucionando. Pero la RAM, no es la única problemática que nos han originado los tratamientos de origen sintético, al mismo tiempo dichos tratamientos han afectado la salud del ser humano y generado contaminación

ambiental (Akhtari, Davari, Habibi, Ebadollahi, & Feizpour, 2022). Consecuentemente, la búsqueda de nuevas fuentes antimicrobianas que eviten el desarrollo de genes de resistencia y que cuenten con una baja o nula propagación y persistencia de genes de resistencia, serían una posible solución y un precedente importante en el diseño de nuevos objetivos terapéuticos (Christaki, Marcou, & Tofarides, 2020).

2.3.1. Resistencia a antifúngicos.

La resistencia antifúngica hace referencia a la disminución de la efectividad de los tratamientos antimicóticos debido a que el agente infeccioso ya no se ve afectado por el medicamento. Las alternativas antimicóticas humanas son muy reducidas, por esta razón, la aparición de resistencia a antifúngicos es un tema de mucho cuidado ya que limita las opciones para controlar las patologías de origen fúngico (Centers for Disease Control and Prevention, 2022).

La resistencia a fungicidas agrícolas ha sido un proceso complejo donde el sistema de cultivo, el patógeno, el fungicida, el clima y, lo que es más importante, la capacidad y la voluntad de los agricultores para implementar estrategias de manejo de la resistencia juegan un papel de suma importancia, ya que como se ha mencionado, la resistencia a antifúngicos en el sector agrícola tendrá repercusiones en la economía y la alimentación a nivel mundial. Por esta razón se han creado organizaciones como el Comité de Acción de Resistencia a Fungicidas (FRAC por sus siglas en inglés), el cual tiene como propósito proporcionar pautas para el manejo de la resistencia a los fungicidas y prolongar la eficacia de los fungicidas comerciales en riesgo de desarrollo de resistencia (Crop Life International, 2017).

Aún con la existencia de organizaciones como FRAC, es sumamente necesaria la identificación de nuevos antifúngicos para el desarrollo de nuevos tratamientos que amplíen las opciones de control y prevención de infecciones de origen micótico.

2.4. Nuevas fuentes de antifúngicos

Para el desarrollo de terapias antimicóticas, las investigaciones actuales se enfocan en la búsqueda de nuevas moléculas con actividad de amplio espectro, mayor especificidad y diferentes

mecanismos de acción frente a patógenos fúngicos (Ciociola, et al., 2016). Como podemos observar en el Cuadro 1, se enlistan varias investigaciones realizadas en diferentes partes del mundo, reportadas en los últimos años, donde se muestra una gran variedad de fuentes antimicrobianas como plantas o extractos de plantas, hongos, bacterias, actinobacterias, productos del metabolismo, entre otros (Cordova-Callo, 2013).

Cuadro 1. Sustancias con capacidad antifúngica

Año	País	Sustancia antifúngica	Efectos reportados	Referencia
2022	China	Triterpenoides de las hojas de <i>Citrullus colocynthis</i>	Inhibición de <i>Rhizoctonia solani</i>	(Ahmed, et al., 2022)
2021	Brasil	Saponinas de <i>Chamaecostus cuspidatus</i>	Las saponinas de <i>Chamaecostus cuspidatus</i> funcionan como antifúngicos contra <i>Candida</i> spp. y <i>Trichophyton</i> spp.	(Cota, et al., 2021)
2020	Francia	Aceite esencial de <i>Ammoides verticillata</i>	El aceite esencial mostró inhibición antifúngica frente a las cepas de <i>Alternaria alternata</i> y <i>Fusarium solani</i> .	(Senouci, Benyelles, Dib, Costa, & Muselli, 2020)
2019	China	Tres nuevos metabolitos de fenazina del caldo de cultivo de una cepa de <i>Streptomyces YIM PH20095</i>	Actividad antifúngica contra <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>F. solani</i> , <i>Plectosphaerella cucumerina</i> , <i>Alternaria panax</i> y <i>Phoma herbarum</i> a diferentes concentraciones.	(Chen, et al., 2019)
2019	Japón	Ou-gon (extracto de raíz de <i>Scutellaria baicalensis Georgi</i>)	Apoptosis de los hongos patógenos: <i>Trichophyton rubrum</i> , <i>Trichophyton mentagrophytes</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> y <i>Candida albicans</i> .	(Da, et al., 2019)
2017	Arabia Saudita	Ciclodepsipéptido, llamado fusaripéptido A del hongo edófito <i>Fusarium</i> spp.	Actividad antifúngica frente a <i>C. albicans</i> , <i>Candida glabrata</i> , <i>Candida krusei</i> y <i>A. fumigatus</i> .	(Ibrahim, et al., 2017)
2017	Italia	<i>Paenibacillus pasadenensi</i> cepa R16	Reducción del crecimiento de <i>Botrytis cinérea</i> .	(Passera, et al., 2017)
2016	China	Alcaloides de las partes aéreas de <i>Piper flaviflorum</i> y <i>Piper sarmentosum</i>	Los compuestos 6 al 15 mostraron actividades selectivas contra <i>Cryptococcus neoformans</i> .	(Shi, et al., 2016)
2016	Polonia	Aceites esenciales de <i>Melaleuca alternifolia Cheel</i> , <i>Mentha piperita</i> , <i>Thymus vulgaris</i> y <i>Syzygium aromaticum</i>	La alta actividad antifúngica de los AE examinados, previenen el desarrollo de cepas de <i>Candida</i> spp. de diferente origen.	(Rajkowska, a Kunicka-Styczynska, & Maroszynska, 2016)
2016	China	Ramnolípidos producidos por <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Reducción en el crecimiento de <i>Mucor circinelloides</i> tanto en forma de levadura como en forma filamentosa.	(Sha & Meng, 2016)
2016	Sudáfrica	Extracto de hojas de <i>Bucida buceras</i>	Inhibió el crecimiento de <i>Penicillium expansum</i> , <i>Penicillium janthinellum</i> , <i>Trichoderma harzianum</i> y <i>F. oxysporum</i> .	(Mahlo, Chauke, McGaw, & Eloff, 2016)
2015	China	Dos componentes bioactivos de <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> (ZJU-2011)	Concentración inhibitoria mínima de clorotetaína contra seis patógenos fúngicos (<i>Candida</i> spp. y <i>A. niger</i>) comunes estaba en el rango de 1,8 a 7,8 mg/mL.	(Wang, Wu, Chen, Lin, & Yang, 2015)

2015	Brasil	Aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> .	El aceite esencial actúa contra <i>Fusarium verticillioides</i> rompiendo la pared celular y provocando la pérdida de componentes celulares, inhibiendo posteriormente la producción de fumonisinas y ergosterol.	(da Silva, et al., 2015)
2014	Chile	Tres meroterpenos de las hojas de culen (<i>Psoralea glandulosa</i>).	El exudado resinoso inhibió el crecimiento micelial de los patógenos (<i>Botrytis cinerea</i> y <i>Phytophthora cinnamomi</i>).	(Madrid, Díaz, González, Catalán, & Espinoza, 2014)
2014	India	Quitinasa de un <i>Citrobacter freundii</i> haritD11 recién aislado	Actividad antifúngica contra hongos patógenos (<i>Aspergillus flavus</i> y <i>A. niger</i>).	(Meruvu & Donthireddy, 2014)
2013	Egipto	Corales blandos del Mar Rojo identificados como <i>Sarcophyton glaucum</i>	Las cepas de <i>Bacillus subtilis</i> HC7 y HC17 afectaron a <i>C. albicans</i> .	(ElAhwany, Ghozlan, ElSharif, & Sabry, 2013)
2013	Australia	Defensinas de <i>Nicotiana glauca</i>	Permeabilización de membrana plasmática y granulación del citoplasma en tubos germinales de <i>Puccinia</i> spp.	(Dracatos, et al., 2013)
2013	Polonia	Extracto de metanol de <i>Ligusticum mutellina</i> .	Disminución del radio de crecimiento de <i>Candida</i> spp.	(Sieniawska, et al., 2013)
2012	Venezuela	Ajoeno (compuesto organosulfurado derivado del ajo)	Actividad inhibitoria in vitro sobre <i>Histoplasma capsulatum</i> , en fase micelial.	(Torres & Romero, 2012)
2012	Francia	Aceites esenciales de <i>Pelargonium graveolens</i> y <i>Artemisa arborescens</i>	Disminución del radio de crecimiento de <i>R. solani</i> .	(Bouzenna & Krichen, 2012)

2.5. Evaluación de actividad antagónica

El antagonismo microbiano es una medida de control biológico que se puede definir como la capacidad de inhibición, deterioro o muerte de alguna especie de microorganismos ante otra (Pérez, González, & Muñoz, 2014). Los microorganismos antagonistas deben tener una gran capacidad de colonización, además de una mayor habilidad que el patógeno para adquirir los nutrientes y la capacidad de desarrollarse ante diferentes condiciones ambientales incluyendo refrigeración y almacenamiento controlado (Maury, 2018).

2.5.1. Bioensayo dual

El ensayo dual, también conocida como la prueba de confrontación dual, es una prueba donde se enfrentan dos microorganismos de interés. El organismo con mayor capacidad antagónica será aquel que aproveche los nutrientes para tener un crecimiento mayor, inhibiendo así el desarrollo del otro (Chavarría & Carmona, 2016). Tras una exhaustiva revisión bibliográfica se observó una gran cantidad de investigaciones, algunas enlistadas en el Cuadro 2, en las cuales el objetivo en común era determinar la capacidad de inhibición de algunos microorganismos ante otros.

Para poder considerar a microorganismos con capacidad antifúngica como tratamiento o parte del tratamiento de infecciones, es importante que dicho microorganismo tenga estabilidad genética, sea efectivo a bajas concentraciones, no tenga una gran exigencia nutricional, capacidad para sobrevivir ante condiciones ambientales adversas y no patogénico sobre el hospedero. Hasta ahora, los conocimientos sobre los mecanismos de acción involucran: la antibiosis, producción de enzimas líticas, parasitismo y competencia por nutrientes (Pérez, González, & Muñoz, 2014).

Cuadro 2. Investigaciones realizadas a partir de bioensayo de cultivo dual

Año	Objetivo	Referencia
2022	Identificar y examinar las capacidades antagónicas de hongos endófitos contra dos patógenos fúngicos y bacterianos.	(Lu, et al., 2022)
2022	Evaluar cepas que actúen como biocontrol ante <i>Sclerotium rolfsii</i> .	(Liu, et al., 2022)
2022	Determinar la capacidad antagónica contra hongos fitopatógenos	(González, et al., 2022)
2021	Verificar la actividad antagónica de una proteína de <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> contra <i>F. solani</i> .	(Wang, et al., 2021)
2020	Identificación de aislados bacterianos antagónicos de <i>Monilinia. fructigena</i> .	(Lahlali, et al., 2020)
2020	Identificar cepas de <i>Pseudomonas</i> endófitas de la vid contra <i>Botryosphaeria</i> .	(Niem, Billones-Baaijens, Stodart, & Savocchia, 2020)
2020	Evaluar la interacción entre <i>F. oxysporum</i> y <i>Rhizobium etli</i> in vitro.	(Martinuz, 2020)
2018	Determinar la supresión in vitro entre el laurel y <i>Raffaelea lauricola</i> .	(Pérez, Ploetz, & Konkol, 2018)
2018	Los endófitos reportados pueden antagonizar patógenos fúngicos y oomicetos.	(Khalaf & Raizada, 2018)
2017	Evaluar la actividad antifúngica de <i>Paenibacillus pasadensis</i> contra <i>B. cinerea</i> , <i>F. verticilloides</i> y <i>Phomopsis viticola</i> .	(Passera, et al., 2017)
2017	Probar la actividad antagónica de <i>Trichoderma</i> spp contra <i>F. oxysporum</i> y <i>A. altermala</i> .	(Zehra, Dubey, Meena, &

2017	Encontrar endófitos de trigo como agentes de control biológico contra <i>Fusarium</i> spp.	Upadhyay, 2017) (Comby, et al., 2017)
2016	Detección del antagonismo de estreptomicetos contra patógenos fúngicos.	(Kunova, et al., 2016)
2016	Evaluar la actividad antagónica de <i>Bacillus</i> spp. y <i>Trichoderma asperellium</i> contra patógenos fúngicos.	(Rios, et al., 2016)
2015	Evaluar la capacidad de reducir la infección por <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> .	(Rodríguez, Rothen, Lo, Cabrera, & Godeas, 2015)
2015	Investigar el potencial de los antagonistas fúngicos para control de los patógenos <i>F. graminearum</i> y <i>F. crookwellense</i> .	(Schöneberg, Musa, Voegele, & Vogelgsang, 2015)
2014	Evaluar la actividad antifúngica de los metabolitos de <i>Phomopsis</i> spp. y <i>Alternaria</i> spp. contra patógenos fúngicos.	(Li, Wang, Luo, Ding, & Cox, 2014)
2013	Evaluar la actividad antagónica de <i>Jatropha curcas</i> contra <i>S. sclerotiorum</i> , <i>F. oxysporum</i> y <i>R. solani</i> .	(Kumar & Kaushik, 2013)
2013	Determinar el efecto antagónico de <i>Bacillus</i> spp. frente a dos hongos fitopatógenos.	(Tejera, Heydrich, & Rojas, 2012)
2012	Estimar el porcentaje de inhibición de <i>Fusarium</i> spp. por cepas antagonistas.	(Reyes, Cristóbal, Ruiz, & Tun, 2012)

2.5.2. Hongos con capacidad antifúngica

Uno de los Reinos más diversos es el Fungi, ya que cuenta con un extenso número de especies que podemos encontrar en casi todo tipo de ecosistemas. Se estima que existen entre 500, 000 y 9.9 millones de especies. Hasta 2011 se habían reportado 60, 000 especies ya identificadas de hongos, lo que significa que hasta ahora somos conscientes de la existencia del 4-10.5% del total de hongos presentes en todo el mundo (Aguirre, Ulloa, Aguilar, Cifuentes, & Valenzuela, 2014; Calcáneo & Cueva, 2021).

Ramas de la ciencia como la biotecnología han propiciado la búsqueda de microorganismos que ayuden a resolver problemáticas importantes de nuestro día a día. Un claro ejemplo de esto es el descubrimiento de aplicaciones para diferentes cepas fúngicas, por ejemplo, los hongos han sido utilizados en la producción de alimentos, saborizantes e incluso aromatizantes de grado alimentario. Además de productos bioquímicos que presentan propiedades medicinales y nutraceuticas. De igual forma los hongos se han incorporado en la mejora de procesos industriales como el uso de enzimas para la disposición de compuestos (clorados, fenólicos, hidrocarburos, etc.), implementación de catálisis enzimática de oxidorreductasas en lugar de métodos electroquímicos que impactan de manera negativa al medio ambiente (Curvetto, 2004).

Tomando en cuenta ambas premisas podemos asegurar que alguna de las especies que conforman un Reino tan variado como el Fungi, existen cepas con capacidad antifúngica que aún no han sido reportadas y que pueden ser utilizadas para la obtención de nuevos tratamientos antimicóticos. Prueba de ello, en los últimos años se han reportado hongos que juegan un papel antagónico frente a patógenos fúngicos, algunos de ellos pueden ser observados en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Especies fúngicas reportadas con capacidad antimicótica.

Año	País	Especie fúngica con actividad antimicótica	Patógeno inhibido	Referencia
2022	Arabia Saudita	<i>Trichoderma</i> spp.	<i>Alternaria solani</i>	(Imran, Abo-Elyousr, Mousa, & Saad, 2022)
2022	Túnez	<i>Penicillium</i> spp. y <i>Gliocladium</i> spp.	<i>Colletotrichum coccodes</i>	(Hassine, Aydi-Ben-Abdallah, Jabnoun-Khireddine, & Daami-Remadi, 2022)
2022	Egipto	<i>Trichoderma harzianum</i>	<i>S. sclerotiorum</i> y <i>S. rolfsii</i>	(El-Ashmony, et al., 2022)
2022	Qatar	<i>Cyberlindnera jadinii</i> 273	<i>Aspergillus parasiticus</i> , <i>Aspergillus niger</i> y <i>Penicillium verrucosum</i>	(Alkuwari, Hassan, Zeidan, Al-Thani, & Jaoua, 2022)
2022	Túnez	<i>Aspergillus</i> spp. y <i>Trichoderma harzianum</i>	<i>F. oxysporum</i> , <i>F. solani</i> , <i>Pythium ultimum</i> y <i>Phytophthora citrophthora</i>	(Mannai & Boughalleb, 2022)
2022	Tailandia	<i>Aspergillus tubingensis</i>	<i>F. solani</i> y <i>A. niger</i>	(Mohamed, et al., 2022)
2022	Arabia Saudita	<i>Trichoderma</i> spp	<i>Penicillium implicatum</i> , <i>A. alternata</i> , <i>A. niger</i> , <i>F. oxysporum</i> , y <i>Fusarium chlamyosporum</i>	(Hassan, et al., 2022)
2022	Egipto	<i>Aspergillus terreus</i>	<i>Rhizopus oryzae</i> , <i>Mucor racemosus</i> , y <i>Syncephalastrum racemosum</i>	(Hashem, Shehabeldine, Abdelaziz, Amin, & Sharaf, 2022)
2022	Tailandia	<i>Emericella stellatus</i> y <i>Neosartorya siamensis</i>	<i>Alternaria padwickii</i> , <i>Bipolaris oryzae</i> , <i>Fusarium semitectum</i> , <i>Pyricularia oryzae</i> y <i>Rhizoctonia solani</i>	(Chalearmsrimuang, Suasa-ard, Jantasorn, & Dethoup, 2022)
2020	Australia	<i>Epichloë</i> spp.	<i>Ceratobasidium</i> sp., <i>Dreschlera</i> sp., y <i>Fusarium</i> sp.,	(Fernando, et al., 2020)
2020	Cuba	<i>Trichoderma</i> spp	<i>Fusarium</i> spp.	(Urguelles, Abreu, Abreu, Díaz, & Fernandez, 2020)
2019	Paraguay	<i>Trichoderma arundinaceum</i> , <i>T. brevicompactum</i> y <i>T. harzianum</i>	<i>Macrophomina phaseolina</i>	(Cubilla, Ruíz, Romero, Flores, & Barúa, 2019)

2018	Ecuador	<i>Usnea laevis</i>	<i>Rhizopus stolonifer</i> , <i>Aspergillus</i> spp. y <i>Penicillium</i> spp.	(Jaramillo, 2018)
2016	México	<i>Trichoderma</i> spp.	<i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Botrytis cinerea</i> , <i>Penicillium crustosum</i> , <i>Aspergillus nidulans</i> y <i>Alternaria alternata</i>	(Rios, et al., 2016)
2015	China	<i>Aspergillus</i> sp y <i>Penicillium</i> sp.	<i>C. albicans</i>	(Xu, et al., 2015)
2015	Suiza	<i>Trichoderma</i> spp.	<i>F. graminearum</i> y <i>F. crookwellense</i>	(Schöneberg, Musa, Voegelé, & Vogelgsang, 2015)
2015	Estados Unidos	<i>Biscogniauxia mediterránea</i>	<i>Phomopsis obscurans</i>	(Silva, et al., 2015)
2015	Argentina	<i>Clonostachys rosea</i> BAFC1646	<i>S. sclerotiorum</i>	(Rodríguez, Rothen, Lo, Cabrera, & Godeas, 2015)
2014	China	<i>Phomopsis</i> sp. K38 y <i>Alternaria</i> sp. E33	<i>Gaeumannomyces graminis</i> , <i>Rhizoctonia cerealis</i> , <i>Helminthosporium sativum</i> y <i>Fusarium graminearum</i>	(Li, Wang, Luo, Ding, & Cox, 2014)
2012	China	<i>Ulocladium</i> sp.	<i>Candida albicans</i>	(Wang, et al., 2012)

III. JUSTIFICACIÓN

Dentro de la gran variedad de especies que conforman el Reino Fungi, existen cepas patógenas responsables de muchas infecciones humanas, agrícolas y animales. Las cuales tienen repercusión en sectores básicos como lo es la salud, la alimentación y la economía, a nivel mundial.

Aunque desde hace muchos años se ha trabajado en el desarrollo e innovación de tratamientos antimicóticos y pruebas de diagnóstico para identificar, controlar, prevenir o erradicar las infecciones fúngicas, el número de posibles tratamientos es muy reducido. Sin tomar en cuenta que, durante los últimos 80 años, se ha observado un uso descontrolado y desinformado de los antimicrobianos en general convirtiéndose en una de las problemáticas más importantes que enfrenta el ser humano, nos referimos a la RAM, ya que, si no evitamos el desarrollo exponencial de esta, podemos desencadenar un gran número de pérdidas humanas acompañadas de pobreza extrema, hambre, etc.

Por todas estas razones, en los últimos años se ha realizado una búsqueda de nuevas fuentes de antifúngicos que no generen resistencia y que además sean amigables con el ser humano y el medio ambiente, puesto que la síntesis química ha sido un parteaguas en el desarrollo del ser humano, sin embargo, la salud y el medio ambiente se han visto afectados por los productos que hemos obtenido de ella.

Muchos estudios han demostrado que los hongos pueden ser utilizados para el beneficio del ser humano. México es uno de los territorios con mayor número de especies fúngicas en el mundo, por lo cual evaluar la capacidad antagónica de hongos microscópicos aislados en México frente a uno de los patógenos fúngicos más importantes como lo es *F. solani*, puede ayudar a la identificación de nuevas moléculas que puedan ser incluidas en el desarrollo de nuevos tratamientos antimicóticos.

IV. HIPÓTESIS

Las cepas saprófitas aisladas del Estado de México presentan actividad antagónica contra el hongo fitopatógeno *Fusarium solani*.

V. OBJETIVOS

General:

Evaluar la actividad antifúngica de hongos saprófitos aislados del Estado de México contra el fitopatógeno *Fusarium solani*, mediante un bioensayo de cultivo dual.

Específicos:

- Reactivar 45 cepas fúngicas y el hongo fitopatógeno *Fusarium solani*, previamente aisladas del Estado de México y conservadas en el Laboratorio de cepas Fúngicas de la Universidad Autónoma del Estado de México.
- Determinar que antifúngico comercial y la concentración se utilizará en el bioensayo de cultivo dual.
- Realizar el bioensayo de cultivo dual confrontando a los 45 hongos saprófitos con el fitopatógeno *Fusarium solani*.
- Determinar el porcentaje de inhibición del crecimiento fúngico.

VI. METODOLOGÍA

6.1. Cepas fúngicas

Para el desarrollo de esta investigación, se utilizaron 45 cepas fúngicas saprófitas aisladas del Estado de México y la cepa de referencia *Fusarium solani* ATCC® 32793™, todas obtenidas del Laboratorio de cepas Fúngicas de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma del Estado de México (UAEMéx).

Las 45 cepas fúngicas y la cepa de referencia se encontraban aisladas previamente en cajas Petri de 90 x 15 mm. Para su reactivación se tomaron tres muestras de cada caja y se inocularon individualmente en cajas Petri de 60 x 15 mm, con medio agar papa dextrosa PDA Bioxon® estéril, se incubaron durante 7 días a 24 °C. Cumplidos los 7 días se verificó que no se observara rastro alguno de contaminación.

6.2. Concentración del fungicida comercial del control positivo (+)

Se consideraron dos fungicidas utilizados comúnmente en el Estado de México:

- Captan ultra® 50 WP (Captan: N-triclorometiltio-4-ciclohexeno-1,2-dicarboximida) en polvo humectable (con 500 g de i.a./kg), distribuido por Arysta LifeScience México, SA de CV Saltillo, Coahuila de Zaragoza, México.
- Cercobin M® (Tiofanato metílico: Dimetil-4,4'-o-fenilenbis (3-tioalofanato)) en polvo humectable (con a 700 g de i.a./kg), distribuido por BASF mexicana SA de CV, Ciudad de México, México.

Dado que los fabricantes sugieren utilizar diversas concentraciones en campo, se probaron dos concentraciones (Cuadro 4):

Cuadro 4. Concentraciones de fungicidas agrícolas utilizados

	Captan ultra® 50 WP	Cercobin-M
Dosis baja	100 mg/ 50 mL	100 mg/ 50 mL
Dosis alta	175 mg/ 50 mL	150/ 50 mL

En una caja Petri se adicionó medio PDA Bioxon® estéril y antes de que gelificará se agregó el fungicida a evaluar (Captan ultra® 50 WP o Cercobin-M®) a las concentraciones previamente

mencionadas, se dejó gelificar. Posteriormente se tomó un disco (5 mm diámetro) con el antifúngico ya gelificado y se adicionó en un extremo de una caja de Petri con medio PDA, en el otro extremo de la caja se inoculó un disco (5 mm diámetro) con el hongo *F. solani* (7 días de crecimiento previo). Las cajas se incubaron durante 7 días a 25 °C en una incubadora compacta Thermo Scientific®. Transcurrido ese tiempo se determinó de manera visual que antifúngico inhibió más al hongo *F. solani*. Dado que el fungicida comercial Captan ultra® 50 WP a una concentración de 175 mg/ 50 mL inhibió más a *F. solani*, se eligió utilizar como control positivo (+) en el bioensayo dual.

6.3. Bioensayo de cultivo dual

Se realizó de acuerdo con las metodologías reportadas por (Abdel, Shabana, Ismail, & Rashad, 2007) y (Bell, Wells, & Markham, 1982). Todas las cepas fúngicas (saprófitas y patógeno) fueron inoculadas en medio PDA Bioxon®, e incubadas 7 días a 25 °C en una incubadora Thermo Scientific®. Trascorridos los 7 días en una caja de Petri de 60 x 15 mm se colocó un disco de 5 mm Ø de la cepa saprófita previamente crecida (tomada con un sacabocados estéril) y se colocó en un extremo de la caja, inmediatamente después en el otro extremo de la caja se colocó otro disco de 5 mm Ø del patógeno *F. solani* previamente crecido (tomada con un sacabocados estéril). las cajas se incubaron durante 7 días a 25 °C. Todos los bioensayos se realizaron por triplicado, como controles se utilizaron:

- **Control positivo (+):** Disco de 5 mm Ø de medio PDA con el antifúngico comercial Captan ultra® 50 WP (175 mg/50 mL).
- **Control negativo:** Disco de 5 mm Ø de medio PDA estéril.

Se utilizó el programa ImageJ (<https://imagej.nih.gov>) para capturar las imágenes de los bioensayos individuales (**Figura 1**).

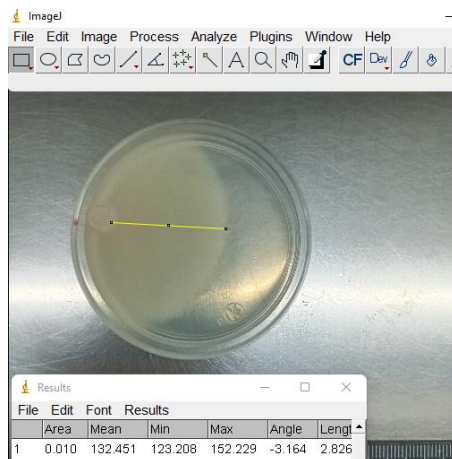


Figura 1. Medición del crecimiento de las cepas fúngicas utilizando el programa ImageJ.

6.4. Determinación del porcentaje de inhibición.

Una vez capturadas las imágenes, se procedió a realizar las mediciones para determinar el porcentaje de inhibición, se midió el radio de crecimiento de las cepas saprófitas y el radio de crecimiento de la cepa patógena, utilizando la fórmula:

$$\% I = 100 \left(\frac{R1 - R2}{R1} \right)$$

Donde:

- R1= es el radio de crecimiento del patógeno en el control negativo.
- R2= es el radio de crecimiento del patógeno en el bioensayo dual.

6.5. Identificación taxonómica tradicional de las cepas fúngicas.

La información acerca de la identificación taxonómica tradicional fue tomada de la tesis de Doctorado titulada: Determinación de la toxicidad de fungicidas sintéticos y naturales en fibroblastos humanos BJ, 2022. Andy José Moo Muñoz. Donde se utilizaron como referencia las guías de identificación de (Barnett & Hunter, 1972) y (Watanabe, 2002) para una descripción certera.

6.6. Conservación de cepas.

Una vez finalizada la fase experimental todas las cepas utilizadas fueron conservadas en un tubo inclinado, brevemente, se vertió en tubos de ensayo estériles medio PDA, los tubos se colocaron inclinados para que el medio gelificara en un plano inclinado. Cada una de las cepas de los hongos asilados se inoculó en un tubo, se incubaron a temperatura ambiente durante 7 días y se almacenaron en refrigeración a 4 °C.

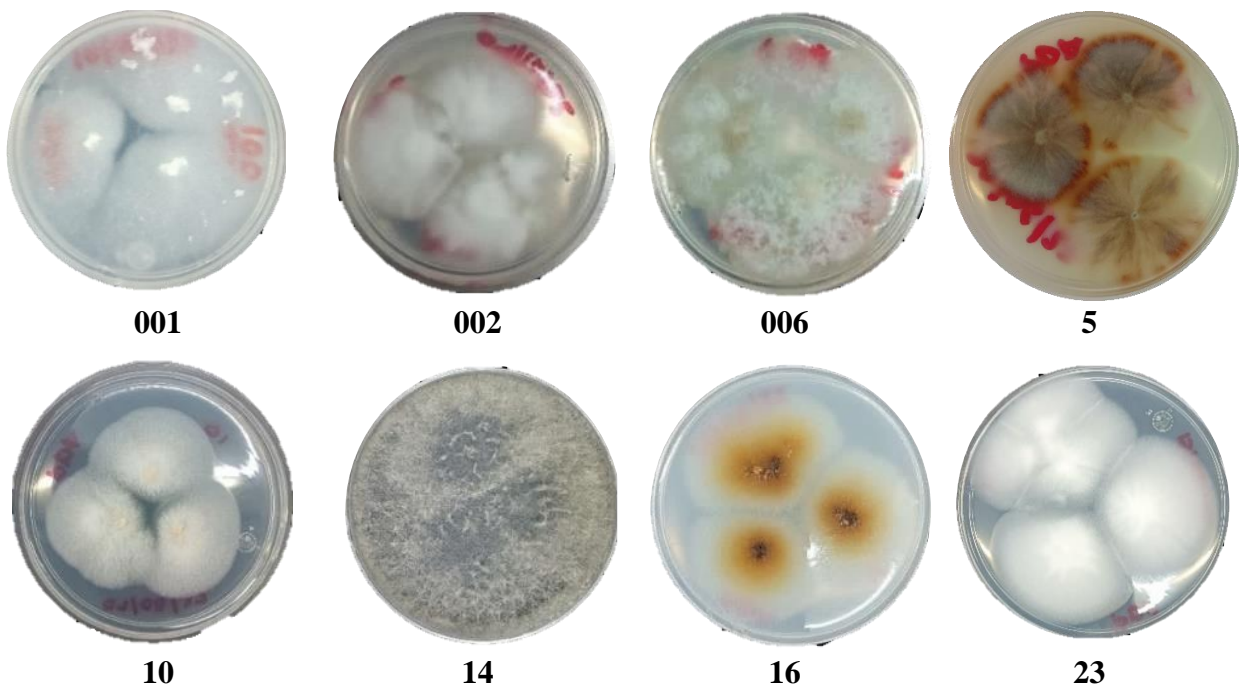
6.7. Análisis Estadístico.

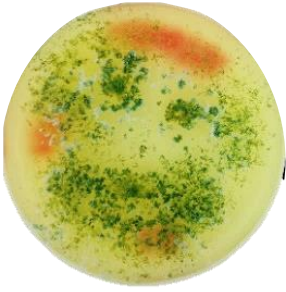
Con los datos proporcionados por el programa ImageJ (<https://imagej.nih.gov>), se realizó el análisis estadístico a partir de la prueba t de student de los radios de inhibición en el programa R studio (<https://www.rstudio.com/>).

VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

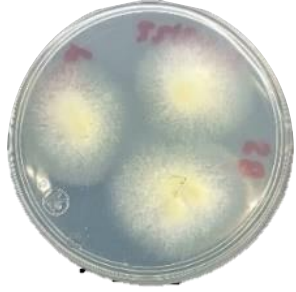
7.1. Reactivación de cepas

Se lograron reactivar las 45 cepas de hongos saprófitos obtenidas de suelo del Estado de México y la cepa de *F. solani* (Figura 2), estos resultados pueden ser debidos a la temperatura y la humedad utilizados, que son factores que influyen en el crecimiento fúngico, por lo cual una buena adecuación de condiciones climáticas es de vital importancia. Autores como (Talley, Coley, & Kursar, 2002) y (De Ligne, et al., 2019), han reportado que el crecimiento y la esporulación de un gran número de cepas fúngicas es posible en rangos entre 5 y 50 °C. Sin embargo, algunas cepas experimentan estrés hídrico a temperaturas muy altas, por lo cual se considera que una óptima para el buen desarrollo de cepas fúngicas radica entre 20 y 30 °C, estos resultados coinciden con los reportados en la presente investigación donde la temperatura de incubación fue de 25 °C, incluso para la cepa de referencia *F. solani*.





57



58



59



69



75



83



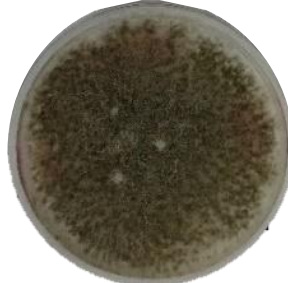
95



100



101



102



103



108



110



112



116



127



130



131



140



143



144



171



176



186



192



MIC3



M2C1



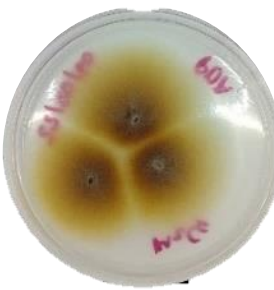
M2C3



M2C4



M2C5



M2C6



M3C2

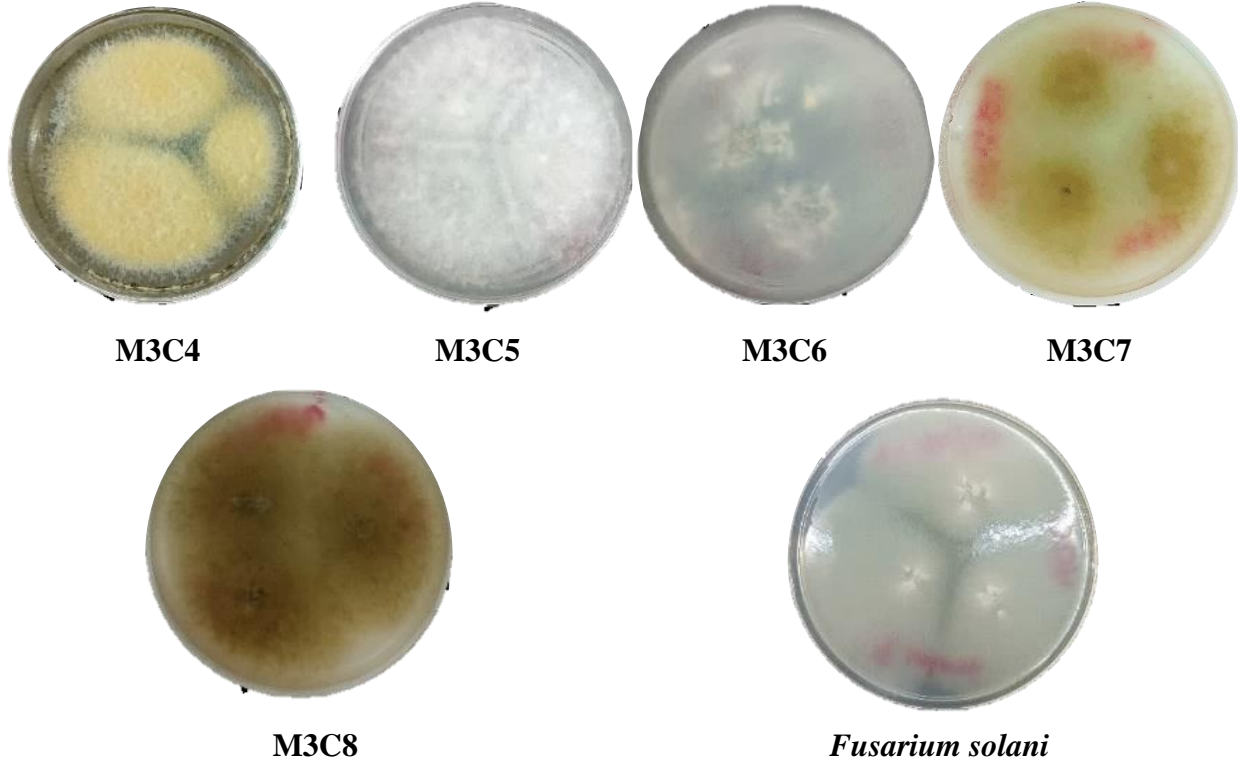


Figura 2. Cepas fúngicas reactivadas a los 7 días de crecimiento a 25 °C con su respectiva clave de identificación.

7.2. Determinación del porcentaje de inhibición de antifúngicos comerciales

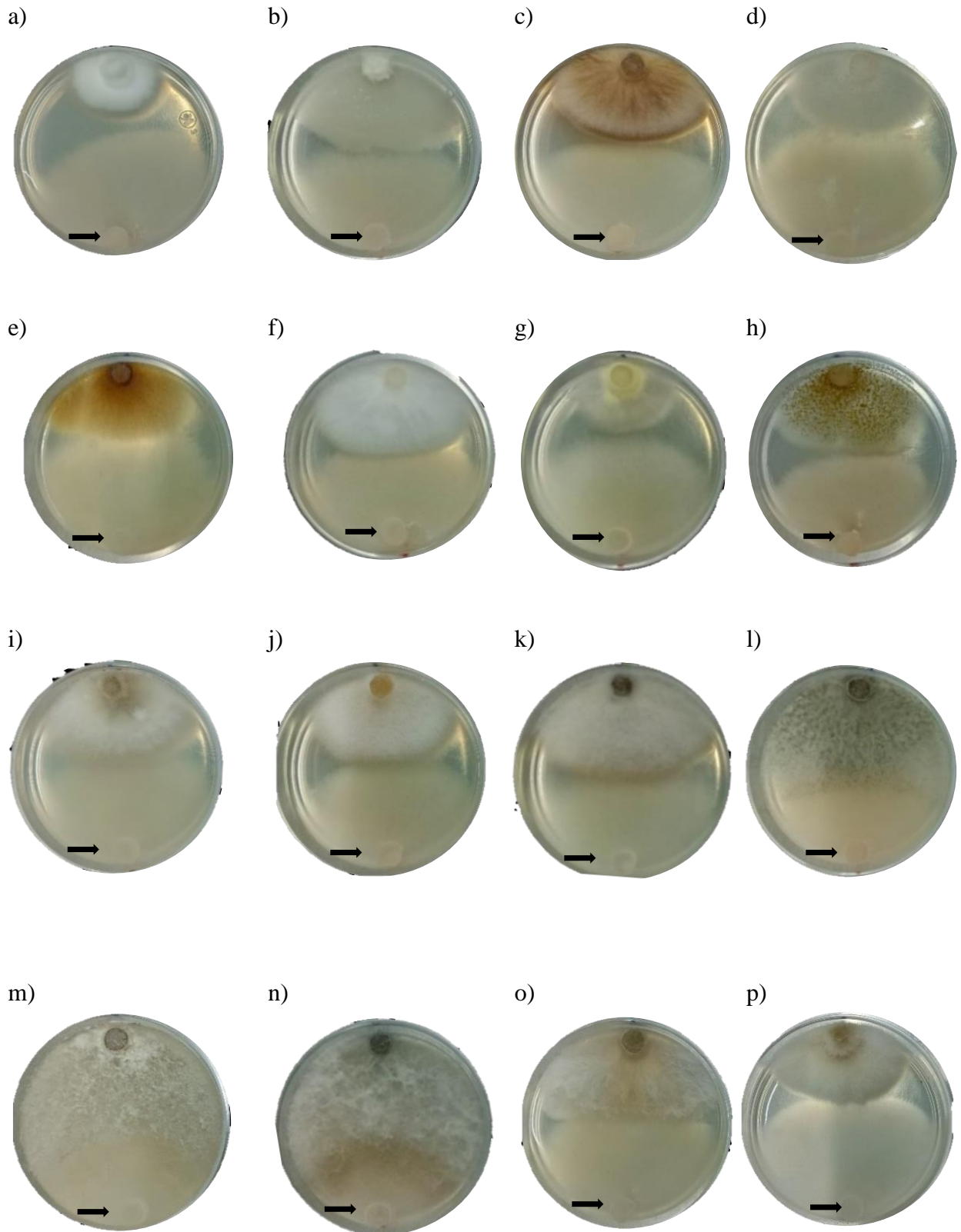
Como se observa en el Cuadro 4 los cuatro fungicidas comerciales confrontados con *F. solani* mostraron porcentajes de inhibición bajos.

Cuadro 5. Determinación del porcentaje de inhibición de dos fungicidas comerciales a dos concentraciones contra *F. solani*

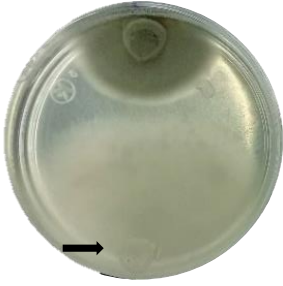
Fungicida	Crecimiento de <i>F. solani</i> en bioensayo (cm).	Diferencia en cm del control negativo	%I
Captan ultra® (100 mg/50 mL)	2.78	0.04	1.45
Captan ultra® (175 mg/50 mL)	2.77	0.05	1.73
Cercobin-M (100 mg/ 50 mL)	2.81	0.01	0.56
Cercobin-M (150 mg/50 mL)	2.80	0.02	0.77

7.3. Bioensayo de confrontación dual

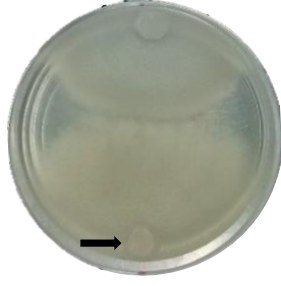
A continuación, se muestran 35 cepas (de un total de 45) que se confrontaron a *F. solani*, de las cuales todas las cepas presentaron un buen crecimiento (Figura 3). (Robles, et al., 2016) reportaron que *F. solani* tuvo un buen crecimiento tras una incubación en medio PDA a 25 °C por 12 días. Por otro lado, (Rodríguez & Flores, 2018) realizaron pruebas de confrontación dual a 28 °C por un periodo de 3 a 5 días de incubación, obteniendo un buen crecimiento micelial. Mientras que en la confrontación dual realizada por Andrade y colaboradores se reportó un buen crecimiento fúngico en medio PDA incubado a 25 ± 2 °C en oscuridad por dos días (Andrade, et al., 2019). Los datos comparativos de las condiciones de incubación de temperatura anteriormente mencionados sugieren que las condiciones de incubación de la presente investigación (25 °C por 7 días), fueron adecuadas para las 46 cepas reactivadas. Respecto al patógeno *F. solani*, la media del crecimiento fue de 1.805 ± 0.551 cm. El crecimiento del fitopatógeno en los bioensayos estuvo dentro de un intervalo de 0.67 a 2.82 cm (Figura 4).



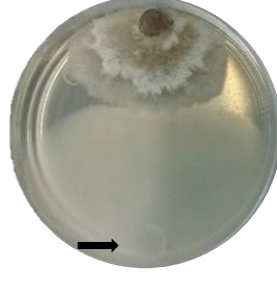
q)



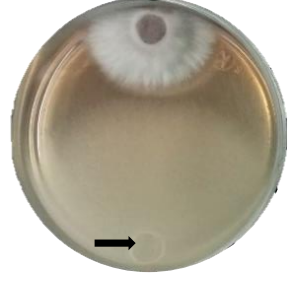
r)



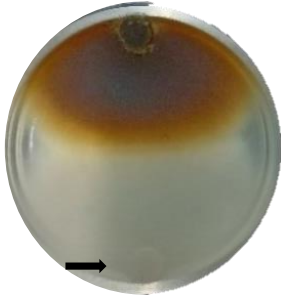
s)



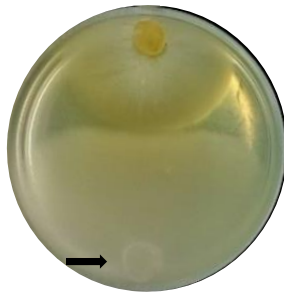
t)



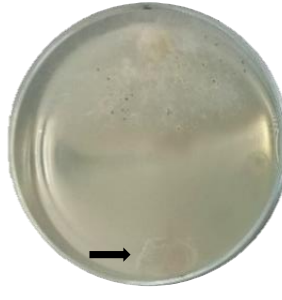
u)



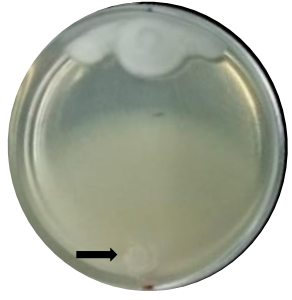
v)



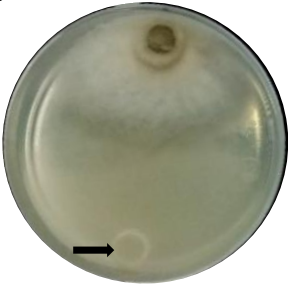
w)



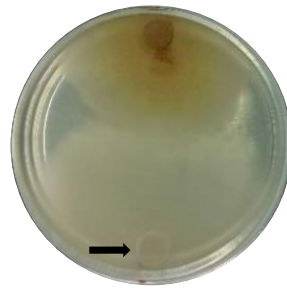
x)



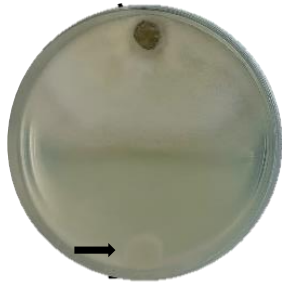
y)



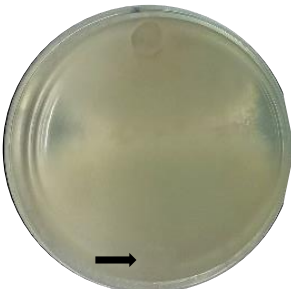
z)



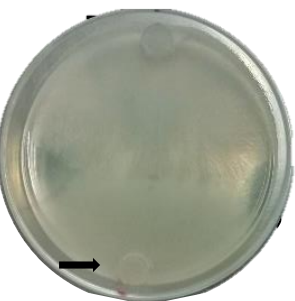
aa)



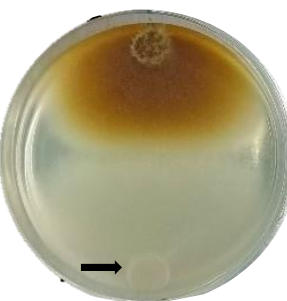
bb)



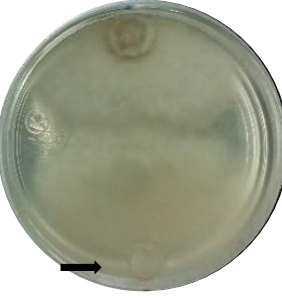
cc)



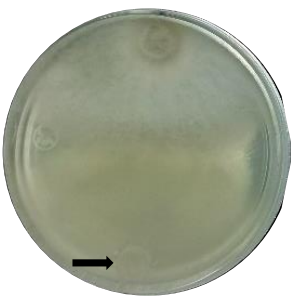
dd)



ee)



ff)



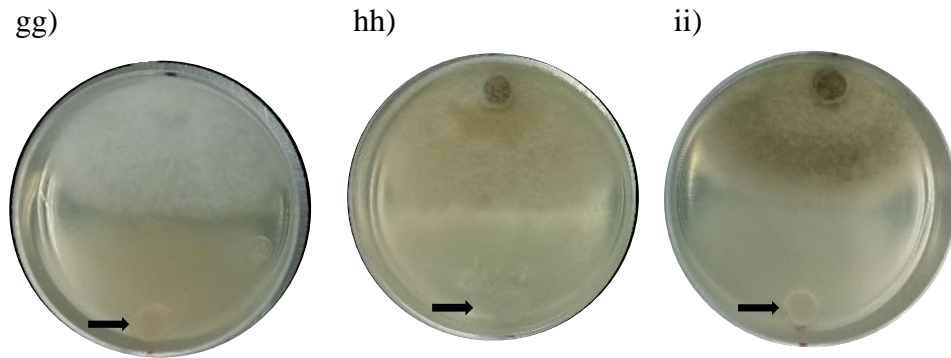


Figura 3. Bioensayos duales de 35 cepas microscópicas frente a *F. solani* (→). Letras significan el número de clave de la cepa: **a)** 002, **b)** 006, **c)** 5, **d)** 10, **e)** 16, **f)** 23, **g)** 58, **h)** 59, **i)** 83, **j)** 100, **k)** 101, **l)** 102, **m)** 103, **n)** 108, **o)** 112, **p)** 127, **q)** 131, **r)** 140, **s)** 143, **t)** 144, **u)** 171, **v)** 176, **w)** 186, **x)** 192, **y)** M1C3, **z)** M2C1, **aa)** M2C3, **bb)** M2C4, **cc)** M2C5, **dd)** M2C6, **ee)** M3C2, **ff)** M3C4, **gg)** M3C5, **hh)** M3C7 y **ii)** M3C8.

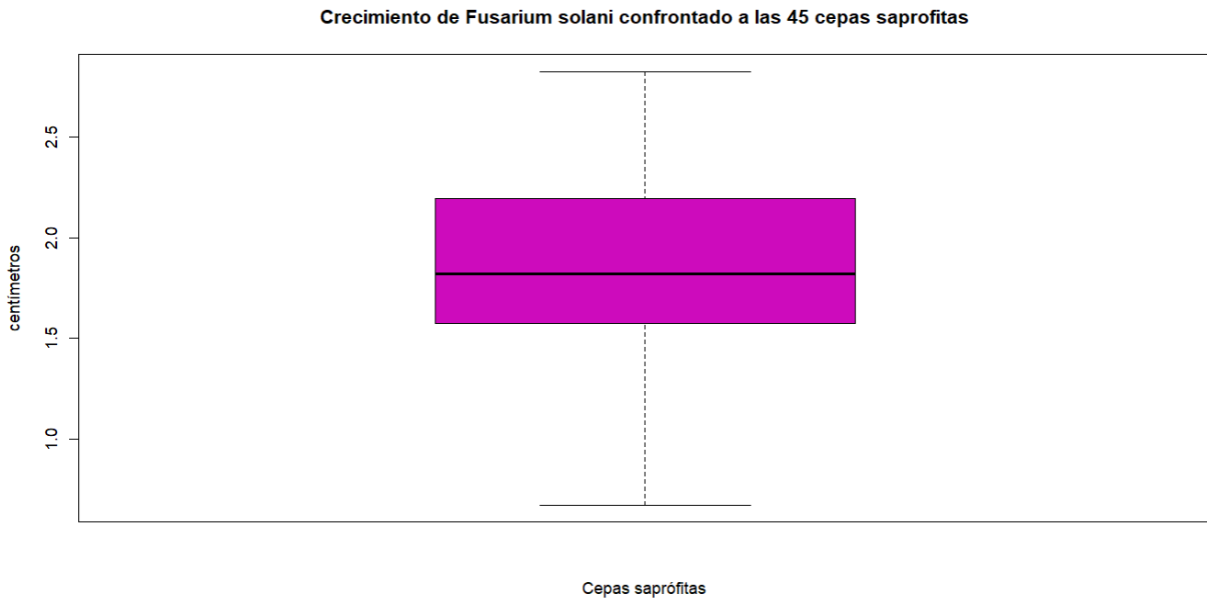


Figura 4. Media y desviación estándar del crecimiento de *F. solani* en medio PDA a los 7 días de cultivo confrontado a las 45 cepas saprófitas en los bioensayos duales.

7.4. Evaluación de porcentaje de inhibición.

Respecto al porcentaje de inhibición, casi todas las cepas presentaron actividad antagonista frente a *F. solani*, los porcentajes de inhibición variaron del 4.5% hasta el 76%. De las 45 cepas saprófitas, 4 presentaron rangos de inhibición menores del 10%, 7 cepas presentaron porcentajes $\geq 10\%$, 7 cepas más mostraron valores $\geq 20\%$, 9 cepas mostraron porcentajes de inhibición $\geq 30\%$, 8 cepas inhibieron en un $\geq 40\%$ y 10 cepas inhibieron en un rango mayor al 50% (Cuadro 5). Las cepas con mayor porcentaje de inhibición fueron M3C6 ($>70\%$), y 75 ($>70\%$) seguido de las cepas 95, 69, 001, 110 y 14 ($>60\%$) y las cepas 57, 116 y 130 ($>50\%$) (Figura 5, 6, 7, 8). La media del porcentaje de inhibición de estas diez cepas es de 64.8%.

Cuadro 6. Porcentajes de inhibición de *F. solani* confrontada a 45 cepas fúngicas saprófitas.

Cepa saprófita	Crecimiento de <i>F. solani</i> (cm)	Desviación estándar	Porcentaje de inhibición (%)
001	0.98	0.002	65.26
002	2.69	0.003	4.56
006	1.77	0.002	37.39
5	2.11	0.002	25.11
10	2.28	0.003	19.17
14	1.06	0.002	62.50
16	2.27	0.001	19.53
23	1.86	0.003	33.92
57	1.14	0.002	59.57
58	2.27	0.003	19.56
59	2.06	0.003	26.99
69	0.91	0.002	67.49
75	0.73	0.002	74.07
83	1.97	0.003	30.03
95	0.91	0.001	67.70
100	1.90	0.001	32.61
101	1.59	0.003	43.44
102	1.62	0.002	42.66
103	1.70	0.003	39.83

108	1.58	0.002	43.86
110	0.98	0.003	65.19
112	2.31	0.002	18.11
116	1.23	0.001	56.28
127	2.45	0.001	13.05
130	1.29	0.003	54.19
131	2.49	0.003	11.67
140	2.05	0.001	27.20
143	2.58	0.002	8.50
144	2.61	0.003	7.53
171	1.82	0.002	35.59
176	2.16	0.002	23.52
186	1.64	0.001	41.85
192	2.82	0.001	0.07
M1C3	1.72	0.001	38.95
M2C1	2.48	0.001	12.17
M2C3	1.57	0.001	44.32
M2C4	2.19	0.001	22.43
M2C5	1.56	0.002	44.75
M2C6	1.89	0.001	32.93
M3C2	2.10	0.002	25.54
M3C4	2.02	0.002	28.20
M3C5	1.67	0.002	40.82
M3C6	0.67	0.001	76.26
M3C7	1.60	0.002	43.23
M3C8	1.76	0.003	37.64
Control	2.78	0.001	1.73

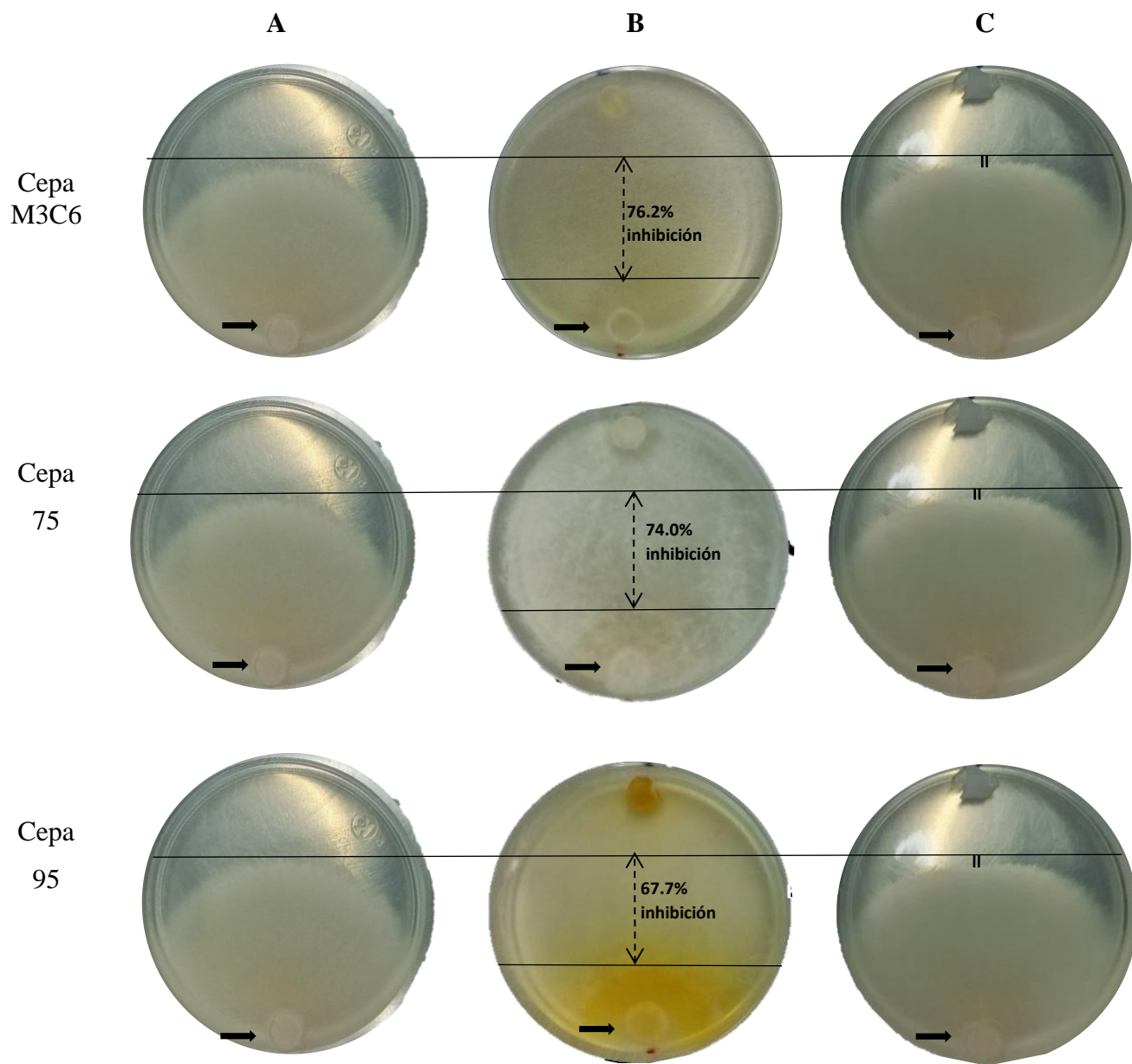


Figura 5. Inhibición de crecimiento del fitopatógeno *Fusarium solani* confrontado a las cepas saprófitas con registro M3C6, 75 y 95.

Línea de crecimiento del *F. solani* (—————)
 Fitopatógeno *Fusarium solani* (—→). Inhibición de crecimiento del *F. solani* frente a la cepa saprófita (⇕). Inhibición de crecimiento de *F. solani* frente al fungicida Captan ultra® 50 WP (||). Columna A control negativo (*Fusarium solani* + disco de 5 mm Ø de medio PDA estéril). Columna B confrontamiento dual (*Fusarium solani* + cepa saprófita). Columna C control positivo (disco de 5 mm Ø de medio PDA con el antifúngico comercial Captan ultra® 50 WP, a una concentración de 175 mg/50 mL).

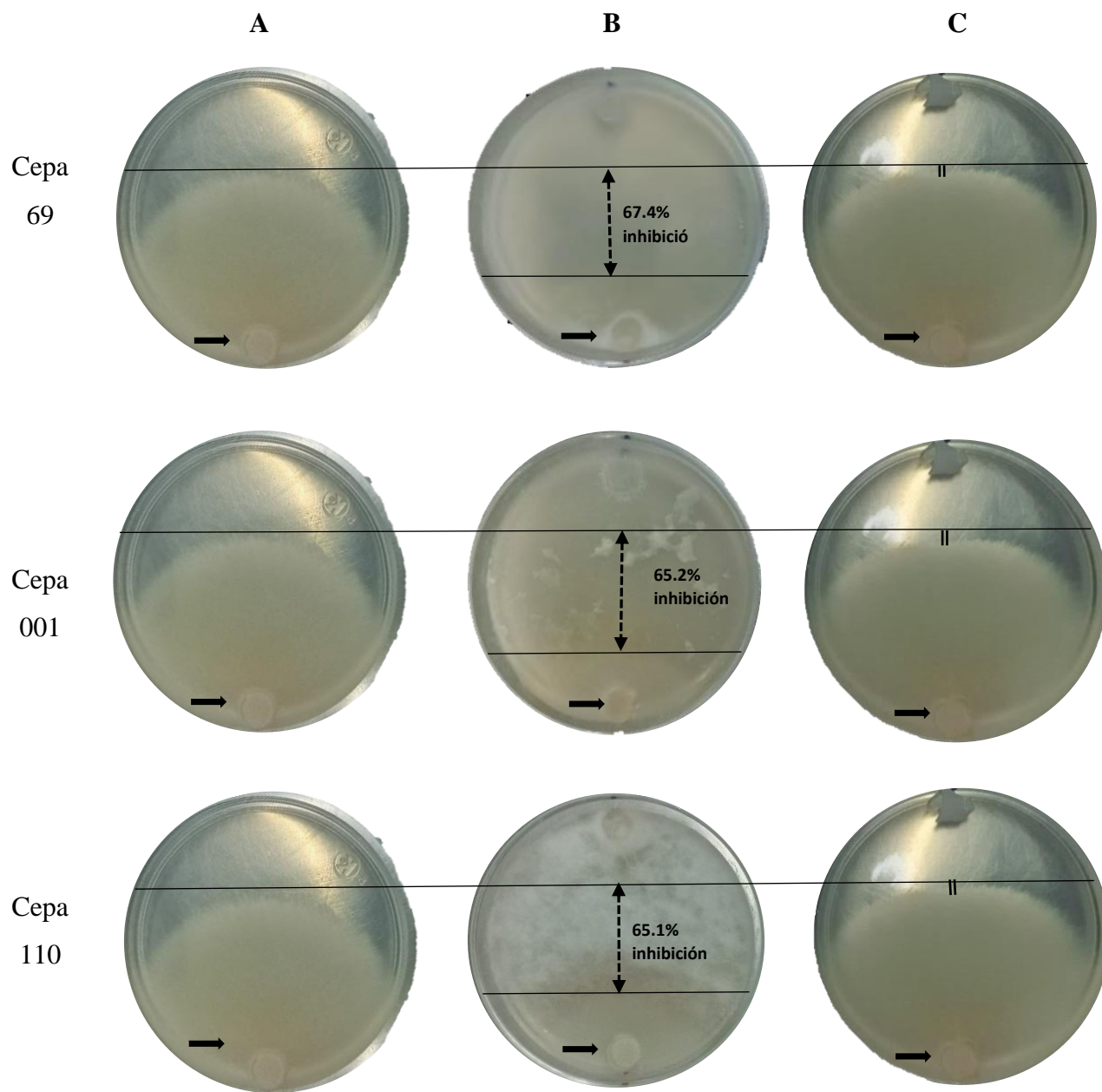


Figura 6. Inhibición de crecimiento del fitopatógeno *Fusarium solani* confrontado a las cepas saprófitas con registro 69, 001 y 110.

Línea de crecimiento del *F. solani* (—————)
 Fitopatógeno *Fusarium solani* (—>). Inhibición de crecimiento del *F. solani* frente a la cepa saprófita (⚡). Inhibición de crecimiento de *F. solani* frente al fungicida Captan ultra® 50 WP (||). Columna A control negativo (*Fusarium solani* + disco de 5 mm Ø de medio PDA estéril). Columna B confrontamiento dual (*Fusarium solani* + cepa saprófita). Columna C control positivo (disco de 5 mm Ø de medio PDA con el antifúngico comercial Captan ultra® 50 WP, a una concentración de 175 mg/50 mL).

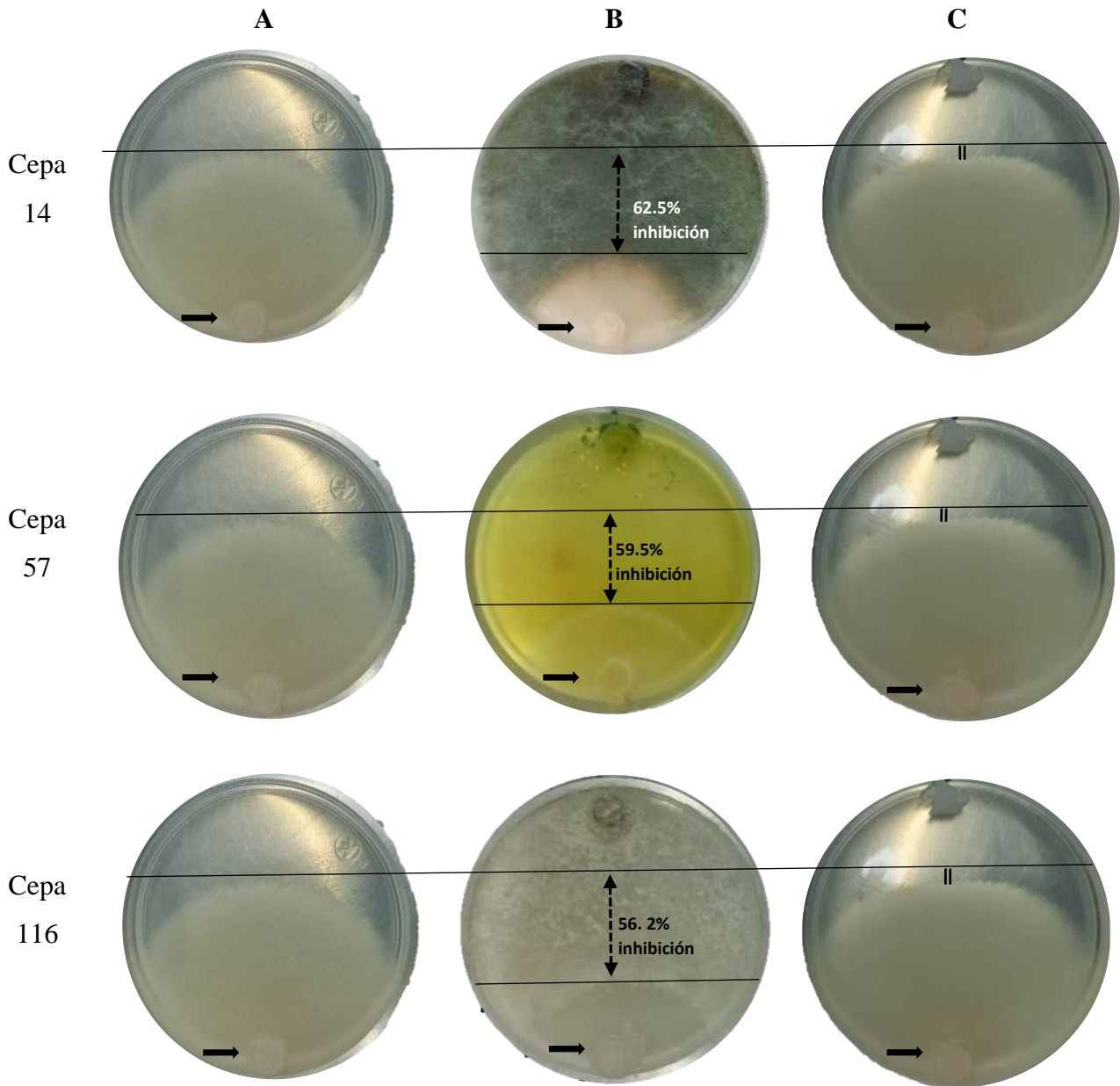


Figura 7. Inhibición de crecimiento del fitopatógeno *Fusarium solani* confrontado a las cepas saprófitas con registro 14,57 y 116.

Línea de crecimiento del *F. solani* (—————)
 Fitopatógeno *Fusarium solani* (—→). Inhibición de crecimiento del *F. solani* frente a la cepa saprófita (⇕). Inhibición de crecimiento de *F. solani* frente al fungicida Captan ultra® 50 WP (II). Columna A control negativo (*Fusarium solani* + disco de 5 mm Ø de medio PDA estéril). Columna B confrontamiento dual (*Fusarium solani* + cepa saprófita). Columna C control positivo (disco de 5 mm Ø de medio PDA con el antifúngico comercial Captan ultra® 50 WP, a una concentración de 175 mg/50 mL).

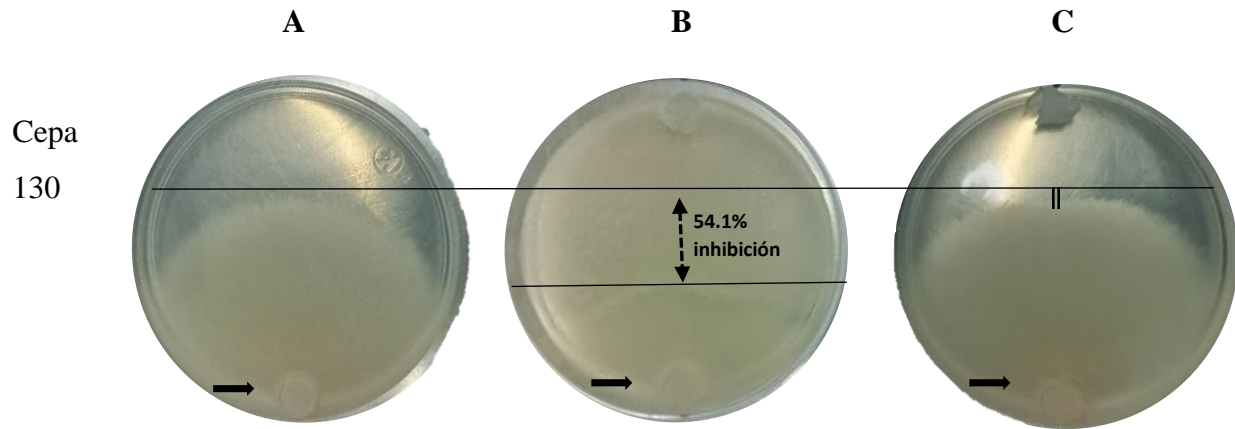


Figura 8. Inhibición de crecimiento del fitopatógeno *Fusarium solani* confrontado a la cepa saprófitas con registro 130.

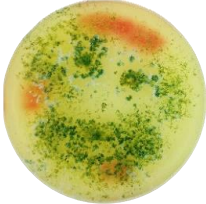
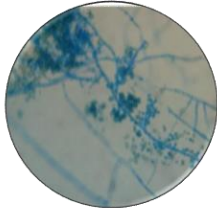




Línea de crecimiento del *F. solani* (—————)
 Fitopatógeno *Fusarium solani* (—→). Inhibición de crecimiento del *F. solani* frente a la cepa saprófita (⇕). Inhibición de crecimiento de *F. solani* frente al fungicida Captan ultra® 50 WP (||). Columna A control negativo (*Fusarium solani* + disco de 5 mm Ø de medio PDA estéril). Columna B confrontamiento dual (*Fusarium solani* + cepa saprófita). Columna C control positivo (disco de 5 mm Ø de medio PDA con el antifúngico comercial Captan ultra® 50 WP, a una concentración de 175 mg/50 mL).

Los mayores valores de inhibición de crecimiento coinciden con los reportados por algunos autores como (Rashad, Abdalla, & Shehata, 2022) que demostraron la capacidad inhibitoria de cepas como *Aspergillus flavus* en condiciones *in vitro* contra *F. solani*, hasta un 80%, mientras que, en invernadero, la afectación del patógeno al cultivo de maíz se redujo un 73.4%. Por su parte (Awad, et al., 2018) afirmaron que el hongo *Trichoderma viride* tiene la capacidad de inhibir al patógeno fúngico de nuestro interés en un 29.76%, mientras que (Hewedy, et al., 2020) demostraron que *T. viride* tenía una capacidad de inhibición de 50%, por su parte la especie *Trichoderma harzianum* demostró inhibir a *F. solani* en un 71.42%. También se han encontrado reportes del género *Nigrospora* donde se menciona cierta capacidad antifúngica, (Arenas, Torres, & Díaz, 2013) reportaron que *Nigrospora* sp. presentó potencial antifúngico al detener el crecimiento de morfoespecies de *Fusarium* sp. ellos propusieron una escala para medir el grado de invasión del organismo antagónico. De acuerdo con dicha escala *Nigrospora* sp. invadió 1/3 de la superficie del patógeno.

7.5. Identificación taxonómica tradicional de cepas con mayor actividad antagónica.

La identificación taxonómica se realizó (previamente) a las cepas que presentaron mayor inhibición del crecimiento de *F. solani* (M3C6, 75, 95, 69, 001,110, 14, 57, 116 y 130), de las cuales únicamente tres cepas presentaron esporas, las cepas 57, 95 y 116, las restantes se clasificaron como micelio estéril y no fue posible asignarles un taxon (Cuadro 6).

Cuadro 7. Identificación morfológica de cepas con mayor actividad antagónica

Cepa	Microscopia	Descripción	Género o especie
<p>57</p> 		<p>Conidióforos: hialinos, erectos, ramificados, con esporas en masa apicalmente en fialides verticilados.</p> <p>Fialides: cortos y gruesos.</p> <p>Conidios: fialosporosos, hialinos, globosos, subglobosos u ovados, unicelulares.</p> <p>Clamidosporas: color marrón, subglobosas.</p>	<p><i>Trichoderma harzianum</i></p>
<p>95</p> 		<p>Conidióforos: hialinos, erectos, ramificados, con masas de esporas apicalmente en fialides dispuestos irregularmente.</p> <p>Fialides: cortos y gruesos.</p> <p>Conidios: fialosporosos, verde pálido, elipsoidales u ovados, unicelulares, apiculados en un extremo. Clamidosporas: color marron, subglobosas.</p>	<p><i>Trichoderma pseudokoningi</i></p>
<p>116</p> 		<p>Conidióforos: simples, hialinos, globosos, con conidios únicos apicalmente.</p> <p>Conidios: aleuriosporosos, negros, subglobosos o en forma de disco, ocasionalmente apiculados en la parte superior</p>	<p><i>Nigrospora</i> sp.</p>

Información tomada de la tesis de Doctorado titulada: Determinación de la toxicidad de fungicidas sintéticos y naturales en fibroblastos humanos BJ, 2022. Andy José Moo Muñoz

Un total de 7 cepas con micelio estéril presentaron inhibición del crecimiento de *F. solani*. Se han reportado cepas fúngicas que presentan micelio estéril con esta actividad, tal como lo informan (Ramírez, Fernandez, Rodolfi, & Solveig, 2006), quienes reportaron cepas fúngicas con micelio estéril, (cepas que no mostraron los elementos sistemáticos y un incompleto desarrollo en cultivos para su posible identificación taxonómica), pero si presentaron alta producción de metabolitos secundarios, asegurando su capacidad para ser considerados una posible herramienta de control biológico y (Prada, Avila, Sierra, Bernal, & Restrepo, 2009), quienes reportaron la actividad antagónica de un hongo con micelio estéril, que al ser identificado por técnicas moleculares mostro un 94% de similitud con la de *Diaporthe phaseolorum*, quien inhibió al patógeno *Phytophthora infestans*.

Para las especies identificadas taxonómicamente en el presente estudio (*Trichoderma harzianum*, *Trichoderma pseudokoningii* y *Nigrospora* sp.), (Pérez, et al., 2018) reportaron que *T. harzianum* tiene capacidad antagónica frente a las cepas *Bipolaris oryzae*, *Sarocladium oryzae* y *Pyricularia grisea* a través de los mecanismos por competencia, antibiosis y microparasitismo, los cuales se presentan en forma de enrollamiento, lisis, vacuolización y penetración. Mientras que (Ayvar, et al., 2021) indicaron que *T. harzianum* inhibió un 49.37% el crecimiento de *F. solani*, esto debido al mecanismo de antibiosis lo cual se relaciona con la producción de metabolitos con capacidad antagónica como la gliotoxina, trichodermina, trichorzianina, entre otros.

En el caso de *Trichoderma pseudokoningii*, (Monaco, Perello, & Rollan, 1994) mencionaron que dicha cepa cuenta con capacidad inhibitoria ($50\% \geq$) frente a *F. solani* en condiciones *in vitro*, esto puede estar asociado a la producción de metabolitos difusibles.

Respecto al género *Nigrospora* sp., (Tacca, Yataco, Farfán, Calderón, & Cantoral, 2022) mostraron que cuenta con capacidad antagónica a partir del mecanismo de antibiosis frente *Botrytis cinérea* (89.82%), el cual se debe a los metabolitos secundarios producidos por este género. De igual forma (Du, et al., 2022) reportaron que *Nigrospora* sp. puede inhibir hasta un 90% al patógeno *Botrytis cinerea*.

7.6. Análisis estadístico

Se realizó la comparación del porcentaje de inhibición del crecimiento obtenida por el control positivo y las 10 cepas saprófitas que presentaron mayores porcentajes de inhibición del crecimiento. Como se observa en la Figura 9 se agruparon los datos en dos grupos para después evaluar la diferencia de medias a partir de la prueba t de student.

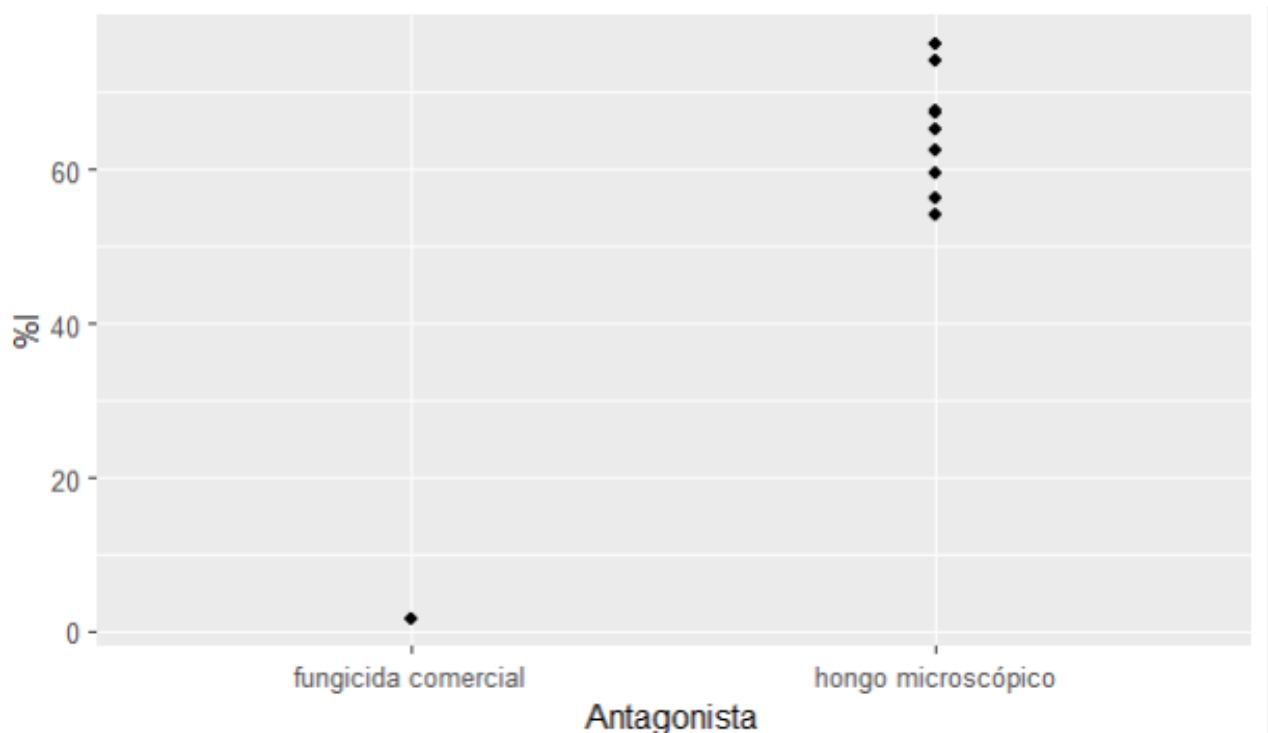


Figura 9. Gráfico de dispersión del porcentaje de inhibición del crecimiento de *F. solani* confrontado a las cepas fúngicas saprófitas y el fungicida comercial.

La normalidad de los datos se determinó a partir de la prueba de Shapiro-Wilk. Como se muestra en la Figura 10 el valor de W es mayor al p valor por lo cual no se rechaza la hipótesis nula, es decir las variables tienen una distribución normal.

```

Shapiro-wilk normality test
data:  hm$`%I`
W = 0.96587, p-value = 0.8501

```

Figura 10. Prueba de normalidad Shapiro-Wilk en el programa R studio.

7.6.1. T de student

Con este análisis estadístico se buscó probar la hipótesis planteada en la Figura 11.

```

#Hipotesis: El %I de los hongos microscópicos será mayor que 1.7%
#se sabe que el %I del control + es de 1.7%

#HO: El %I de hm<= 1.7%
#Ha: El %I de hm> 1.7%

```

Figura 11. Hipótesis planteada a evaluar con la prueba t de student.

Los resultados obtenidos de la prueba t de student de una cola mostrados en la Figura 12 nos indica que se rechaza la hipótesis nula indicando que el porcentaje de inhibición del crecimiento entre *F. solani* confrontado con las cepas saprófitas es mayor que el porcentaje de inhibición por fungicida Captan ultra® 50 WP (175 mg/50 mL) frente al patógeno.

```

One Sample t-test
data:  hm$`%I`
t = 28.205, df = 9, p-value = 2.152e-10
alternative hypothesis: true mean is greater than 1.7
95 percent confidence interval:
 60.74875      Inf
sample estimates:
mean of x
 64.8532

```

Figura 12. Prueba t de student de una cola realizada en el programa R studio.

En Figura 13 podemos confirmar los resultados obtenidos por la prueba t de student donde se muestra que la media de ambos grupos es diferente. El grupo de fungicidas comerciales presento porcentajes de inhibición menor al 2%, por su parte las cepas de hongos microscópicos con mayor %I, presentaron porcentajes de inhibición mayores al del control positivo.

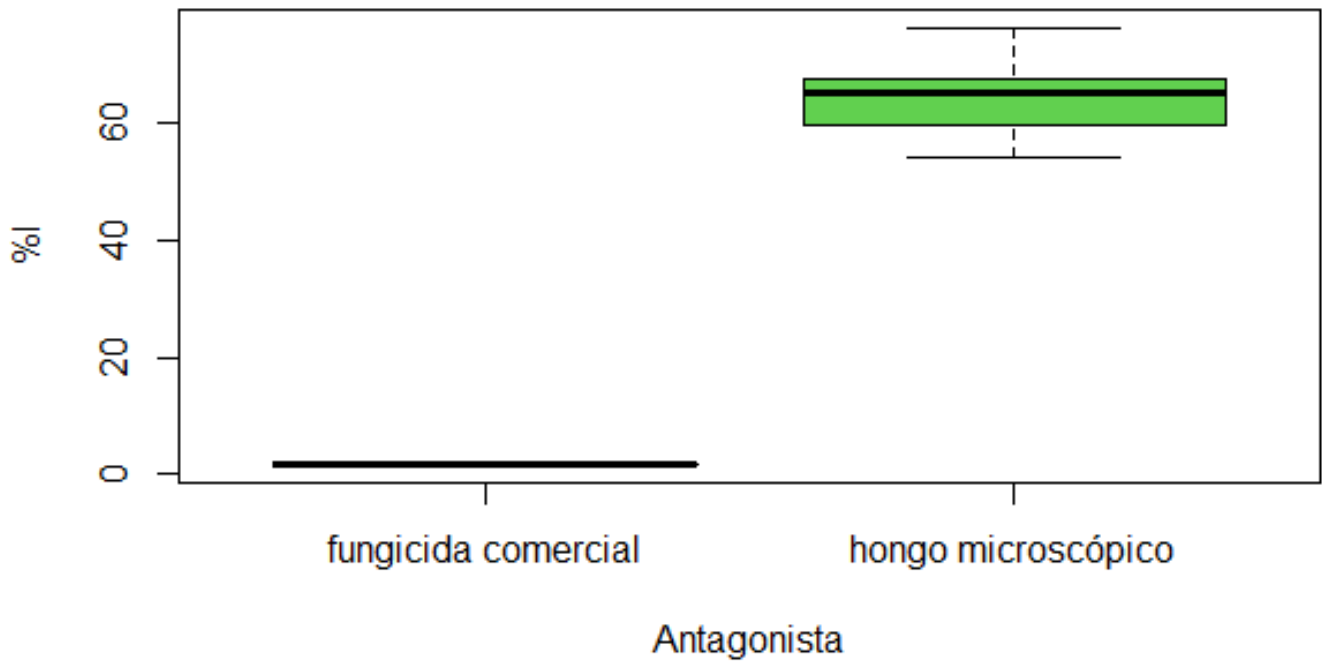


Figura 13. Prueba de comparación de medias de dos grupos independientes.

VIII. CONCLUSIONES

- Se reactivaron 45 cepas fúngicas de las cuales 44 mostraron actividad antagónica frente al patógeno *Fusarium solani*.
- Los fungicidas comerciales inhibieron el crecimiento de *F. Solani* en rangos de 1.45% a 1.73% para Captan ultra 50 WP® y de 0.57% y 0.78% para Cercobin M®.
- Un total de 44 cepas fúngicas inhibieron el crecimiento del fitopatógeno *Fusarium solani* en rangos de 4 -76%.
- Un total de 10 cepas saprófitas destacaron por un alto porcentaje de inhibición, M3C6 (76.2%), 75 (74.0%), 95 (67.7%), 69 (67. 4%), 001 (65. 2%), 110 (65.1%), 14 (62.5%), 57 (59. 5%), 116 (56.2%) y 130 (54.1%).
- Basado en la identificación taxonómica previa, solo 3 cepas que presentaron mayores porcentajes de inhibición pudieron ser identificadas, la cepa 57 (*Trichoderma harzianum*), la cepa 95 (*Trichoderma pseudokoningi*) y la cepa 116 (*Nigrospora* sp.).
- Las cepas 57 (*Trichoderma harzianum*), 95 (*Trichoderma pseudokoningi*) y 116 (*Nigrospora* sp.), pueden ser consideradas para futuras evaluaciones como control biológico contra el fitopatógeno *F. solani*, al inhibir su crecimiento más que al antifúngico comercial.

IX. REFERENCIAS

- Abdel, F., Shabana, Y., Ismail, A., & Rashad, Y. (2007). *Trichoderma harzianum*: a biocontrol agent against *Bipolaris oryzae*. *Mycopathologia*, 81-89.
- Aguirre, E., Ulloa, M., Aguilar, S., Cifuentes, J., & Valenzuela, R. (2014). Biodiversidad de hongos en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 76-81.
- Ahmed, M., Sajid, R., Javeed, A., Aslam, M., Ahsan, T., Hussain, D., . . . Ji, M. (2022). Antioxidant, antifungal, and aphicidal activity of the triterpenoids spinasterol and 22, 23-dihydrospinasterol from leaves of *Citrullus colocynthis* L. *Scientific Reports*.
- Akhtari, A., Davari, M., Habibi, Y., Ebadollahi, A., & Feizpour, S. (2022). Antifungal Activities of Pure and ZnO-Encapsulated Essential Oil of *Zataria multiflora* on *Alternaria solani* as the Pathogenic Agent of Tomato Early Blight Disease. *Frontiers in Plant Science*.
- Alkuwari, A., Hassan, Z., Zeidan, R., Al-Thani, R., & Jaoua, S. (2022). Occurrence of Mycotoxins and Toxigenic Fungi in Cereals and Application of Yeast Volatiles for Their Biological Control. *Toxins*, 404.
- Almeida, F., Rodrigues, M., & Coelho, C. (2019). The Still Underestimated Problem of Fungal Diseases Worldwide. *Frontiers of Microbiology*, 214.
- Álvarez, T., Serrano, G., & Otero, P. (2021, 05 25). *GreenFort Science For Nature*. Retrieved from Fungicidas biológicos: la Familia Trichoderma y su uso en agricultura: <https://greenfort.com.mx/la-familia-trichoderma-y-su-uso-en-agricultura/>
- Andrade, H., Luna, C., Osorio, H., Molina, G., Landero, V., & Barrales, C. (2019). Antagonismo de *Trichoderma* spp. vs hongos asociados a la marchitez de chile. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 1259-1272.
- Arenas, Y., Torres, G. C., & Díaz, O. J. (2013). IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS ANTAGONISTAS DEL HONGO FUSARIUM SP. EN ÓRGANOS DE HELICONIA SPP. *Ingeniería de Recursos Naturales y del Ambiente*.
- ArgenBio. (2022). Recuperado el 25 de 10 de 2022, de Los microorganismos y la biotecnología: <https://www.argenbio.org/actualidad/67-temas-de-interes/12681-los-microorganismos-y-la-biotecnologia>
- Awad, N., Kassem, H., Hamed, M., El-Feky, A., Elnaggar, M., Mahmoud, K., & Ali, M. (2018). Isolation and characterization of the bioactive metabolites from the soil derived fungus *Trichoderma viride*. *Micology*.
- Ayvar, S. S., Díaz, N., Vargas, H., Enciso, M., Alvarado, G. G., & Ortíz, M. (2021). Actividad antifúngica de pesticidas biológicos, botánicos y químicos sobre el agente causal de la marchitez vascular del jitomate. *Revista Fitotecnia Mexicana*.
- Barberán, L. J. (2013). *Los antimicrobianos: una historia inacabada*. CEU.

- Barnett, H., & Hunter, B. (1972). *Illustrated genera of imperfect fungi. Illustrated genera of imperfect fung.*
- Baron, S. (1996). Introduction to Infectious Diseases. En S. Baron, *Medical Microbiology*. Galveston.
- Bell, D., Wells, H., & Markham, C. (1982). In vitro antagonism of Trichoderma species against six fungal plant pathogens. *Phytopathology*.
- Bouzenna, H., & Krichen, L. (2012). Pelargonium graveolens L'Her. and Artemisia arborescens L. essential oils: Chemical composition, antifungal activity against Rhizoctonia solani and insecticidal activity against Rhysopertha dominica. *Natural Product Research*.
- Burnett, B. (2011). Antimicrobial treatments of textiles for hygiene and infection control applications: an industrial perspective. *Textiles for Hygiene and Infection Control*.
- Calcáneo, M., & Cueva, L. (2021). *Portal Académico CCH*. Obtenido de Reino Fungi: <https://portalacademico.cch.unam.mx/biologia2/caracteristicas-generales-dominios-y-reinos/reino-fungi>
- Centers for Disease Control and Prevention. (08 de 07 de 2022). *Fungal Diseases*. Obtenido de Antifungal Resistance: <https://www.cdc.gov/fungal/antifungal-resistance.html#:~:text=Antifungal%20resistance%20occurs%20when%20fungi,to%20all%20thre%20drug%20types>.
- Chalearmsrimuang, T., Suasa-ard, S., Jantasorn, A., & Dethoup, T. (2022). Effects of Marine Antagonistic Fungi against Plant Pathogens and Rice Growth Promotion Activity. *Journal of Pure and Applied Microbiology*.
- Chavarría, V., & Carmona, S. (04 de 2016). Efecto de microorganismos antagonistas en el control de la enfermedad denominada "Nectria" en la melina Gmelina arborea Roxb. *Revista Forestal Mesoamericana Kuru*, 13(32).
- Chen, X., Hu, L., Huang, X., Zhao, L., Miao, C., Chen, Y., . . . Li, Y. (2019). Isolation and characterization of new phenazine metabolites with antifungal activity against root-rot pathogens of Panax notoginseng from Streptomyces. *Journal of agricultural and food chemistry*.
- Christaki, E., Marcou, M., & Tofarides, A. (2020). Antimicrobial Resistance in Bacteria: Mechanisms, Evolution, and Persistence. *J Mol Evol*.
- Ciociola, T., Giovati, L., Conti, S., Magliani, W., Santinoli, C., & Polonelli, L. (2016). Natural and synthetic peptides with antifungal activity. *Future Medicinal Chemistry*.
- CNDH. (2019). Recuperado el 08 de 11 de 2022, de Comisión Nacional de los Derechos Humanos: <https://www.cndh.org.mx/sites/default/files/documentos/2019-11/Estudio-Biodiversidad.pdf>
- Comby, M., Gacoin, M., Robineau, M., Rabenoelina, F., Ptas, S., Dupont, J., . . . Baillieul, F. (2017). Screening of wheat endophytes as biological control agents against Fusarium head blight using two different in vitro tests. *Microbiol Res*.
- CONABIO. (25 de 11 de 2021). *Biodiversidad mexicana*. Obtenido de Biodiversidad mexicana: <https://www.biodiversidad.gob.mx/region/EEB/estados>

- Cordova-Callo, L. (2013). *Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica*. Obtenido de Acceso Libre a Información Científica para la Innovación: <https://tesis.ucsm.edu.pe/repositorio/handle/UCSM/3859>
- Cota, B., de Oliveira, D., Borges, T., Catto, A., Serafín, C., Rodrigues, A., . . . Andrade, A. (2021). Antifungal activity of extracts and purified saponins from the rhizomes of *Chamaecostus cuspidatus* against *Candida* and *Trichophyton* species. *J Appl Microbiol*.
- Crop Life International. (2017). Recuperado el 16 de 10 de 2022, de Manejo de la Resistencia: https://www.croplifela.org/images/ES/PDF_ES/Manejo-de-la-Resistencia.pdf
- Cubilla, R. A., Ruíz, D. D., Romero, R. M., Flores, G. ,, & Barúa, C. J. (2019). Antibiosis de proteínas y metabolitos en especies de *Trichoderma* contra aislamientos paraguayos de *Macrophomina phaseolina*. *Agronomía Mesoamericana*.
- Curvetto, N. (2004). *Comisión Nacional de Investigación Científica y Estudios Tecnológicos*. Obtenido de Biotecnología en Hongos Superiores. Parte I. Sus posibilidades presentes y futuras: chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/30434/CONICET_Digital_Nro.7d79e416-207d-439e-a3cd-87e3a0b8fa55_B.pdf.pdf?sequence=5&isAllowed=y#:~:text=Las%20biotecnolog%C3%ADas%20que%20emplean%20hongos
- da Silva, N., Nakassugi, L., Pinheiro, J., Kohiyama, C., Mossini, S., Grespan, R., . . . Machinski, M. J. (2015). Antifungal activity and inhibition of fumonisin production by *Rosmarinus officinalis* L. essential oil in *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg. *Food Chemistry*.
- Da, X., Nishiyama, Y., Tie, D., Hein, Z., Yamamoto, O., & Morita, E. (2019). Antifungal activity and mechanism of action of Ou-gon (*Scutellaria* root extract) components against pathogenic fungi. *Scientific Reports*.
- De Ligne, L., Vidal-Diez, G., Baetens, J., Van den Bulcke, J., Van Acker, J., & De Baets, B. (2019). Analysis of spatio-temporal fungal growth dynamics under different environmental conditions. *IMA fungus*.
- DECCO Naturally Postharvest. (28 de 10 de 2020). *Infección por Fusarium sp.: cómo controlarla en postcosecha*. Obtenido de ENFERMEDADES POSTCOSECHA, FUNGICIDAS, FUSARIUM, PATÓGENOS: deccoiberica.es/infeccion-por-fusarium-sp-como-controlarla-en-postcosecha/
- Dracatos, P., Van der Weerden, N., Carroll, K., Johnson, E., Plummer, K., & Anderson, M. (2013). Inhibition of cereal rust fungi by both class I and II defensins derived from the flowers of *Nicotiana glauca*. *Molecular Plant Pathology*.
- Du, T., Karunarathna, S., Zhang, X., Dai, D., Mapook, A., Suwannarach, N., . . . Tibpromma, S. (2022). Endophytic Fungi Associated with *Aquilaria sinensis* (Agarwood) from China Show Antagonism against Bacterial and Fungal Pathogens. *Journal of Fungi*.
- EIAhwany, A., Ghazlan, H., ElSharif, H., & Sabry, S. (2013). Phylogenetic diversity and antimicrobial activity of marine bacteria associated with the soft coral *Sarcophyton glaucum*. *J Basic Microbiol*.

- El-Ashmony, R., Zaghoul, N., Milošević, M., Mohany, M., Al-Rejaie, S., Abdallah, Y., & Galal, A. (2022). The Biogenically Efficient Synthesis of Silver Nanoparticles Using the Fungus *Trichoderma harzianum* and Their Antifungal Efficacy against *Sclerotinia sclerotiorum* and *Sclerotium rolfsii*. *Journal of Fungi*.
- Fernández, P. (2015). *Velázquez. Farmacología básica y clínica*. Madrid: Médica Panamericana.
- Fernando, K., Reddy, P., Hettiarachchige, I., Spangenberg, G., Rochfort, S., & Guthridge, K. (2020). Novel antifungal activity of *Lolium*-associated *Epichloë* endophytes. *Microorganisms*.
- Fisher, M., Gurr, S., Cuomo, C., Blehert, D., Jin, H., Stukenbrock, E., . . . Cowen, L. (2020). Threats posed by the fungal kingdom to humans, wildlife, and agriculture. *MBio*.
- Gaviria, R., Giraldo, L. A., Santa, C. C., & Cano, R. L. (2018). Molecular identification of clinical isolates of *Fusarium* in Colombia. *Revista de Salud Pública*.
- González, M., Tzintzun, C., Méndez, T., Ceceña, D., Duran, H., & Grimaldo, J. (2022). Inoculantes comerciales en Baja California, México: calidad y capacidad de biocontrol de hongos fitopatógenos. *Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales*.
- Hashem, A., Shehabeldine, A., Abdelaziz, A., Amin, B., & Sharaf, M. (2022). Antifungal Activity of Endophytic *Aspergillus terreus* Extract Against Some Fungi Causing Mucormycosis: Ultrastructural Study. *Applied Biochemistry and Biotechnology*.
- Hassan, M., Soliman, M., Al-Otaibi, S., El-Shehawi, A., Taha, E., & Sayed, S. (2022). The effectiveness of *Xanthium strumarium* L. extract and *Trichoderma* spp. against pomegranate isolated pathogenic fungi in Taif, Saudi Arabia. *Journal of King Saud University*.
- Hassine, M., Aydi-Ben-Abdallah, R., Jabnoun-Khiredine, H., & Daami-Remadi, M. (2022). Soil-borne and compost-borne *Penicillium* sp. and *Gliocladium* spp. as potential microbial biocontrol agents for the suppression of anthracnose-induced decay on tomato fruits. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*.
- Hewedy, O., Abdel Lateif, K., Seleiman, M., Shami, A., Albarakaty, F., & M El-Meihy, R. (2020). Phylogenetic Diversity of *Trichoderma* Strains and Their Antagonistic Potential against Soil-Borne Pathogens under Stress Conditions. *Biology (Basel)*.
- Hof, H. (2020). The medical relevance of *Fusarium* spp. *Journal of Fungi*.
- Ibrahim, S., Abdallah, H., Elkhayat, E., Al Musayeib, N., Asfour, H., Zayed, M., & Mohamed, G. (2017). Fusaripeptide A: new antifungal and anti-malarial cyclodepsipeptide from the endophytic fungus *Fusarium* sp. *J Asian Nat Prod Res*.
- Imran, M., Abo-Elyousr, K., Mousa, M., & Saad, M. (2022). Screening and biocontrol evaluation of indigenous native *Trichoderma* spp. against early blight disease and their field assessment to alleviate natural infection. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*.
- Jaramillo, C. (2018). Evaluación de la actividad antifúngica del extracto de *Usnea laevis* en hongos fitopatógenos. *Bol.Micol*.

- Khalaf, E., & Raizada, M. (2018). Bacterial seed endophytes of domesticated cucurbits antagonize fungal and oomycete pathogens including powdery mildew. *Frontiers in microbiology*.
- Kumar, S., & Kaushik, N. (2013). Endophytic Fungi Isolated from Oil-Seed Crop *Jatropha curcas* Produces Oil and Exhibit Antifungal Activity. *PLOS ONE*.
- Kunova, A., Bonaldi, M., Saracchi, M., Pizzatti, C., Chen, X., & Cortesi, P. (2016). Selection of *Streptomyces* against soil borne fungal pathogens by a standardized dual culture assay and evaluation of their effects on seed germination and plant growth. *BMC microbiology*.
- Lahlali, R., Mchacti, O., Radouane, N., Ezrari, S., Belabess, Z., Khayi, S., . . . Ait Barka, E. (2020). The potential of novel bacterial isolates from natural soil for the control of brown rot disease (*Monilinia fructigena*) on apple fruits. *Agronomy*.
- Li, C., Wang, J., Luo, C., Ding, W., & Cox, D. (2014).) A new cyclopeptide with antifungal activity from the co-culture broth of two marine mangrove fungi. *Natural Product Research*.
- Lilley, L., Collins, S., & Snyder, J. (2020). *Farmacología y proceso enfermero*. España: Elsevier Health Sciences.
- Lima, L. Y., Guzmán, G. V., López, L. Y., & Satchwell, R. R. (2019). La medicina tradicional herbolaria en los sistemas de salud convencionales. *Humanidades Medicas*.
- Liu, F., Yang, S., Xu, F., Zhang, Z., Lu, Y., Zhang, J., & Wang, G. (2022). Characteristics of biological control and mechanisms of *Pseudomonas chlororaphis* zm-1 against peanut stem rot. *BMC microbiology*.
- Liu, Q., Meng, X., Li, Y., Zhao, C., Tang, G., & Li, H. (2017). Antibacterial and Antifungal Activities of Spices. *Int J Mol Sci*.
- Lu, L., Karunarathna, S., Hyde, K., Suwannarach, N., Elgorban, A., Stephenson, S., . . . Tibpromma, S. (2022). Endophytic Fungi Associated with Coffee Leaves in China Exhibited In Vitro Antagonism against Fungal and Bacterial Pathogens. *Journal of Fungi*.
- Madrid, V. A., Díaz, P. K., González, T. C., Catalán, M. K., & Espinoza, C. L. (2014). Antiphytopathogenic activity of *Psoralea glandulosa* (Fabaceae) against *Botrytis cinerea* and *Phytophthora cinnamomi*. *Natural Product Research*.
- Mahlo, S., Chauke, H., McGaw, L., & Eloff, J. (2016). Antioxidant and antifungal activity of selected medicinal plant extracts against phytopathogenic fungi. *Afr J Tradit Complement Altern Med*.
- Mannai, S., & Boughalleb, M. (2022). In vitro and in planta potential effect of some indigenous antagonists against *Fusarium* and pythiaceous species associated with peach seedlings decline. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*.
- Manzo, S., Orozco, S., Martínez, B., Garrido, R., & Canto, C. (2014). Revista Mexicana de Fitopatología. *Enfermedades de importancia cuarentenaria y económica del cultivo de banano (Musa sp.) en México*.
- Martinuz, A. (2020). Interacción entre el hongo endofítico *Fusarium oxysporum* cepa 162 y la bacteria endofítica *Rhizobium etli* cepa G12. *La Calera*.

- Maury, C. K. (2018). Microorganismos como biocontroladores de fitopatógenos en post cosecha de cítricos. *Microciencia*.
- Meruvu, H., & Donthireddy, S. (2014). Purification and characterization of an antifungal chitinase from *Citrobacter freundii* str. nov. haritD11. *Appl Biochem Biotechnol*.
- Miller, S., Ferreira, J., & LeJeune, J. (2022). Antimicrobial Use and Resistance in Plant Agriculture: A One Health Perspective. *Agriculture*.
- Mohamed, H., Ebrahim, W., El-Neketi, M., Awad, M., Zhang, H., Zhang, Y., & Song, Y. (2022). In Vitro Phytobiological Investigation of Bioactive Secondary Metabolites from the *Malus domestica*-Derived Endophytic Fungus *Aspergillus tubingensis* Strain AN103. *Molecules*.
- Monaco, C., Perello, A., & Rollan, M. C. (1994). In vitro tests of the antagonistic behavior of *Trichoderma* spp. against pathogenic species of the horticultural region of La Plata, Argentina. *Microbiologia (Madrid, España)*.
- Monzón, A., & Rodríguez, J. (2000). Infecciones causadas por el género *Fusarium*. *Servicio de Micología. Centro Nacional de Microbiología*.
- Muñoz, B., Cerrada, M., & Fernández, G. (2013). *Polymeric materials with antimicrobial activity: from synthesis to applications*. Cambridge: Royal Society of Chemistry.
- Niem, J., Billones-Baaijens, R., Stodart, B., & Savocchia, S. (2020). Diversity profiling of grapevine microbial endosphere and antagonistic potential of endophytic *Pseudomonas* against grapevine trunk diseases. *Frontiers in microbiology*.
- Olivares, R., Luppi, M., & Díaz, M. (2018). Tratamiento exitoso de una fusariosis diseminada en un paciente neutropénico febril con terapia antifúngica combinada de voriconazol más anfotericina B deoxicolato. *Rev Chilena Infectol*.
- Omareda, V. (23 de Marzo de 2018). *Universidad Norbert Wie*. Obtenido de Repositorio Digital UWIENER: <https://repositorio.uwiener.edu.pe/xmlui/handle/123456789/2148>
- OMS. (13 de Octubre de 2020). *Organización Mundial de la Salud*. Obtenido de Resistencia a los antimicrobianos: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance#:~:text=%C2%BFQu%C3%A9%20son%20los%20antimicrobianos%3F,los%20animales%20y%20las%20plantas>.
- OMS. (31 de Julio de 2020). *Organización Mundial de la Salud*. Obtenido de Resistencia a antibioticos: <https://who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/resistencia-a-los-antib%C3%B3ticos>
- Paredes, F., & Roca, J. (2004). Acción de los antibióticos. Perspectiva de la medicación antimicrobiana. *Offarm*, 116-124.
- Passera, A., Venturini, G., Battelli, G., Casati, P., Penacaa, F., Quaglinoa, F., & Bianco, P. (2017). Competition assays revealed *Paenibacillus pasadenensis* strain R16 as a novel antifungal agent. *Microbiological Research*.
- Peng, Y., Li, S., Yan, J., Tang, Y., Cheng, J., Gao, A., . . . Xu, B. (2021). Research progress on phytopathogenic fungi and their role as biocontrol agents. *Frontiers in Mricobiology*.

- Pérez, M., Ploetz, R., & Konkol, J. (2018). Significant in vitro antagonism of the laurel wilt pathogen by endophytic fungi from the xylem of avocado does not predict their ability to control the disease. *Plant Pathology*.
- Pérez, R., González, T., & Muñoz, J. (2014). Antagonismo microbiano asociado a cepas bacterianas provenientes de jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) y maíz (*Zea Mays*). *Revista Iberoamericana de Ciencias*.
- Pérez, T. E., Bernal, C. A., Milanés, V. P., Sierra, R. Y., Leiva, M. M., Marín, G., & Monteagudo, H. O. (2018). Eficiencia de *Trichoderma harzianum* (cepa a-34) y sus filtrados en el control de tres enfermedades fúngicas foliares en arroz. *Bioagro*.
- Perlin, D., Rutemaa, R., & Alastruey, A. (2017). The global problem of antifungal resistance: prevalence, mechanisms, and management. *The Lancet Infectious Diseases*.
- Phukhamsakda, C., Nilsson, H., Bhunjun, S., Gomes, A., Sun, Y., Wijesinghe, S., . . . Promp. (2022). The numbers of fungi: contributions from traditional taxonomic studies and challenges of metabarcoding. *Fungal Diversity*.
- Prada, H., Avila, L., Sierra, R., Bernal, A., & Restrepo, S. (2009). Caracterización morfológica y molecular del antagonismo entre el endofito *Diaporthe* sp. aislado de frailejón (*Espeletia* sp.) y el fitopatógeno *Phytophthora infestans*. *Revista Iberoamericana de Micología*.
- Rajkowska, K., a Kunicka-Styczynska, A., & Maroszynska, M. (2016). Selected Essential Oils as Antifungal Agents Against Antibiotic-Resistant *Candida* spp.: In Vitro Study on Clinical and Food-Borne Isolates. *Microbial Drug Resistance*.
- Ramírez, J., Fernandez, E. D., Rodolfi, M., & Solveig, T. (2006). Actividad antagónica de hongos endófitos de plantas medicinales del Ecuador sobre bacterias patógenas. *Boletín micológico*.
- Rashad, Y., Abdalla, S., & Shehata, A. (2022). *Aspergillus flavus* YRB2 from *Thymelaea hirsuta* (L.) Endl. a non-aflatoxigenic endophyte with ability to overexpress defense-related genes against *Fusarium* root rot of maize. *BMC Microbiology*.
- Rashad, Y., Abdel, R., & Darwish, D. (2022). Essential oil from *Lavandula angustifolia* elicits expression of three SbWRKY transcription factors and defense-related genes against sorghum damping-off. *Sci Rep*.
- Revankar, G. (04 de 2021). *Manual MSD*. Obtenido de Fármacos antimicóticos: https://www.msdmanuals.com/es/professional/enfermedades-infecciosas/hongos/f%C3%A1rmacos-antimic%C3%B3ticos#v1011831_es
- Reyes, R., Cristóbal, A., Ruiz, S., & Tun, S. (2012). Inhibición del crecimiento in vitro de *Fusarium* sp. aislado de chile habanero (*Capsicum chinensis*) con Inhibición del crecimiento in vitro de *Fusarium* sp. aislado de chile habanero (*Capsicum chinensis*) con hongos antagonistas. *Fitosanidad*.
- Rios, V., Caro, C. J., Berlanga, R. D., Ruiz, C. M., Ornelas, P. J., Salas, M. M., . . . Guerrero, P. V. (2016). Identification and antagonistic activity in vitro of *Bacillus* spp. and *Trichoderma* spp. isolates against common phytopathogenic fungi. *Revista Mexicana de Fitopatología*.

- Robbins, N., Wright, G., & Cowen, L. (2016). Antifungal Drugs: The Current Armamentarium and Development of New Agents. *Microbiol Spectr.*
- Robledo, D. (2016). Enfermedad de marchitamiento fúngico en plántulas de lechuga: un modelo didáctico-experimental para la enseñanza de los postulados de Koch. *Revista Eureka sobre Enseñanza y Divulgación de las Ciencias.*
- Robles, Y., Leyva, M., Cruz, G., Camacho, T., Nieto, A., & Tovar, P. (2016). Fusarium oxysporum Schldl. y Fusarium solani (Mart.) Sacc. causantes de la marchitez de plántulas de Pinus spp. en vivero. *Revista mexicana de ciencias forestales.*
- Rodríguez, G. J., González, M. G., & Montoya, M. A. (2022). Fusarium: un fitopatógeno que amenaza la salud humana. *Ciencia UANL.*
- Rodríguez, I. C., & Flores, J. (2018). Capacidad antagonica in vitro de Trichoderma spp. frente a Rhizoctonia solani Kuhn y Fusarium verticillioides Nirenberg. *Bioagro.*
- Rodríguez, M., Rothen, C., Lo, T., Cabrera, G., & Godeas, A. (2015). Suppressive soil against Sclerotinia sclerotiorum as a source of potential biocontrol agents: selection and evaluation of Clonostachys rosea BAFC1646. *Biocontrol Science and Technology.*
- Schöneberg, A., Musa, T., Voegelé, R., & Vogelgsang, S. (2015). The potential of antagonistic fungi for control of Fusarium graminearum and Fusarium crookwellense varies depending on the experimental approach. *J Appl Microbiol.*
- SENASICA. (29 de 09 de 2019). *Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria.* Obtenido de Top 5: Hongos de importancia en la Fitosanidad: <http://sinavef.senasica.gob.mx/CNRF/AreaDiagnostico/NotasCarrusel/Nota3>
- Senouci, H., Benyelles, N., Dib, M., Costa, J., & Muselli, A. (2020). Ammoides verticillata Essential Oil as Biocontrol Agent of Selected Fungi and Pest of Olive Tree. *Recent Pat Food Nutr Agric.*
- Serrano, C., & Cardona, C. (2015). Micotoxicosis y micotoxinas: generalidades y aspectos básicos. *Ces Medicina.*
- Sha, R., & Meng, Q. (2016). Antifungal activity of rhamnolipids against dimorphic fungi. *J. Gen. Appl. Microbiol.*
- Shi, Y., Liu, F., Jacob, M., Li, X., Zhu, H., Wang, D., . . . YJ., Z. (2016). Antifungal Amide Alkaloids from the Aerial Parts of Piper flaviflorum and Piper sarmentosum. *Planta Medica.*
- Shuping, D., & Eloff, J. (2017). The use of plants to protect plants and food against fungal pathogens: A review. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines.*
- Sieniawska, E., Baj, T., Los, R., Skalicka-Wozniak, K., Malm, A., & Glowniak, K. (2013). Phenolic acids content, antioxidant and antimicrobial activity of Ligusticum mutellina L. *Natural Product Research.*
- Silva, H., Wedge, D., Cantrell, C., Carvalho, C., Pan, Z., Moraes, R., . . . Rosa, L. (2015). Diversity and antifungal activity of the endophytic fungi associated with the native medicinal cactus Opuntia humifusa (Cactaceae) from the United States. *Microbiological Research.*

- Smoglica, C., Angelucci, S., Farooq, M., Antonucci, A., Marsilio, F., & Di Francesco, C. (2022). Microbial community and antimicrobial resistance in fecal samples from wild and domestic ruminants in Maiella National Park, Italy. *One Health*.
- Tacca, B. L., Yataco, R. J., Farfán, A. A., Calderón, L. M., & Cantoral, J. C. (2022). Antibiosis y micoparasitismo de hongos endófitos sobre el agente causal del moho gris del arándano (*botrytis cinerea*). *Bioagro*.
- Talley, S., Coley, P., & Kursar, T. (2002). The effects of weather on fungal abundance and richness among 25 communities in the Intermountain West. *BMC Ecol*.
- Tejera, B., Heydrich, M., & Rojas, M. (2012). Antagonismo de *Bacillus* spp. frente a hongos fitopatógenos del cultivo del arroz (*Oryza sativa* L.). *Revista de Protección Vegetal*.
- Torres, J., & Romero, H. (2012). Actividad antifúngica in vitro del ajoeno en cinco aislamientos clínicos de *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum*. *Revista Iberoamericana de Micología*.
- Urguelles, C. I., Abreu, A., Abreu, R. N., Díaz, R. A., & Fernandez, M. Y. (2020). Actividad Antagónica in vitro de *Trichoderma* sp frente a *Fusarium* sp. *Cub@: Medio ambiente y desarrollo*.
- Van Doorn, H. (2017). Emerging infectious diseases. *Medicine*.
- Velásquez, V., Reveles, H., & Reveles, T. (2017, Noviembre). *Centro de Investigación Regional Norte Centro Campo Experimental Zacatecas*. Retrieved from Identificación de enfermedades causadas por hongos en cultivos de Aguascalientes, Durango y Zacatecas.: chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/http://zacatecas.inifap.gob.mx/publicaciones/Folleto%20Tecnico%2090.pdf
- Villa, M., Pérez, L., Morales, M., Basurto, S., Soto, P., & Martínez, E. (2015). Situación actual en el control de *Fusarium* spp. y evaluación de la actividad antifúngica de extractos vegetales. *Acta Agronómica*.
- Wang, Q., Bao, L., Yang, X., Guo, H., Yang, R., Ren, B., . . . Liu, H. (2012). Polyketides with antimicrobial activity from the solid culture of an endolichenic fungus *Ulocladium* sp. *Fitoterapia*.
- Wang, R., Liang, X., Long, Z., Wang, X., Yang, L., Lu, B., & Gao, J. (2021). An LCI-like protein APC2 protects ginseng root from *Fusarium solani* infection. *Journal of Applied Microbiology*.
- Wang, T., Wu, M., Chen, Z., Lin, J., & Yang, L. (2015). Separation, determination and antifungal activity test of the products from a new *Bacillus amyloliquefaciens*. *Natural Product Research*.
- Watanabe, T. (2002). *Pictorial atlas of soil and seed fungi: morphologies of cultured fungi and key to species*. CRC press.
- Wilson, D. (2021). The role of zinc in the pathogenicity of human fungal pathogens. *Adv Appl Microbiol*.
- Wu, B., Hussain, M., Zhang, W., Stadler, M., Liu, X., & Xiang, M. (2019). Current insights into fungal species diversity and perspective on naming the environmental DNA sequences of fungi. *Mycology*.

Xu, L., Meng, W., Cao, C., Wang, J., Shan, W., & Wang, Q. (2015). Antibacterial and antifungal compounds from marine fungi. *Marine drugs*.

Zehra, A., Dubey, M., Meena, M., & Upadhyay, R. (2017). Effect of different environmental conditions on growth and sporulation of some Trichoderma species. *Journal of Environmental Biology*.