UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS
MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

MANEJO DE LA MARCHITEZ VASCULAR DE *Agave spp.* MEDIANTE TRATAMIENTOS BIORRACIONALES DICARM-1321

TESIS

QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

PRESENTA

MARÍA DEL CARMEN CORONA RODRÍGUEZ

TUTOR ACADÉMICO

DR. AMAURY MARTÍN ARZATE FERNÁNDEZ

TUTORES ADJUNTOS

DRA. HILDA GUADALUPE GARCÍA NÚÑEZ

DRA. VALENTINA LAMUS MOLINA

CAMPUS UNIVERSITARIO "EL CERRILLO", TOLUCA, MÉXICO, JUNIO DE 2026

ÍNDICE

Núm.	Descripción	Página
	DEDICATORIAS	**i**
	AGRADECIMIENTOS	**ii**
	ÍNDICE	**iii**
	RESUMEN	**iv**
	ABSTRACT	**v**
I.	**INTRODUCCIÓN GENERAL**	**1**
II.	**REVISIÓN DE LITERATURA**	**2**
	2.1 Origen, distribución, domesticación e importancia socio-económica de *Agave* spp.	**2**
	2.2 *Agave cupreata* especie endémica de la Depresión del Balsas	**3**
	2.3 Complejo *Fusarium* agente causal de la marchitez vascular en *Agave* spp.	
	2.4 Marchitez vascular en *Agave spp*. causada por *Fusarium oxysporum*	**4**
	2.5 Control de *F. oxysporum*	**4**
III.	**JUSTIFICACIÓN**	**5**
IV.	**HIPÓTESIS**	**6**
V.	**OBJETIVOS**	**7**
VI.	**MATERIALES Y MÉTODOS**	**8**
	6.1 Descripción metodológica del artículo publicado	**8**
	6.2 Descripción metodológica del artículo enviado	**8**
	6.2.1 Material biológico	**8**
	6.2.2 Identificación morfológica de *Trichoderma* sp.	**8**
	6.2.3 Identificación molecular de *Trichoderma* sp.	**9**
	6.3 Pruebas de patogenicidad	**9**
	6.4 Pruebas de antagonismo *in vitro* entre *T. longibrachiatum* y tres cepas de *F. oxysporum* (FUSA, FUSB y FUSC)	**10**
	6.5 Evaluación del antagonismo de *T. longibrachiatum* para evaluar el control de la marchitez bascular en *Agave cupreata* bajo condiciones de invernadero	**10**
	6.5.1 Primer análisis microbiológico del sustrato	**10**
	6.5.2 Pruebas en invernadero	**11**
	6.5.3 Segundo análisis microbiológico del sustrato	**11**
	6.5.4 Efecto de la interacción de *T. longibrachiatum* vs. *F. oxysporum*	**12**
	6.6 Diseño experimental y análisis estadístico	**12**
VII.	**RESULTADOS**	**13**
	7.1 Artículo publicado: Impact and control prospects of the *Fusarium* complex, associated to wilt in *Agave* and other crops	**14**
	7.2 Artículo enviado: Evaluación del efecto antagónico de *Trichoderma longibrachiatum* contra el complejo *Fusarium oxysporum* en *Agave cupreata* bajo condiciones de invernadero	**39**
VIII.	**DISCUSIÓN GENERAL**	**71**

8.1 Impact and control prospects of the *Fusarium* complex, associated to wilt in *Agave* and other crops **71**
8.2 Evaluación del efecto antagónico de *Trichoderma longibrachiatum* contra el complejo *Fusarium oxysporum* en *Agave cupreata* bajo condiciones de invernadero **71**
8.2.1 Identificación morfológica y molecular de *Trichoderma longibrachiatum* **71**
8.2.2 Pruebas de patogenicidad **72**
8.2.3 Pruebas de antagonismo *in vitro* entre *T. longibrachiatum* y tres cepas de *F. oxysporum* (FUSA, FUSB y FUSC) **72**
8.2.4 Análisis microbiológico del sustrato **73**
8.2.5 Pruebas en invernadero **73**
IX. CONCLUSIONES GENERALES **76**
X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS **77**

RESUMEN

El complejo *Fusarium* es el agente causal de la marchitez vascular en *Agave* sp., enfermedad que inicia en raíces, tallo/piña y hojas, afectando de manera significativa el rendimiento y la calidad de bebidas tradicionales como pulque, mezcal y tequila. El control preferente mediante el uso intensivo de productos químicos sintéticos ha generado consecuencias negativas: resistencia del patógeno, impacto ambiental y riesgos para la salud humana. Ante esta problemática, se realizó una revisión bibliográfica sistemática de 30 años (1994–2024) siguiendo el protocolo PRISMA, con búsqueda en plataformas como Science Direct, Redalyc, Scielo, Scopus, Google Scholar, Google Académico y PubMed. Se emplearon como palabras clave: complejo *Fusarium*, marchitez vascular, agave y métodos de control. El análisis permitió identificar los métodos de control más reportados en agave y otros cultivos de importancia agrícola, entre ellos: sílice, ozono, aceites esenciales, agua ácida, micorrizas, nanopartículas, ácido salicílico, extractos vegetales y el biocontrol con agentes antagonistas (*Trichoderma* y *Bacillus*). Este último fue mencionado en el 33% de los estudios revisados. Con base en estos hallazgos, se evaluó el efecto antagónico de *Trichoderma longibrachiatum* frente a tres cepas de *Fusarium oxysporum* (FUSA, FUSB y FUSC) en plantas de *Agave cupreata*, bajo condiciones de invernadero. Se aplicaron 13 tratamientos en un diseño completamente al azar, bajo la hipótesis de que el control biorracional superaría al químico en la reducción de la incidencia de la marchitez. El enfoque metodológico incluyó la evaluación de la patogenicidad de *F. oxysporum* en *A. cupreata* y *Aloe vera* donde la cepa FUSA resultó la más agresiva en la producción de síntomas de la enfermedad en ambas especies, así como la evaluación del antagonismo *in vitro* en cultivos duales y bajo condiciones de invernadero en planta, entre *T. longibrachiatum* y las tres cepas de *F. oxysporum*. No se detectaron diferencias estadísticas en las variables respuesta: incidencia de la enfermedad, nivel de daño, número de hojas, número de raíces, longitud de las raíces y diámetro horizontal y vertical de las piñas, entre los tratamientos probados en invernadero, revelando que los tratatamientos biológicos (*T. longibrachiatum vs. F. oxysporum*) y el químico (Sulfato de cobre pentahidratado) se comportaron estadísticamente igual. Sin embargo, al seccionar y rasurar las piñas ya desinfectadas de las mismas plantas tratadas, y luego colocadas en cámaras húmedas para estimular el crecimiento de raíces, los explantes resultantes se sembraron en PDA durante 10 días hasta observar el crecimiento de ambos hongos. Posteriormente, se reaislaron y resembraron *in vitro* en cultivos duales para evaluar su antagonismo, resultando positivo el

efecto antagónico de *T. longibrachiatum* sobre las cepas FUSB y FUSC de *F. oxysporum*. Dado que los tratamientos probados biológicos *vs*. químicos se comportaron igual, se sugirió el empleo de *T. longibrachiatum* como estrategia biorracional alternativa para el control ecológicamente sostenible y económico de la marchitez vascular en esta especie.

Palabras clave: *Agave*, antagonismo, patógeno, marchitamiento.

ABSTRACT

The *Fusarium* complex is the causal agent of vascular wilt in *Agave* sp., a disease that begins in the roots, stem/piña (heart), and leaves, significantly affecting the yield and quality of traditional beverages such as pulque, mezcal, and tequila. The preferential control method, relying on the intensive use of synthetic chemicals, has led to negative consequences: pathogen resistance, environmental impact, and risks to human health. In response to this problem, a systematic literature review of 30 years (1994–2024) was conducted following the PRISMA protocol, searching platforms such as ScienceDirect, Redalyc, SciELO, Scopus, Google Scholar, Google Apps, and PubMed. The keywords used were: Fusarium complex, vascular wilt, agave, and control methods. The analysis identified the most frequently reported control methods in agave and other agriculturally important crops, including silica, ozone, essential oils, acidic water, mycorrhizae, nanoparticles, salicylic acid, plant extracts, and biocontrol with antagonistic agents (*Trichoderma* and *Bacillus*). The latter was mentioned in 33% of the reviewed studies. Based on these findings, the antagonistic effect of *Trichoderma longibrachiatum* against three strains of *Fusarium oxysporum* (FUSA, FUSB, and FUSC) was evaluated in *Agave cupreata* plants under greenhouse conditions. Thirteen treatments were applied in a completely randomized design, based on the hypothesis that biorational control would outperform chemical control in reducing the incidence of wilt. The methodological approach included evaluating the pathogenicity of *F. oxysporum* in *A. cupreata* and *Aloe vera*, where the FUSA strain proved to be the most aggressive in producing disease symptoms in both species. *In vitro* antagonism was also evaluated in dual cultures and under greenhouse conditions in plants between *T. longibrachiatum* and the three *F. oxysporum* strains. No statistically significant differences were detected in the response variables—disease incidence, damage level, number of leaves, number of roots, root length, and horizontal and vertical diameter of the cones—among the treatments tested in the greenhouse. This revealed that the biological (*T. longibrachiatum vs. F. oxysporum*) and chemical (copper sulfate pentahydrate) treatments behaved statistically similarly. However, after sectioning and shaving the disinfected cones of the treated plants and placing them in humid chambers to stimulate root growth, the resulting explants were planted on PDA for 10 days until growth of both fungi was observed. Subsequently, they were re-isolated and re-cultured *in vitro* in dual

cultures to evaluate their antagonism. The antagonistic effect of T. longibrachiatum on the FUSB and FUSC strains of *F. oxysporum* was positive. Since the tested biological and chemical treatments performed similarly, the use of *T. longibrachiatum* was suggested as an alternative biorational strategy for the ecologically sustainable and economical control of vascular wilt in this species.

Keywords: *Agave*, antagonism, pathogen, wilt.

I. INTRODUCCIÓN GENERAL

El origen del género *Agave* se calcula entre los 7 y 10 millones de años de acuerdo a Eguiarte *et al*. (2000), se encuentra distribuido desde el Sur de Estados Unidos hasta el Norte de Sudamérica; su domesticación data de 12-14,000 años a la fecha (Ruíz-Mondragón, 2025). Su importancia radica en todos los productos derivados de este género: alimento, fibras textiles, forraje, extractos medicinales y destilados alcohólicos, como el tequila, mezcal, comiteco y bacanora (Ramírez, 1995). La enfermedad de la marchitez vascular en los agaves ocasionada por el complejo *Fusarium* ha provocado pérdidas que van del 30 al 100% en las explotaciones según López-Bautista *et al*. (2019), esto ha disminuido el rendimiento de las piñas y su calidad (DGSV-CNRF, 2017; Gobierno Federal, 2013). Para el control de esta enfermedad se ha recurrido a los tratamientos químicos que la han controlado, sin embargo, esto ha elevado la contaminación ambiental, en detrimento de la flora, la fauna y el mismo hombre (Martínez-Palacios *et al*., 2015). Desde hace 30 años se han propuesto alternativas de solución biorracionales, tales como, control legal (Gobierno Federal, 2013), control cultural que implica acciones como los policultivos, cubiertas vegetales y desinfección de las herramientas utilizadas, entre otras (Tlapal-Bolaños *et al*., 2014), nanopartículas de plata (AgNPs) (Álvarez-Carvajal *et al*., 2020), el ozono (García-Chamizo *et al*., 2020), extractos y esencias vegetales (Villa-Martínez *et al*., 2015), además del efecto antagónico de microorganismos como los géneros *Bacillus*, *Beauveria*, *Trichoderma*, *Paecilomyces* (Ayala *et al*., 2018).

En la presentación de este trabajo primero se analizó y tipificó al complejo *Fusarium* spp. para comprender sus mecanismos de infección y ciclo biológico, y estar en condiciones de proponer las alternativas más viables y sustentables en el control de este hongo. Por tanto, primero se presenta una revisión bibliográfica que permita conocer el mecanismo de acción de *Fusarium* spp. y las formas más efectivas para su control. Para ello, se estableció una metodología basada en el protocolo de la declaración PRISMA 2020 (Prefered Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses), en este análisis se incluyeron las siguientes plataformas Since Direct, Redalyc, Scielo, Scopus, Google scholar, Google académico y Pubmed. Con los resultados de esta información, se estableció un ensayo de trece tratamientos para probar el efecto de *Trichoderma longibrachiatum* contra *Fusarium oxysporum*, así como un tratamiento químico comercial, bajo condiciones de invernadero.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

21 Origen, distribución, domesticación e importancia socio-económica de *Agave* spp.

El género *Agave* spp. se originó hace aproximadamente entre 7 y 10 millones de años en América (Eguiarte *et al*., 2000); se distribuye desde el Sur de los Estados Unidos hasta el norte de Sudamérica incluyendo a las islas del Caribe, su domesticación data de 12-14,000 años a la fecha (Ruíz-Mondragón, 2025). Su importancia radica en todos los productos derivados de este género: alimento, fibras textiles, forraje, extractos medicinales y destilados alcohólicos, como el tequila, mezcal, comiteco y bacanora (Ramírez, 1995). De las 211 especies de *Agave* que existen en este continente, el 75% (159) prosperan en México (García-Mendoza, 2018), considerado centro de origen, diversidad morfológica, filogenética y evolutiva de este género (García-Herrera *et al.*, 2010). En México la distribución de esta planta va desde el norte hasta el sur de la República Mexicana siendo el estado de Oaxaca la zona con mayor diversidad de agaves. Actualmente este género se investiga desde varios puntos de vista, desde estudios que abarcan el manejo agroecológico, bioquímico, fisiológico y especialmente aplicaciones en biotecnología como su uso en biocombustibles, bebidas, alimentos, fibras y obtención de metabolitos secundarios con aplicaciones farmacéuticas (Naivy *et al*., 2015). En el sector productivo y económico la industria de bebidas es considerada la de mayor potencial para la producción de pulque, mezcal, tequila, bacanora y comiteco (Pérez-Hernández *et al*., 2016), donde destaca la producción de tequila y mezcal, ya que representa el 18.6% de la producción total bruta, y en donde el tequila registró una participación de alrededor del 87% de la producción y el mezcal el 13 %. Según los censos económicos de 2014, por cada 100 pesos de bebidas alcohólicas que se producen, casi 20 pesos corresponden al tequila y mezcal (INEGI-CAJ, 2019). López-Nava *et al*. (2014) reportaron que a nivel nacional existen 30,000 productores y 625 fábricas que produjeron 8 millones de litros de mezcal con un valor de 1,700 millones de pesos; esto demuestra el impacto económico de estas empresas. Es importante considerar que la planta de *Agave* es la materia prima para la producción de ambas bebidas y su explotación implica miles de toneladas. La calidad en la elaboración de estas bebidas exige cultivos saludables que requieren material vegetativo sano, como semillas, hijuelos, estolones de plantas madre que garanticen su certificación y exportación (CRT, 2020; CRM, 2020). El cultivo de *Agave* spp. es redituable y noble, sin embargo, no se escapa de la presencia de plagas

y enfermedades que limitan el cultivo, tal es el caso, de la marchitez vascular, enfermedad causada por el complejo *Fusarium.*

22 *Agave cupreata* especie endémica de la Depresión del Balsas

Agave cupreata se distribuye en la cuenca del Río Balsas, entre 1200 y 1800 msnm, en los estados de Guerrero y Michoacán, prospera bajo una temperatura media anual de 19.1 °C y una precipitación promedio de 961 mm (Gentry, 1982). De esta especie se obtiene un mezcal de reconocida calidad a nivel nacional e internacional (Mendoza-Celino *et al*., 2017), con una producción anual reportada de 246,017 L (COMERCAM, 2024). No obstante, se trata de una especie endémica catalogada en peligro de extinción (Barrientos-Rivera *et al*., 2020; Colunga-GarcíaMarín *et al*., 2007), que además desempeña un papel fundamental en el nicho ecológico regional (Barrientos-Rivera *et al*., 2020; Martínez-Palacios *et al*., 2015).

23 Complejo *Fusarium* agente causal de la marchitez vascular en *Agave* spp.

El complejo *Fusarium* habita principalmente en el suelo, en condiciones de temperatura de 20-30 °C y humedad superior a 70%. La infección inicia con la penetración del patógeno en el sistema radicular; posteriormente, el micelio y los microconidios obstruyen el transporte de agua y nutrimentos hacia la parte aérea. Los síntomas comprenden clorosis foliar incipiente, enrollamiento y cambio de coloración a tonalidades púrpura, hasta la muerte de la planta (López-Bautista *et al*., 2019; Vega-Ramos *et al*., 2013). Actualmente, es complicado controlar a *Fusarium* debido a que este hongo tiene una larga supervivencia en el suelo gracias a sus estructuras de resistencia como las clamidosporas, sin embargo, para el manejo de la marchitez del agave se han implementado diferentes medidas que van desde el marco legal, dispuestas en el Diario Oficial de la Federación en 2013 hasta otros métodos fitosanitarios de gran importancia y eficiencia. Por esta razón, el objetivo de esta revisión fue realizar un análisis exhaustivo sobre las publicaciones relacionadas con los métodos químicos, biológicos, ecológicos y fitosanitarios enfatizando su uso para el control del complejo *Fusarium* causante de la marchitez vascular en el cultivo de agave y en otros cultivos, así como revisar el impacto ecológico y económico de su aplicación.

24 Marchitez vascular en *Agave* spp. causada por *F. oxysporum*

Entre los principales problemas fitosanitarios que afectan la producción de *Agave* sp. destaca la marchitez vascular del agave, causada por el hongo *Fusarium* sp., patógeno que compromete tanto el rendimiento como la calidad de la piña, órgano de interés para la elaboración de mezcal (DGSV-CNRF, 2017; Gobierno Federal, 2013). Esta enfermedad puede afectar entre 30 y 100% de las plantaciones (López-Bautista *et al*., 2019).

25 Control de *F. oxysporum*

El control convencional se basa en la aplicación de productos químicos que atenúan el avance de los síntomas; sin embargo, su uso continuo ha generado problemas de contaminación ambiental (Martínez-Palacios *et al*., 2015). Como alternativa sostenible, se ha propuesto el empleo de microorganismos antagonistas pertenecientes a los géneros *Bacillus*, *Beauveria*, *Trichoderma*, *Paecilomyces* y micorrizas, todos con actividad antagónica frente a especies del género *Fusarium* (Ayala *et al*., 2018). El género *Fusarium* agrupa hongos cosmopolitas cuyo desarrollo se favorece a temperaturas de 10–25 °C, pH de 5.5 a 6.5 y humedad relativa cercana al 70% (Tlapal Bolaños *et al*., 2014). Por otra parte, *Trichoderma* spp. es un hongo edáfico ampliamente reconocido por su capacidad antagonista frente a diversos fitopatógenos, incluidos *Fusarium* spp. (Hernández-Melchor *et al*., 2019). Se desarrolla preferentemente en suelos con alto contenido de materia orgánica, tolera pH de ácido a ligeramente alcalino (5.5–6.5) y temperaturas entre 20 y 38 °C (Zeilinger *et al*., 2016). Su mecanismo de acción incluye competencia por espacio y nutrimentos, así como micoparasitismo mediado por la producción de metabolitos secundarios y enzimas hidrolíticas capaces de lisar la pared celular del patógeno (Vicente *et al*., 2022; Zeilinger *et al*., 2016). En estudios previos, Guevera and Rodríguez-Gálvez (2006) evaluaron distintos inductores químicos de resistencia contra *Fusarium oxysporum* en algodón, aplicados a semillas y plántulas, e identificaron al sulfato de cobre pentahidratado y al fosfito potásico como los tratamientos más eficaces. Asimismo, Flores *et al*., (2010) señalaron que el control preventivo o correctivo de *Fusarium* sp. en agave tequilero puede lograrse mediante la aplicación de 750 g de sulfato de cobre pentahidratado ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) disueltos en 200 L de agua, dirigidos al cogollo durante otoño e invierno.

III. JUSTIFICACIÓN

En el manejo de plagas y enfermedades se ha utilizado, desde la Revolución Verde, el control químico; no obstante, este método ha generado resistencia en insectos y microorganismos, además de provocar contaminación ambiental y deterioro en la calidad de los alimentos (Martínez-Palacios *et al*., 2015). El impacto económico y social entre los productores de *Agave* spp. debido al daño ocasionado por el complejo *Fusarium* (*F.* o.) ha sido considerable, afectando entre el 30 y el 100% de las explotaciones de *Agave tequilana* en los estados con Denominación de Origen del Tequila (López-Bautista *et al*., 2019). En el caso de *A. cupreata*, esta problemática fitosanitaria es similar en los estados de Michoacán y Guerrero (Trinidad-Cruz *et al*., 2017). Desde hace más de treinta años se han establecido prácticas biorracionales para el control de patógenos, entre ellas el uso de plantas genéticamente resistentes al ataque de plagas y enfermedades, la aplicación de ozono, nanopartículas de plata y otros metales, ácido salicílico, sílice, aceites esenciales y extractos vegetales, así como microorganismos antagonistas del complejo *Fusarium* (*F. oxysporum*). En este sentido, una aportación biorracional de la presente tesis fue evaluar el efecto de *T. longibrachiatum* en el control de tres cepas de *F. oxysporum*, además de un tratamiento químico, probados en *A. cupreata* bajo condiciones de invernadero.

IV. HIPÓTESIS

El tratamiento biorracional presenta mayor eficacia que el manejo químico convencional en planta.

V. OBJETIVOS

5.1 Realizar un análisis exhaustivo sobre las publicaciones relacionadas con los métodos químicos, biológicos y sanitarios para el control de la marchitez vascular en el agave y otros cultivos.

5.2 Analizar el impacto ecológico y económico de su aplicación.

5.3 Evaluar el efecto antagónico de *Trichoderma longibrachiatum* como tratamiento biorracional contra *Fusarium oxysporum* en *A. cupreata* bajo condiciones de invernadero.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Descripción metodológica del artículo publicado

Se llevó a cabo una revisión bibliográfica sistematizada sobre los reportes de evaluación de la eficiencia de los métodos utilizados para el control de la marchitez vascular en agave y otros cultivos, causada por el complejo *Fusarium*. Esta revisión se realizó con base en el protocolo PRISMA (*Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses*), y la búsqueda de información se efectuó en las plataformas Science Direct, Redalyc, Scielo, Scopus, Google Scholar, Google Académico y PubMed. Se emplearon como palabras clave: *Fusarium*, marchitez vascular, agave y métodos de control, considerando como criterio de inclusión un periodo de 30 años (1994-2024).

6.2 Descripción metodológica del artículo enviado

Se desarrolló un experimento para evaluar el efecto antagónico de *Trichoderma longibrachiatum* contra el complejo *Fusarium oxysporum* en *Agave cupreata*, bajo condiciones de invernadero.

6.2.1 Material biológico

Se utilizó una cepa de *Trichoderma* sp. proporcionada por el Laboratorio de Fitopatología del Instituto de Investigación y Capacitación Agropecuaria del Estado de México (ICAMEX), así como tres cepas pertenecientes al complejo *Fusarium oxysporum* (F.o.), denominadas FUSA, FUSB y FUSC, previamente identificadas mediante criterios morfológicos y moleculares (Pérez-Pichardo *et al*., 2025, datos inéditos). Estas cepas fueron aisladas de hojas de *A. cupreata* bajo condiciones de invernadero en julio de 2021. Para las pruebas de patogenicidad se incluyeron adicionalmente hojas de *A. vera* y *H. acupunctata* como especies confirmatorias, con el fin de evaluar la especificidad y el rango potencial de hospedantes.

6.2.2 Identificación morfológica de *Trichoderma* sp.

La identificación morfológica de *Trichoderma* sp. se realizó con los criterios taxonómicos establecidos por Bissett (1984). Las observaciones microscópicas se realizaron con un

microscopio compuesto BOECO Germany, modelo BM-180 AC, utilizando preparaciones temporales teñidas con azul de metileno para facilitar la visualización de las estructuras fúngicas.

6.2.3 Identificación molecular de *Trichoderma* sp.

La identificación molecular de la cepa de *Trichoderma* sp. se llevó a cabo en el Laboratorio de Secuenciación Genómica de la Biodiversidad de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). Para la extracción de ADN se empleó el kit comercial Animal and Fungi DNA Extraction Kit (Jena Bioscience GmbH), siguiendo las instrucciones estrictas del fabricante. La región espaciadora transcrita interna (ITS) del ADN ribosomal se amplificó mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), utilizando un termociclador Eppendorf. Para la amplificación se emplearon los cebadores ITS5f (GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG) (Ward and Adams, 1998) e ITSr4 (TCCTCCGCTTATTGATATGATATGC) (White *et al*., 1990). Las secuencias obtenidas se compararon con aquéllas disponibles en la base de datos GenBank mediante la herramienta Basic Local Alignment Search Tool (BLAST), considerando coincidencias con un porcentaje de identidad superior al 95 %. El análisis filogenético de *Trichoderma* sp. se realizó mediante el método de parsimonia, utilizando el software SEAVIEW.

6.3 Pruebas de patogenicidad

Los postulados de Koch se corroboraron mediante la inoculación de las cepas FUSA, FUSB y FUSC en hojas de *A. cupreata*, *A. vera* (control positivo) y *H. acupunctata* (control negativo), las cuales se mantuvieron en cámaras húmedas durante 15 días a 28 °C, de acuerdo con la metodología descrita por Sierra-Moya *et al*., (2022). Transcurridos 15 días, se observó el crecimiento micelial de las cepas en hojas de *A. cupreata* y *A. vera* (control positivo). A partir del tejido infectado se realizaron aislamientos y preparaciones microscópicas para confirmar la identidad del patógeno, utilizando un microscopio compuesto de BOECO Germany, modelo BM-180 AC (Delgado-Ortiz *et al*., 2016).

6.4 Pruebas de antagonismo *in vitro* entre *T. longibrachiatum* y tres cepas de *F. oxysporum* (FUSA, FUSB y FUDC)

Complementariamente, se evaluó el efecto inhibidor de *T. longibrachiatum* frente a las cepas FUSA, FUSB y FUSC de *F. oxysporum* mediante el método de cultivo dual en PDA. El crecimiento de cada hongo en confrontación, así como el control de cada cepa, se midió con un vernier en milímetros con tres repeticiones por tratamiento (Sánchez-García *et al*., 2017; Sarro Baro *et al*., 2008). Posteriormente, se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) de acuerdo con el método descrito por Worasatit *et al*. (1994), empleando la siguiente fórmula:

$$PICR = [(D_1 - D_2) / D_1] \times 100$$

donde D_1 representa el diámetro de la colonia del patógeno cultivado en ausencia del antagonista y D_2 el diámetro de la colonia del patógeno en confrontación con el antagonista.

6.5 Evaluación del antagonismo de *T. longibrachiatum* para evaluar el control de la marchitez vascular en *Agave cupreata* bajo condiciones de invernadero

6.5.1 Primer análisis microbiológico del sustrato

Se realizó un análisis microbiológico del sustrato utilizado en el establecimiento inicial de 65 plantas de *Agave cupreata* de tres años de edad, para detectar la presencia de *Trichoderma* spp. y *Fusarium* spp. Las plantas se mantuvieron en macetas de 6 pulgadas con una mezcla de peat moss, agrolita y fibra de coco (v/v/v). Se colectó una muestra compuesta de 10 g de sustrato, y se prepararon diluciones decimales seriadas hasta 1×10^{-6}. De cada dilución se inoculó 1 mL por triplicado en cajas Petri con medio Papa Dextrosa Agar (PDA), incubadas a 25±1 °C durante siete días, siguiendo la metodología descrita por Álvarez-Vera *et al*. (2019). Finalmente, las muestras se remitieron al Laboratorio de Microbiología del Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Salud Animal de la Universidad Autónoma del Estado de México (UAEMéx) para su identificación taxonómica.

6.5.2 Pruebas en invernadero

Para evaluar el efecto antagónico de *Trichoderma longibrachiatum* sobre las cepas FUSA, FUSB y FUSC del complejo *Fusarium oxysporum* (F. o.), y compararlo con un control químico, se establecieron 13 tratamientos usando un diseño completamente al azar con cinco repeticiones (13×5) bajo condiciones controladas de temperatura (°C) y humedad relativa (%). Cada unidad experimental correspondió a una planta de *Agave cupreata*, cuyo sustrato fue inoculado con $1x10^6$ propágulos mL^{-1} del antagonista y/o del patógeno, según el tratamiento correspondiente, siguiendo la metodología descrita por Michel–Aceves *et al*. (2009). Los tratamientos se organizaron en cuatro esquemas: i) aplicación del antagonista, seguida dos semanas después, de la inoculación de cada cepa del patógeno (T1, T2 y T3); ii) aplicación inicial de cada cepa del patógeno y, quince días después, del antagonista (T4, T5 y T6); iii) aplicación simultánea del antagonista y de cada cepa del patógeno (T7, T8 y T9); y iv) aplicación del control químico en combinación con cada cepa del patógeno (T10, T11 y T12). Además, se incluyó un tratamiento testigo consistente en la inoculación individual de cada cepa del patógeno (T13). Se realizaron tres evaluaciones semanales (21, 28 y 35 días), registrando el número de hojas por planta, número y longitud de raíces por planta y el diámetro longitudinal y transversal de la piña (cm). El diseño de los tratamientos se encuentra en la Tabla 1 del segundo artículo.

A los 21 días posteriores a la aplicación de los tratamientos se evaluó el porcentaje de incidencia y el nivel de daño por síntomas de marchitez vascular en las 65 plantas del experimento (5 plantas por tratamiento), utilizando la escala patométrica (DGSV-CNRF, 2017), modificada con cuatro niveles: 0 = planta sana; 1 = hojas moradas y encarrujadas (37 % de daño); 2 = 75 % de la planta dañada; y 3 = planta muerta. Se realizaron tres evaluaciones semanales (21, 28 y 35 días), registrando el número de hojas por planta, la cantidad y longitud de raíces por planta, así como el diámetro longitudinal y transversal de la piña (cm).

6.5.3 Segundo análisis microbiológico del sustrato

Posteriormente, a los 45 días de inicio del experimento, se realizó un segundo análisis microbiológico del sustrato correspondiente a los tratamientos T7, T8 y T9, que consistieron en la inoculación conjunta de *T. longibrachiatum* (antagonista) con las cepas del complejo *F. oxysporum* (FUSA, FUSB y FUSC).

6.5.4 Efecto de la interacción de *T. longibrachiatum vs. F. oxysporum*

Para corroborar el efecto antagónico de *T. longibrachiatum* sobre las cepas de *F. oxysporum* en el control de la marchitez vascular de *Agave cupreata*, se seleccionó una piña de cada tratamiento evaluado, se lavaron, rasuraron y cortaron longitudinalmente, colocando las mitades en cámara húmeda para inducir la emisión de nuevas raíces. Las raíces emergentes se cortaron y se sembraron en cajas Petri con medio Papa Dextrosa Agar (PDA), incubadas durante 10 días a 25 ± 1 °C, hasta observar el desarrollo de micelio y estructuras reproductivas de ambos hongos. Los aislamientos obtenidos se transfirieron *in vitro* en cultivos duales para evaluar el efecto antagónico de *T. longibrachiatum*, siguiendo la metodología de Tlapal Bolaños *et al*. (2014). Las mediciones del crecimiento micelial (mm) se realizaron a las 48, 72, 96 y 144 h, hasta que las cepas entraron en contacto en la zona de confrontación en las cajas Petri. Asimismo, se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) mediante la fórmula propuesta por Worasatit *et al*. (1994), y se realizaron observaciones microscópicas de la zona de enfrentamiento utilizando un microscopio compuesto BOECO Germany, modelo BM-180 AC.

6.6 Diseño experimental y análisis estadístico

El efecto conjunto de los tratamientos probados para el control de la marchitez vascular en *Agave cupreata*, así como en sus variables de respuesta, se evaluaron estadísticamente mediante la prueba de Fisher al 5 % (ANOVA) en un diseño completamente al azar. La comparación de medias se realizó con la prueba de Tukey al 5 %. El análisis estadístico se efectuó utilizando el paquete Minitab® versión 18.1 (Minitab Inc., 2017, EUA).

VII. RESULTADOS

7.1 Artículo publicado: Impact and control prospects at the *Fusarium* complex, associated to wilt in *Agave* and other crops

16/04/26, 14:06Yahoo Mail - [TSAES] Editor Decision
Página 1 de 2https://mail.yahoo.com/n/search/name=Carlos%2520A.%2520SANDOVA…t6xry4abtdUS2ykvh9inLi8Kb2FdzjYomTv6fcISHDO23SjT4U-tIi4g7Rwe8
[TSAES] Editor Decision
De: Carlos A. SANDOVAL-CASTRO (revistaccba_boletines@correo.uady.mx)
Para: amaury1963@yahoo.com.mx
CC: docentefca@yahoo.com.mx; hildagarciasni@outlook.com; thnm0947@hotmail.com; vlamus@uceva.edu.co
Fecha: jueves, 9 de enero de 2025, 12:54 p.m. GMT-6
Tropical and Subtropical Agroecosystems
Dr Amaury-M. Arzate Fernandez:
We have reached a decision regarding your submission to Tropical and
Subtropical Agroecosystems, "IMPACTO Y PERSPECTIVAS DE CONTROL DEL COMPLEJO
Fusarium, ASOCIADO A LA MARCHITEZ EN AGAVE Y OTROS CULTIVOS".
Your submission to Tropical and Subtropical Agroecosystems
has now been accepted and transferred for copyediting
we will be in contact once this stage has finalized
In the mean time we invite you to update your manuscript Metadata
in the journal online system information
(follow the link EDIT METADATA):
Author(s) (order, affiliation, email), title,
summary and keywords.
for all authors use capital letter only
at the beggining of each name and surname
(i.e.: J. Paredes, Juan Paredes)
author ORCID information must be registered in the journal platform in the
following format:
http://orcid.org/xxxx-xxxx-xxxx-xxxx (without the letter "s" in http:)
Please verify that the manuscript information
(title, summary and titulo y resumen)
* it is captured in both languages windows
(spanish and english)
*Please use capital letters for "title" and
"titulo" along the phrase except for
scientific names
16/04/26, 14:06Yahoo Mail - [TSAES] Editor Decision
Página 2 de 2https://mail.yahoo.com/n/search/name=Carlos%2520A.%2520SANDOV…t6xry4abtdUS2ykvh9inLi8Kb2FdzjYomTv6fcISHDO23SjT4U-tIi4g7Rwe8
*update summary and keywords
Please be sure keywords are separeted
by ";" and not ","
No further action is required if you have already updated the metadata

Dr. Carlos A. Sandoval Castro
Campus de Ciencias Biologicas y Agropecuaria,
Universidad Autonoma de Yucatan,
Mexico
carlos.sandoval@correo.uady.mx

Tropical and Subtropical Agroecosystems
http://www.revista.ccba.uady.mx/ojs/index.php/TSA



Review [Revisión]

IMPACT AND CONTROL PROSPECTS OF THE *Fusarium* COMPLEX, ASSOCIATED TO WILT IN AGAVE AND OTHER CROPS †

[IMPACTO Y PERSPECTIVAS DE CONTROL DEL COMPLEJO *Fusarium*, ASOCIADO A LA MARCHITEZ EN AGAVE Y OTROS CULTIVOS]

María del Carmen Corona-Rodríguez[1], Hilda Guadalupe García-Núñez[1], Amaury Martín Arzate-Fernández[1]*, Tomás Héctor Norman-Mondragón[1] and Valentina Lamus-Molina[2]

[1] Laboratorio de Biología Molecular Vegetal del Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Fitomejoramiento (CIEAF), Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Autónoma del Estado de México-Campus Universitario "El Cerrillo". Carretera Toluca-Ixtlahuaca, km 11.5 entronque al Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, Estado de México, C. P. 50200, México. Email: amaury1963@yahoo.com.mx

[2] Facultad de Ingeniería, Unidad Central del Valle del Cauca. Carretera 28ª. Kilómetro 1. Salida al Sur Tuluá, Ciudadela Universitaria, Tuluá, Colombia

**Corresponding author*

SUMMARY

Background. The *Fusarium* complex is the causal agent of vascular wilt in agave that causes damage to the roots, stem/cone, and leaves. This affects the health of the agave, the yield and therefore the quality of drinks derived from this plant, such as pulque, mezcal and tequila, this prevents ensuring demand in the national and international market. Chemical control has been the most frequent method used to control this disease; however, it has shown a negative impact by generating resistance of the pathogen, damage to the environment and human health, which makes it necessary to search for sustainable and efficient strategies to control this disease. **Objective**. To carry out an exhaustive analysis of the reports related to the chemical, biological, ecological and phytosanitary methods used to control the *Fusarium* complex that causes wilting in agave and other crops and to verify the ecological and economic impact of its application. **Methodology**. A systematic bibliographic review was carried out, based on the PRISMA protocol (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses, for its acronym in English), the information search was carried out in the most prominent databases (Science Direct, Redalyc , Scielo, Scopus, Google scholar, Google scholar and Pubmed), using as keywords, *Fusarium* complex, vascular wilt, agave and control methods, considering a period of 30 years (from 1994 to 2024) as inclusion criteria, which allowed for a more perspective. extensive study on the impact of the different methods used to control vascular wilt in agave caused by the *Fusarium* complex. **Main findings.** The analysis of the information allowed us to identify the most used control methods for wilting in agave and other crops of agricultural importance, among which are: silica, ozone, essential oils, acid water, mycorrhizas, nanoparticles, salicylic acid, extracts vegetables, and biocontrol by antagonist agents (*Trichoderma* and *Bacillus*), where the latter appear reported in 33% of the documents reviewed. **Implications.** Inescapably, in studies on agave wilt caused by the Fusarium fungus, the possible action of a pathogenic complex formed by two or more species of this genus must be considered and for its control management, already proven strategies must be applied. **Conclusions**. The use of antagonist agents and plant extracts can be applied to manage wilt caused by the *Fusarium* complex in agave and other crops, with high control efficiency. Furthermore, these methods turn out to be an ecological, sustainable and effective strategy.

Key words: *Fusarium* complex; vascular wilt; *Agave*; control methods.

RESUMEN

Antecedentes. El complejo *Fusarium* es el agente causal de la marchitez vascular en agave que causa daño en raíz, tallo/piña y hojas. Esto repercute en la sanidad del agave, el rendimiento y por tanto en la calidad de bebidas derivadas

† *Submitted April 11, 2024 – Accepted November 28, 2024. http://doi.org/10.56369/tsaes.5564*

Copyright © the authors. Work licensed under a CC-BY 4.0 License. https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
ISSN: 1870-0462.

de esta planta, tales como el pulque, mezcal y tequila, esto impide asegurar la demanda en el mercado nacional e internacional. El control químico ha sido el método más frecuente utilizado para el control de esta enfermedad, sin embargo, ha mostrado un impacto negativo al generar resistencia del patógeno, daños al ambiente y a la salud humana, lo cual hace necesaria la búsqueda de estrategias sustentables y eficientes para su control. **Objetivo.** Realizar análisis exhaustivo de los reportes relacionados con los métodos químicos, biológicos, ecológicos y fitosanitarios usados para el control del complejo *Fusarium,* causante de la marchitez en agave y otros cultivos, y constatar el impacto ecológico y económico de su aplicación. **Metodología.** Se realizó una revisión bibliográfica sistematizada, sobre los reportes de evaluación de la eficiencia de los métodos de utilizados para el control de la marchitez en agave y otros cultivos, causada por el complejo *Fusarium;* todo esto con base en el protocolo PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses, por sus siglas en inglés), la búsqueda de información se realizó en las plataformas de datos más destacadas (Science Direct, Redalyc, Scielo, Scopus, Google scholar, Google académico y Pubmed), utilizando como palabras clave, complejo *Fusarium*, marchitez vascular, agave y métodos de control, considerando como criterio de inclusión un periodo de 30 años (de 1994 a 2024), lo cual permitió tener una perspectiva más amplia sobre el impacto de los diferentes métodos empleados para el control de la marchitez vascular en agave causado por el complejo *Fusarium*. **Principales Hallazgos.** El análisis de la información permitió identificar los métodos de control más utilizados para la marchitez en agave y otros cultivos de importancia agrícola, dentro de los cuales se encuentran: sílice, ozono, aceites esenciales, agua ácida, micorrizas, nanopartículas, ácido salicílico, extractos vegetales, y el biocontrol por agentes antagonistas (*Trichoderma* y *Bacillus),* donde estos últimos aparecen reportados en un 33% de los documentos revisados. **Implicaciones**. Ineludiblemente, en los estudios sobre la marchitez del agave, causados por el hongo *Fusarium* se debe considerar la posible acción de un complejo patogénico formado por dos o más especies de este género y para su manejo de control aplicar estrategias ya probadas. **Conclusiones.** El uso de agentes antagonistas y extractos vegetales pueden aplicarse para el manejo de la marchitez causada por el complejo *Fusarium* en agave y otros cultivos, con una alta eficiencia de control, además de que estos métodos resultan ser una estrategia ecológica, sustentable y efectiva.
Palabras clave: Complejo *Fusarium*; marchitez vascular; *Agave;* métodos de control.

INTRODUCCIÓN

El origen del género *Agave* tiene aproximadamente 10 millones de años y su domesticación data de hace 10 mil años y es endémico de América. De las 211 especies de *Agave* que existen en este continente, el 75% (159) prosperan en México (García-Mendoza, 2018), considerado centro de origen, diversidad morfológica, filogenética y evolutiva de este género (García-Herrera *et al.*, 2010). En México, la distribución de esta planta va desde el norte hasta el sur de la República Mexicana, siendo el estado de Oaxaca la zona con mayor diversidad de agaves.

Actualmente, este género se investiga desde varios puntos de vista, estudios que abarcan el manejo agroecológico, bioquímico, fisiológico y especialmente en aplicaciones en biotecnología como su uso en biocombustibles, además de bebidas, alimentos, fibras y obtención de metabolitos secundarios con aplicaciones farmacéuticas (Naivy *et al*., 2015). En el sector productivo y económico, la industria de bebidas es considerada la de mayor potencial para la producción de tequila, mezcal, pulque, bacanora y comiteco (Pérez-Hernández *et al.*, 2016), donde destaca la producción de los dos primeros, que representan el 18.6% de la producción total bruta, y en donde el tequila registró una participación de alrededor del 87% de la producción y el mezcal el 13 %. Según los censos económicos de 2014, por cada 100 pesos de bebidas alcohólicas que se produjeron, casi 20 pesos correspondieron al tequila y mezcal (INEGI-CAJ, 2019). López-Nava *et al*. (2014) reportaron que a nivel nacional existen 30,000 productores y 625 fábricas que produjeron 8 millones de litros de mezcal con un valor de 1,700 millones de pesos; esto demuestra el impacto económico de estas empresas. Es importante considerar que la planta de *Agave* es la materia prima para la producción de ambas bebidas y su explotación implica miles de toneladas. La calidad en la elaboración de estas bebidas exige cultivos saludables que requieren material vegetativo sano, como semillas, hijuelos y estolones de plantas madre que garanticen su certificación y exportación (CRM, 2020; CRT, 2020). El cultivo de agave es redituable y noble, sin embargo, no se escapa de la presencia de plagas y enfermedades que limitan su cultivo, tal es el caso de la marchitez vascular, enfermedad causada por el complejo *Fusarium.*

Hoy en día, es complicado controlar a *Fusarium* porque este hongo tiene una larga supervivencia en el suelo debido a sus estructuras de resistencia como las clamidosporas. Sin embargo, para el manejo de la marchitez del agave causada por este género, se han implementado diferentes medidas que van desde el marco legal, dispuestas en el Diario Oficial de la Federación en 2013, hasta otros métodos fitosanitarios de gran importancia y eficiencia, de ahí que, el objetivo

de esta revisión fue realizar un análisis exhaustivo sobre las publicaciones relacionadas con los métodos químicos, biológicos, ecológicos y fitosanitarios, enfatizando su uso para el control de esta enfermedad en el agave y en otros cultivos, así como revisar el impacto ecológico y económico de su aplicación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó una revisión bibliográfica sistemática, de agosto 2023 a mayo 2024, con base en el protocolo de la declaración PRISMA 2020 (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (Page *et al*., 2021), por sus siglas en inglés), en las siguientes plataformas de datos como, Science Direct, Redalyc, Scielo, Scopus, Google scholar, Google académico y Pubmed, usando como criterio de inclusión documentos que se hayan publicado entre 1994 y 2024 (30 años). En la búsqueda de la información se utilizaron las siguientes palabras clave: complejo *Fusarium, Agave*, marchitez vascular y métodos de control y la combinación de las mismas como: agave + marchitez vascular, métodos de control + *Fusarium*, marchitez vascular+ *Fusarium*, agave+ marchitez vascular+ complejo *Fusarium,* control químico+ marchitez +agave, *Fusarium*+ cultivos, control biológico + marchitez vascular. Se consideraron documentos como artículos científicos, libros, boletines, gacetas, paginas gubernamentales y tesis doctorales. Para la búsqueda se consideró el idioma inglés como el español, sin embargo, el idioma español fue el que predominó en los resultados de búsqueda. De acuerdo con la información bibliográfica obtenida, esta se clasificó, analizó, discutió e integró en secciones como: taxonomía y caracterización fenotípica del género *Fusarium,* técnicas de cultivo y preservación de *Fusarium,* caracterización molecular del género *Fusarium,* enfermedades causadas por *Fusarium*, ciclo biológico de *Fusarium* spp. en agave, métodos de control y perspectivas de manejo de la marchitez vascular en agave. Con los datos registrados se realizaron imágenes, mapas, tablas y diagramas de análisis que se discutieron, lo cual permitió generar conclusiones obtenidas de esta revisión bibliográfica. Cabe mencionar que para nuestro estudio se encontraron un total de 138 referencias y después de aplicar los criterios de exclusión se trabajó con 117 referencias bibliográficas y fueron capturadas de acuerdo al formato MENDELEY.

RESULTADOS

La información recopilada de los documentos consultados permitió agruparlos en los siguientes subtemas: Taxonomía y caracterización fenotípica del género *Fusarium,* técnicas de cultivo y preservación de *Fusarium,* caracterización molecular del género *Fusarium,* complejo *Fusarium,* enfermedades causadas por *Fusarium,* impacto socioeconómico de la marchitez vascular en *Agave* por el complejo *Fusarium* (F.o.), epidemiología de la marchitez vascular causada por los complejos de *Fusarium,* implicaciones de la marchitez vascular en *agave,* ciclo biológico de *Fusarium* spp. en *Agave,* métodos de control del complejo *Fusarium* y perspectivas de manejo de la marchitez vascular en *Agave,* control cultural, control químico, métodos alternativos para el control del complejo *Fusarium* que afecta al agave y otros cultivos agrícolas (sílice, ozono, aceites esenciales, agua ácida, micorrizas, nanopartículas, ácido salicílico, extractos vegetales, y el biocontrol por agentes antagonistas (*Trichoderma* y *Bacillus)*). Cada uno de estos subtemas tiene su propia particularidad que permitió generar tablas, figuras y gráficas para una mejor comprensión y síntesis de la información.

Taxonomía y caracterización fenotípica del género *Fusarium*

Después de una revisión histórica, se encontró que el origen de *Fusarium* data de hace 91.3 millones de años (Ma *et al*., 2013), y actualmente tiene una distribución mundial; es un hongo cosmopolita capaz de habitar en el suelo, agua y aire (Arbeláez, 2000; Summerell *et al*., 2003). Su identificación comenzó hace más de 100 años, desde entonces se han descrito alrededor de 70 especies de este género (Cardona-Piedrahíta y Castaño-Zapata, 2019). Se puede decir que, en los últimos años la mayoría de las especies del género *Fusarium* son de los hongos patógenos más incidentes y devastadores en el mundo, ya que representan un riesgo para la salud humana, los animales y además limitan la calidad de plantas de importancia agrícola, ornamental y forestal.

Los hongos del género *Fusarium* son filamentosos y a nivel taxonómico se ubican en la Phyla: Ascomycota, División: Deuteromycota, Clase: Sordariomycetes, Orden: Hypocreales y Familia: Hypocreaceae (Vega-Ramos *et al*., 2013). Es importante destacar que, a lo largo de dos décadas, ha sido difícil incluir o excluir especies dentro de este género, ya que las claves taxonómicas basadas en caracteres morfométricos muestran que las especies de *Fusarium* son muy variables debido a sus características genéticas y a los cambios que el ambiente causa en la morfología de los cultivos. Sin embargo, existen características diagnósticas propias del género, por ejemplo, tienen estructuras de multiplicación tales como: micelio algodonoso hialino y septado, algunas cepas tienen una esporulación que va del color blanquecino, crema, rosa, violeta o morado según la especie (Cardona-Piedrahíta y Castaño-Zapata, 2019; López-Bautista *et*

al., 2020), tal y como se observa en la Figura 1A. Este micelio ramificado y tabicado contiene esporóforos en forma de fiálides que son estructuras laterales finas, cortas y simples en forma de botella, de donde emergen los microconidios formados por una o dos células, éstos son hialinos, elipsoidales a cilíndricos, rectos o curvados, miden entre 5 y 12 µm de largo por 2.5 a 3.5 µm de ancho. Los macroconidios que se forman en esporodoquios, tienen forma curva de medialuna y septados, con tres a cinco células, presentan una célula apical y pie, miden entre 20.3 y 27.0 µm de largo y 6.7 µm de ancho (Arberláez, 2000; Tapia y Amaro, 2014; López-Bautista *et al.,* 2020), Figura 1B. También presentan clamidosporas que miden de 5 a 15 µm de diámetro, pueden permanecer en el suelo hasta por 6 años, entre los 10 y 20 cm de profundidad. La identificación morfológica se ha realizado mediante claves taxonómicas entre las más utilizadas son las de Booth (1971) y Samson *et al*. (1995) además de las consideraciones recientes de Summerell *et al*. (2003). Por otra parte, la producción de pigmentos es importante en la identificación de hongos del género *Fusarium*, ya que se pueden difundir en el medio de cultivo y varían en color desde tonos rojizos, amarillos y azules, hasta violeta y negro, lo cual proporciona indicios visuales valiosos para la diferenciación de especies (Goertz *et al*., 2010). La presencia y tipo de pigmentos pueden estar correlacionados con la capacidad de producción de micotoxinas como tricotecenos y fumonisinas que tienen implicaciones importantes en la agricultura y la salud pública por su toxicidad (Serrano y Castro, 2015; Logrieco *et al*., 2002). Se ha encontrado, además, la presencia de antraquinonas (Duran *et al*., 2002), las cuales pueden llegar a ser fitotóxicas, pero también poseen una amplia actividad biológica contra bacterias, hongos y levaduras (Medentsev y Akimenko, 1998).

Técnicas de cultivo y preservación de *Fusarium*

Los aislados de *Fusarium* se propagan *in vitro* en laboratorio, donde se busca la germinación de esporas. Los medios más utilizados para la identificación de especies de *Fusarium* son el agar de hoja de clavel, el agar de dextrosa de papa (PDA), el medio KCl y el agar de suelo. Adicionalmente, el MGA (Guayaba Agria) se encuentra dentro de los medios de cultivos selectivos más adecuados para el crecimiento de *Fusarium*, ya que conserva las características morfológicas (Bragulat *et al*., 2004). Estos se preparan en condiciones asépticas en placas Petri o bien en tubos (según los requerimientos), el aislado se inocula y se incuba de 7-10 días a 25°C, obteniendo cultivos monospóricos libres de contaminación. En relación con la preservación, existen varias técnicas usadas para el cultivo de *Fusarium,* por ejemplo, la liofilización, congelación de suspensión de esporas a -70 °C en nitrógeno líquido, almacenamiento de esporas en papel filtro, silica gel a -20°C y muestras de suelo a 4 °C. La preservación es muy importante ya que el tener muestras secas para trabajar en estudios a futuro, es una gran ventaja, por este motivo los laboratorios optan por usar estas técnicas (Leslie y Summerell, 2006).

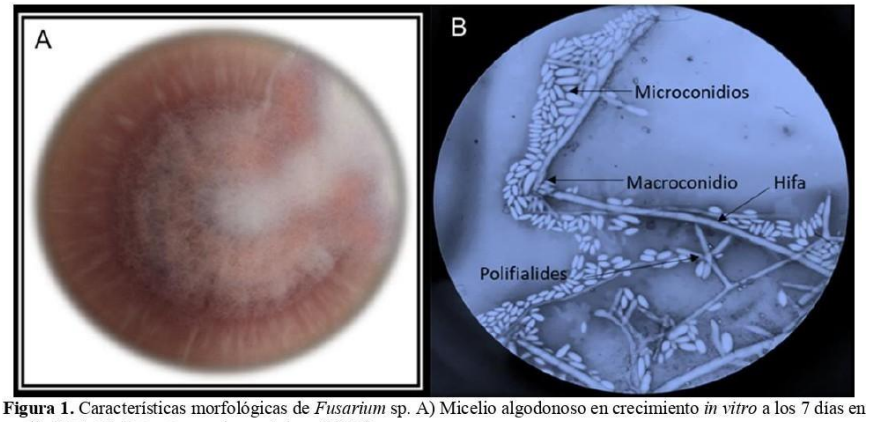


Figura 1. Características morfológicas de *Fusarium* sp. A) Micelio algodonoso en crecimiento *in vitro* a los 7 días en medio PDA, B) Estructuras microscópicas (100X).

Caracterización molecular del género *Fusarium*

Hoy en día es imprescindible realizar la caracterización molecular de especies de *Fusarium* para garantizar su correcta identificación, lo cual permite conocer la variabilidad genética de este género. Al respecto, a partir de los aislados de *Fusarium* se han caracterizado las diferentes especies que hoy se conocen. Esto ha sido posible mediante técnicas como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés), la reacción de patogenicidad en hospedantes diferenciales (Leyva *et al*, 2003), la determinación de los grupos de compatibilidad vegetativa (VCGs) (Andrés *et al*, 2001), así como las pautas de amplificación por técnicas moleculares que comparan secuencias de ADN, como el uso de RAPD (Polimorfismo de DNA amplificados), ITS (Espaciadores Internos Transcritos), RFLP (Polimorfismos de Longitud de Fragmentos de Restricción) e ISSR (Secuencias Simples Repetidas) (Da Silva *et al*., 2010; Rangel-Castillo *et al*., 2017). También se han tenido reportes del empleo de técnicas moleculares que comparan pequeñas secuencias de ADN de regiones que son altamente conservadas como la calmodulina, β tubulina y la histona H3. Asimismo, el gen TEF1-α, o factor de elongación de la traducción, que es una de las regiones más empleadas en la identificación molecular de hongos, entre los que se encuentra *Fusarium*, ya que muestra un alto nivel de polimorfismo entre especies estrechamente relacionadas (Henao-Henao *et al*., 2018). Entre los iniciadores utilizados para estas técnicas están los OPAX 10, PAX12; OPBO3, OPB04; OPF05 (Silva *et al.,* 2010), Ef1α y Ef2 (Wulff *et al*., 2010; Henao *et al*., 2018). Actualmente existen técnicas sofisticadas basadas en secuenciación de segunda generación para el estudio de la diversidad genética de *Fusarium* y de otros organismos, pero éstas tienen altos costos. El uso correcto de estas técnicas y los resultados rápidos, precisos, consistentes y confiables apoyan la identificación de las especies del género *Fusarium,* lo cual facilita la generación de información en los estudios de investigación, y el entendimiento de los aspectos epidemiológicos en las enfermedades que producen cada una de las especies (Chandra *et al*., 2011)

Complejo *Fusarium*

Las especies de *Fusarium* pueden provocar graves daños en diversos cultivos agrícolas, por ello son consideradas como patógenas de un amplio rango de hospedantes. Después de minuciosas investigaciones se ha determinado que *Fusarium* ataca al cultivo mediante un conjunto de varias especies a lo que se le denomina "Complejo *Fusarium".* Se han clasificado dos tipos de complejos; el complejo *Fusarium oxysporum* (F. o.), especie anamórfica que incluye cepas patogénicas y no patogénicas, el cual comprende patógenos que causan la marchitez vascular y pudriciones de la corona y raíz en más de 100 especies de plantas, y el complejo *Fusarium solani* (F. s.), causante de la podredumbre radicular. Dichos complejos fueron propuestos en 1940 por Snyder y Hansen (Summerell y Leslie, 2011). Las patologías producidas por especies de los complejos F. o. y F. s. se pueden desarrollar en todos los estadios de crecimiento vegetativo si se presentan las condiciones para el desarrollo de la enfermedad (Barruena *et al*., 2018).

Por otra parte, las cepas individuales suelen infectar sólo una o pocas especies de plantas, por lo tanto, se han asignado como formas especiales (f. sp.) basadas en la especificidad del hospedante, existen más de 120 f. sp. descritas hasta el momento.

Enfermedades causadas por *Fusarium*

En conjunto, los hongos del género *Fusarium* producen metabolitos tóxicos que ocasionan enfermedades caracterizadas por marchitez, tizones y pudriciones en cultivos agrícolas. Las especies patogénicas de los complejos de *Fusarium* spp. ocupan el quinto lugar en una lista de los 10 principales patógenos fúngicos (López-Bautista *et al*., 2020), junto a géneros como *Phytophthora* spp. y *Rhizoctonia* spp., entre otros, que han sido considerados como un complejo fitopatogénico que en condiciones favorables causan la marchitez (Rubio-Ríos, 2018).

Fusarium tiene una amplia distribución geográfica ya que su presencia se ha reportado en diferentes países. En la Tabla 1, se evidencia que este patógeno afecta a diversos hospederos, tales como frutales, hortalizas, plantas de ornato y arboles forestales. También se muestran reportes de que el cultivo de *A. tequilana* var. azul es afectado por el complejo *Fusarium*, en algunos casos el complejo comprende más de cinco especies, como *F. oxysporum* (FOSC), complejo *Fusarium solani* (FSSC) y complejo *F. fujikuroi* (FFSC). Lo mismo sucede con el cultivo de clavel y de la caña de azúcar, aunque coinciden con la presencia de *F. oxysporum* y *F. solani*, difieren en el resto de las especies del complejo. También se destaca a *F. oxysporum* como la especie más frecuente en la mayoría de las plantas hospederas aquí citadas, en segundo lugar, se reporta a *F. solani* como parte de un complejo. Como se puede observar, *Fusarium* es huésped de diversos cultivos con diferente distribución geográfica, debido a su plasticidad ecológica es capaz de colonizar con facilidad los sustratos. Esto coincide ya que según datos de la American Phytopathologcal Society (APS), aproximadamente el 81% de las plantas económicamente importantes tiene al menos una enfermedad causada por *Fusarium.*

Tabla 1. Especies patógenas asociadas al complejo *Fusarium* causantes de enfermedades en diferentes hospederos.

Planta hospedera	Nombre científico	Especies patógenas	Distribución geográfica	Referencia
Agave	*A. tequilana* var. azul	*F. oxysporum* del complejo de especies *F. oxysporum* (FOSC), *F. solani*, *F. falciforme* y *Fusarium* sp. del complejo *Fusarium solani* (FSSC) y *Fusarium* sp. del complejo *F. fujikuroi* (FFSC)	México	López-Bautista *et al.*, 2020
Agave	*A. tequilana* var. azul	*F. oxysporum, F. fujikuroi, F. solani* y *F. incarnatum-equiseti*	México	Mendoza-Ramos *et al.*, 2021
Agave	*A. tequilana* var. azul	*F. oxysporum* y *F. solani*	México	Ramírez-Ramírez *et al.*, 2017
Agave	*A. tequilana* var. azul	*F. oxysporum*	México	Quiñones-Aguilar *et al.*, 2023
Agave	*A. tequilana* var. azul	*F. oxysporum*	México	Gómez-Ortiz *et al.*, 2011
Agave	*A. tequilana* var. Azul	*F. oxysporum*	México	Flores-López *et al.*, 2016
Plátano	*Musa paradisiaca*	*F. oxysporum f.* sp. *cubense*	Brasil	Silva *et al.*, 2010
Mango	*Mangifera indica*	*F. mexicanum*	México	Rodríguez *et al.*, 2012
Maracuyá	*Passiflora edulis*	*F. incarnatum, F. proliferatum, F. solani*	Colombia	Henao *et al.,* 2018
Fresa	*Fragaria ananassa*	*F. oxysporum f.* sp. *fragariae*	España	Infante *et al.*, 2018
Maíz	*Zea mays*	*F. sacchari, F. fujikuroi*	Brasil	Carret *et al.*, 2023
Calabaza	*Cucurbita ficifolia*	*F. acuminatum, F. proliferatum*	Argentina	Flores *et al.*, 2015
Garbanzo	*Cicer arietinum*	*F. oxysporum f.* sp. *ciceris*.	México	Oliva- Ortiz *et al.,* 2017
Tomate	*Solanum lycopersicum*	*F. oxysporum f.* sp. *lycopersici*	Mexico	Hernandez *et al.*, 2014
Chile	*Capsicum capsici*	*Fusarium* sp.	México	Anaya-López *et al.*, 2011
Chile habanero	*Capsicum chinensis*	*Fusarium* sp.	México	Reyes *et al.*, 2012
Soya	*Glycine max*	*Fusarium* sp.	Cuba	Cruz *et al.*, 2017
Caña de azúcar	*Saccharum officinarum*	*F. andiyazi, F. nygamai, F. sacchari, F. proliferatum, F. verticillioides, F. equiseti, F. oxysporum, F. solani*	México	Martínez-Fernández *et al.*, 2015
Apio	*Apium graveolens*	*F. oxysporum f.* sp. *apii*	Costa Rica	Retana *et al.*, 2018
Café	*Coffea arabica*	*Fusarium* sp.	Bolivia	Rudy *et al.*, 2011
Algodón	*Gossypium hirsutum*	*Fusarium solani*	México	González-Soto *et al.*, 2022
Clavel	*Dianthus caryophyllus*	*F. oxysporum, F. proliferatum, F. solani, F. tricinctum, F. globosum, F. incarnatum, F. equiseti.*	México	Camacho-López *et al.*, 2014
Pino	*Pinus patula*	*F. oxysporum, F. solani.*	México	Robles *et al.*, 2016

Impacto socioeconómico de la marchitez vascular en *Agave* por el complejo *Fusarium* (F.o.)

En México, el complejo *Fusarium* es el agente causal de la marchitez vascular en *Agave*, considerada como la enfermedad más importante debido a que afecta el rendimiento y la calidad de los productos derivados de esta planta, y por lo tanto origina grandes pérdidas económicas (López-Bautista *et al.*, 2020). En México, el problema fitosanitario de incidencia de la marchitez en agave se ha extendido en las últimas décadas en las zonas de Denominación de Origen del Tequila (DOT), como un efecto negativo de las condiciones climáticas. Asimismo, en el año 2008, el Consejo Regulador del Tequila reportó que en el estado de Jalisco, el daño por *F. oxysporum*, dentro de la zona agavera, la incidencia alcanzó el 40% de las plantaciones (Flores *et al*., 2016) y en 2010, este hongo destruyó el 35% de la cosecha de agave azul en México causando pérdidas económicas para los agricultores, con un incremento en el costo de producción (Gómez-Ortiz *et al*., 2011). Respecto a la fitosanidad de *A. tequilana* var. Azul, se reportó que la incidencia de la marchitez vascular causada por *F. oxysporum* fue del 40 al 100% en los estados de Jalisco y Nayarit (Flores *et al.,* 2016). En 2017, en los municipios de la Región de los Altos de Jalisco, de 1,037 plantaciones el 32.4% se encontraron libres de la marchitez, mientras que el 46.5% registró una incidencia baja y 21.1% una incidencia alta considerada de riesgo fitosanitario debido a que la incidencia fue del 50% para Tepatitlán de Morelos, pero el mayor porcentaje de incidencia se presentó en Arandas, Jal. durante 2017. La presencia de esta enfermedad se observó en todas las edades de la plantación, sin embargo, la severidad más grave se dio en plantaciones de 3, 4 y 5 años (DGSV-CNRF, 2017). También se reportó que la disminución del rendimiento de las piñas y la pérdida de plantaciones fueron desde el 30 al 100 % (López-Bautista *et al*., 2020).

Estos datos coinciden con los registros de la base digital del CRT al generar un mapa de incidencia de la marchitez en los municipios con DOT, donde el mayor porcentaje de incidencia lo presentó el municipio de Arandas (Figura 2). De acuerdo a la literatura consultada, la marchitez no solo afecta significativamente la productividad de *Agave tequilana* var. Azul, sino también, la producción de agaves mezcaleros como *A. cupreata, A. angustifolia* y *A. potatorum* en el sureste de México.

Epidemiología de la marchitez vascular causada por los complejos de *Fusarium*

Estudios de la epidemiología del marchitamiento en *Agave tequilana* por *Fusarium,* donde se incluyen ensayos de inoculación de plantas en vivero con cepas de *F. oxysporum* realizados en condiciones de invernadero en Jalisco, revelaron la aparición de síntomas de necrosis marrón rojiza en raíces y parte inferior del tallo. De la misma manera se presentaron síntomas de pudrición en raíces jóvenes inoculadas con *F. solani*, indicando que esta especie está altamente relacionada con el marchitamiento del agave (Ramírez- Ramírez *et al*., 2017).

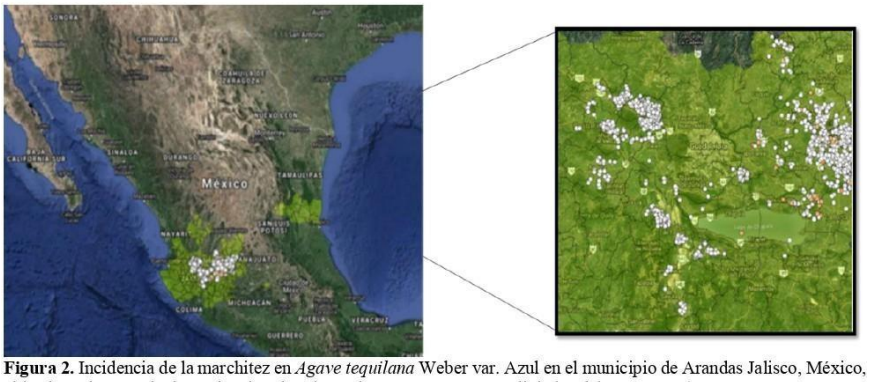


Figura 2. Incidencia de la marchitez en *Agave tequilana* Weber var. Azul en el municipio de Arandas Jalisco, México, ubicado en la zona de denominación de origen, durante 2017. (Datos digitales del CRT, 2022).

Estudios realizados por López *et al* (2020) en 40 plantaciones comerciales de agave azul, ubicadas en 13 municipios de los altos de Jalisco, reportaron que los análisis basados en la caracterización morfológica, molecular y filogenética, así como en estudios microbiológicos y fisicoquímicos, revelaron la presencia de especies de *Fusarium* pertenecientes a los complejos *F. oxysporum* (FOSC), *F. solani* (FSSC) y *F. fujikuroi* (FFSC), por lo que concluyeron que la marchitez y la pudrición seca del cogollo del agave son expresiones sintomatológicas de un síndrome causado por diferentes especies de *Fusarium* con adaptabilidad parasítica diferencial a nivel intra e inter especie y que ambas enfermedades de alto impacto económico pueden ser causadas por un mismo aislado (haplotipo) de *F. oxysporum*, *F. solani* y *F. falciforme*, pero no son los más prevalentes, lo que explica la baja incidencia de ambos síntomas en la misma planta de *Agave tequilana* variedad Azul.

Por lo anterior, es importante aplicar un manejo agronómico fitosanitario adecuado y sustentable para este cultivo, en virtud de que el cultivo de agave generó una derrama económica significativa según el Servicio Integral Agropecuario y Pesquero (SIAP, 2019). Las estadísticas del CTR reportaron que en 2022 se exportaron 418.9 millones de litros de tequila (CTR,2024), mientras que para el mezcal se reportaron 14,165,505 millones de litros, exportados el mismo año (CRM,2024), esto representa una derrama económica importante para el país.

Implicaciones de la marchitez vascular en *Agave*

La marchitez en agave no solo repercute en la economía, sino también en la salud, debido a que *Fusarium* aumenta su virulencia al segregar toxinas, tales como, eniatinas, ácido fusárico, tricotecenos, fumonisinas, las cuales pueden resultar en daños carcinogénicos, mutagénicos, teratogénicos, citotóxicos, neurotóxicos y nefrotóxicos en la salud humana (Wagacha y Muthomi, 2007). Ante esta virulencia por *Fusarium*, la planta hospedera genera distintos mecanismos de defensa como: síntesis de enzimas de detoxificación, de proteínas de resistencia y de proteínas antifungales (Ma *et al*., 2013; Kebede *et al*., 2020), de señales de genes de resistencia, la descomposición enzimática de barreras físicas del patógeno, la defensa con compuestos antifúngicos del anfitrión y la inactivación y muerte de las células huésped por micotoxinas segregadas en el reconocimiento del agente causal (Durrant y Dong, 2004). Asimismo, se activan como respuesta a la presencia del agente biótico las defensas constitutivas o preformadas tales como: la lignificación, suberización y la formación de calosas que pueden estar presentes durante el ciclo de vida de la planta o formarse al momento de la infección del patógeno (Montes-Belmont, 2009), así como las defensas químicas: producción de fenoles, saponinas, antocianinas, flavonoides, glucocinatos, etc. (Lustre-Sánchez, 2022).

Ciclo biológico de *Fusarium* spp. en *Agave*

Los ciclos de infección se desarrollan en tiempo y espacio, de manera leve o severa, agresiva o sutil y la interacción del hospedero influenciado por el ambiente o la interferencia del hombre (López-Bautista *et al*., 2020). Dentro del componente clima, el sistema epidemiológico de la marchitez por *Fusarium* sp., la temperatura y humedad son los principales factores que regulan los ciclos de infección. Los ciclos de infección se desarrollan con más severidad en regiones de alta montaña debido a la humedad que guarda el suelo, siendo esta una de las condiciones que favorece el desarrollo de *Fusarium*, sin embargo, en las zonas de menos altitud la marchitez del agave es menos severa (Flores-López *et al.,* 2016). En términos generales, el ciclo de infección empieza cuando la planta muere y cae al suelo, el micelio y las clamidosporas son liberadas (Figura 3), éstas germinan en condiciones de temperaturas de entre 10 a 25 °C y humedad relativa de 74%, e invaden las raíces del huésped; el micelio avanza intercelularmente y penetra por xilema, posteriormente el hongo se desarrolla en las traqueidas y el tejido parenquimatoso (Rodríguez-Garay *et al*., 2015; Flores-López *et al*., 2016; Ramos *et al*., 2017). Los síntomas de las plantas infectadas por *F. oxysporum* son: pérdida de la turgencia, los agaves se debilitan y adquieren una tonalidad que va del verde claro al amarillo-verdoso, en la base de la piña y el cogollo se observa una pudrición seca. Posteriormente, las pencas se enrollan o "encarrujan" y en la base de la piña se observa necrosis y en algunos casos se observa la pudrición seca del cogollo, finalmente, muere la planta y el ciclo se repite bajo las condiciones propicias antes mencionadas. La infección de los hijuelos puede producirse por infección de la planta madre, por semillas o por el suelo no desinfectado (Villa-Martínez *et al*., 2015; Flores *et al*., 2016; DGSV-CNRF, 2017). Es posible que el hongo se disemine a las plantas sanas por contacto directo con enfermas, también la transmisión puede ser por la semilla infectada (Delgado-Ortiz *et al*., 2016). Se ha encontrado el complejo *Fusarium* en plantaciones de un año, por el uso de hijuelos provenientes de plantas aparentemente sanas (Flores *et al.*, 2010). La colonización de los tejidos y de la raíz probablemente no sólo dependen de la cepa del hongo, sino también de la especie y del manejo de la planta. Las condiciones hídricas son de vital importancia para el agave ya que cuando existe poca disponibilidad de agua en el suelo donde se cultiva agave, se puede disminuir el crecimiento de las

plantas debido a que se afectan los procesos fotosintéticos y de respiración y las hojas pierden turgencia lo que conlleva al marchitamiento (Campbell y Benson, 1994).

Métodos de control del Complejo *Fusarium* y perspectivas de manejo de la marchitez vascular en *Agave*

Actualmente, es complicado controlar a *Fusarium* debido a que este hongo tiene una larga supervivencia en el suelo gracias a sus estructuras de resistencia como son las clamidosporas, sin embargo, para el manejo de la marchitez en agave se han implementado diferentes medidas desde el marco legal, dispuestas en el Diario Oficial de la Federación (2013) y que, a través de la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER), se le encomendó al Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA) la reglamentación pertinente para el establecimiento, cosecha, control cultural, químico y biológico del *Agave*, cuyos agentes causales se consideran a cinco especies de *Fusarium* pertenecientes a los complejos *F. oxysporum* (FOSC), *F. solani* (FSSC) y *F. fujikuroi* (FFSC), reportados por López-Bautista *et al*. (2020), además de *Thielaviopsis paradoxa*, *Cercospora agavicola y Pectobacterium carotovorum* (DOF, 2013).

Control cultural

El control cultural es una de las primeras prácticas agronómicas empleadas como parte del manejo integrado de plagas, que consiste en conservar la sanidad del suelo mediante la destrucción de residuos vegetales enfermos, desinfección de herramientas, poda sanitaria, así como fertilización adecuada y jimas de recuperación fitosanitaria y evitar establecer plantaciones en la época con mayor humedad en el suelo y ambiente (Tlapal-Bolaños, 2014). Esta diversidad de actividades puede contribuir a mejorar la calidad de la producción, así como el rendimiento y una mejora ambiental. Una de la principales actividades que ha puesto en riesgo al cultivo del agave es el monocultivo durante largos periodos de tiempo, esto ha permitido identificar impactos ambientales negativos, por ejemplo, la alta vulnerabilidad de sistemas ecológicamente artificiales y genéticamente homogéneos frente al cambio climático, resiliencia baja a eventos climáticos extremos y susceptibilidad a plagas, la carencia de biodiversidad y suelo biológicamente activo, ineficiente reciclaje de nutrientes y dependencia a insumos externos y un alto empleo de agroquímicos (Gliessman, 2013). Hoy en día se recomiendan los policultivos por la diversificación productiva, el uso de tecnologías ecológicas, mayores rendimientos, reducción del daño por plagas y maleza y mejorar la eficiencia del uso de agua, energía, luz y nutrientes, porque las diferentes especies de plantas se ubican en diferentes alturas, doseles y necesidades, también tienen una mejor eficiencia edáfica (Yahuza, 2011).

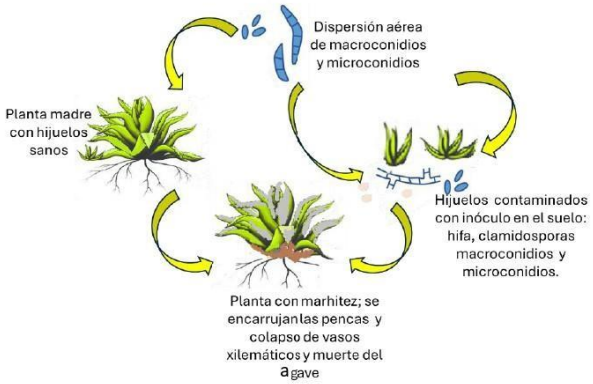


Figura 3. Ciclo de la marchitez seca en plantas de *Agave* causada por *Fusarium* spp. La diseminación de la enfermedad puede ser aérea, los microconidios caen sobre las hojas o pencas de agave y se empiezan a encarrujar. El tejido infectado cae al suelo y las esporas y/o clamidosporas infectan a las raíces secundarias. A partir de la planta madre infectada también es posible que los hijuelos se contaminen.

Control químico

El control químico en el cultivo de agave comprende bactericidas, insecticidas, fungicidas y herbicidas. Estos últimos, son de gran importancia debido a que la maleza es uno de los problemas fitosanitarios agrícolas más importantes. En el cultivo de agave las malezas de hoja ancha y hoja angosta representan una grave problemática; si no se controlan de manera adecuada pueden ocasionar severos daños al crecimiento y desarrollo de la planta y por lo tanto los rendimientos disminuyen debido a la competencia por espacio y nutrientes con estas malezas, además de convertirse en plantas hospederas de insectos plaga y vectores de enfermedades como la marchitez vascular ocasionada por los complejos de *Fusarium* (Ma *et al*., 2013). Para el caso del manejo de malezas hospedantes de *Fusarium,* en los cultivos de agave es importante evitar el uso de herbicidas no selectivos como el glifosato y el glufosinato de amonio de amplio espectro, debido a su alto grado de toxicidad en plantas y humanos. Por lo tanto, se recomienda sustituir su uso con cubiertas vegetales entre las hileras del cultivo como una acción ecológica (Tlapal-Bolaños, 2014).

Por otra parte, ante la presencia de la marchitez en agave causada por *Fusarium,* se ha reportado el control químico como la acción más común y eficiente para el manejo de los complejos de *Fusarium* sobre agave (Tabla 2). Para el caso del control de *F. oxysporum* se ha reportado la aplicación de Sulfato de cobre pentahidratado y Metanosulfonato de Etilo con una efectividad del 95% y 71% respectivamente, aunque tienen efectos de residualidad. Sin embargo, se ha encontrado que el exceso de las aplicaciones de cobre en las plantas del género *Agave* reducen el desarrollo de nuevas raíces (Rubio-Cortés, 2007). También se ha reportado la aplicación Fluxatyroxad+piraclostrobina, que tiene acción preventiva y curativa al inhibir la germinación de las esporas y el crecimiento del micelio en el desarrollo de los hongos fitopatógenos con una efectividad del 80%. Pero, al igual que el Azoxystrobin, Procloraz y Difenoconazole, fungicidas considerados ligeramente tóxicos (Ayala *et al*., 2005) presentan residualidad impactando negativamente al suelo, cuerpos de agua y ambiente (Martínez-Palacios *et al.*, 2019), esto aunado a la eliminación de microorganismos benéficos en el suelo.

Respecto a los daños que los productos químicos producen a los animales y al ser humano se encuentran los de intoxicación por inhalación, contacto directo y acumulación en los tejidos grasos que a la larga se convierten en cancerígenos (Villa-Martínez *et al*., 2015).

Con respecto a lo anterior, resulta importante buscar estrategias más ecológicas para contrarrestar el impacto negativo de los productos químicos al controlar la marchitez en agave causada por el complejo de *Fusarium.*

Debido al daño ambiental provocado por el uso de los productos químicos para combatir a *Fusarium* en el cultivo de agave, es necesario buscar estrategias que aminoren el impacto ambiental negativo, y que disminuyan los costos de producción. A partir de la revisión documental analizada sobre los métodos alternativos para el control del complejo *Fusarium,* en la Figura 4 se presentan diferentes métodos de prevención y/o control y su porcentaje correspondiente de uso en laboratorio, invernadero y/o campo, en donde se destaca que el 33% de ellos hace referencia al empleo de los **agentes antagonistas.**

En este sentido desde hace tiempo se aplica el control biológico como un método alternativo efectivo, con casos de éxito, demostrando el potencial biológico de algunos microorganismos de utilidad para el control de diversos patógenos. Entre los microorganismos potenciales destacan los hongos y bacterias que son capaces de controlar enfermedades transmitidas por el suelo, a través de su actividad antagónica directa hacia los patógenos o compitiendo de manera indirecta por recursos espaciales y áreas tróficas comunes (Lecomte *et al*., 2016) y actuando como biocontrol de plagas y enfermedades en el agave y otros cultivos (*Trichoderma y Bacillus*). Además, han sido una alternativa para promover el crecimiento de las plantas. A este respecto, destaca la acción biológica del hongo del suelo *Trichoderma*, el cual tiene un amplio espectro de acción sobre agentes patógenos, por ejemplo, se ha reportado el control de la marchitez causada por el complejo *Fusarium oxysporum*, donde *T. viride* mostró una efectividad de control de hasta del 99%, según Manayay *et al.* (2016). Esto se debe a que *Trichoderma* tiene plasticidad ecológica, adaptabilidad y la capacidad por colonizar diferentes sustratos. También gracias a sus mecanismos de acción como resultado de su metabolismo, como son: competencia por espacio y nutrientes, antibiosis y micoparasitismo. Otra investigación que coincide es la de Tlapal-Bolaños *et al.* (2014) donde mencionan que la aplicación de *Trichoderma* spp. y *Bacillus subtillis* mostró una efectividad del 50%. De igual manera, el Consejo Regulador del Tequila reporta que en Jalisco a las plántulas de *Agave tequilana* les aplican tratamientos preventivos con *Trichoderma* y *Bacillus,* con la finalidad de evitar la presencia de patógenos como *Fusarium,* ya que este patógeno también afecta a la planta en el estadio de plántula. En la Tabla 3 se muestra la efectividad de la aplicación de *Trichoderma* spp. para el control de diferentes especies

de *Fusarium* en otros cultivos de importancia agrícola. Se puede observar que este patógeno ataca a diversos cultivos y que al utilizar *Trichoderma* para su control se usan diferentes especies de este antagonista cuya respuesta de efectividad tiene porcentajes diferentes que están en un rango de 90% al 26%. También se confirma que este problema fitosanitario causado por *Fusarium* no es exclusivo del agave, sino también de otros cultivos. Además, estos resultados indican que hay que tener cuidado en elegir al antagonista adecuado según la problemática en estudio.

Por otra parte, el 15% de los documentos analizados hace referencia al uso de los **extractos vegetales** de plantas de importancia agrícola como método alternativo para el control de *Fusarium*. Villa-Martínez *et al.* (2015) muestran evidencias pertinentes de un estudio sobre la efectividad biológica de diversas especies vegetales con propiedades fungicidas y/o bactericidas con alta eficiencia para el control de *Fusarium.* spp. Almazán *et al*., (2022) obtuvieron el extracto acetónico de *Agave cupreata* y determinaron el perfil fitoquímico por cromatografía en capa fina, y se evaluó la inhibición del crecimiento micelial y producción de esporas; los resultados mostraron que el porcentaje de producción de esporas disminuyó un 92% para *Fusarium subglutinans*, debido a la presencia de alcaloides, flavonoides, saponinas and triterpenos que favorecen el biocontrol. Estos resultados son muy interesantes porque a partir de las mismas plantas de agave se puede tener un control sobre especies que pertenecen al complejo *Fusarium*, como es el caso de *F. subglutinans*. En estudios *in vitro* realizados por Rodríguez *et al.* (2007), donde se utilizó *Flourensia retinophylla* para el control de *F. oxysporum,* se logró una efectividad del 100%. Asimismo, Contreras-Arredondo *et al.* (2011), utilizaron por su parte, extractos de *Cowanai plicata* D. Don. contra este hongo patógeno, obteniendo también una efectividad biológica del 100%. Como se ve, estudios como estos revelan que *Fusarium oxysporum* se puede controlar mediante el uso de extractos vegetales para disminuir la incidencia de la marchitez seca en agave causada por el complejo *Fusarium.*

Tabla 2. Efectividad del control químico de *Fusarium* sp. en *Agave*.

Nombre comercial	Dosis	Huésped	Patógeno	Efectividad	Referencia
Sulfato de cobre pentahidratado	1.5 L/ha	*Agave* sp.	*F. oxysporum*	95%	Flores *et al*., 2016
Fluxatyroxad+ piraclostrobina	1.5 L/ha	*A. tequilana* Weber variedad Azul	*Fusarium* sp.	80%	Nuño, 2005
Metanosulfonato de Etilo	15 mM	*A. americana*	*F. oxysporum*	71%	Reyes-Zambrano *et al*., 2021

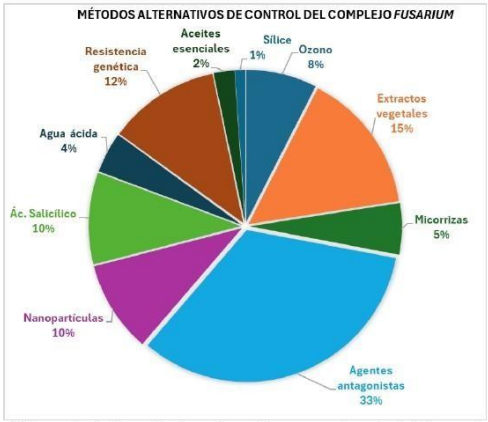


Figura 4. Resultados de la búsqueda de los métodos alternativos para el control del complejo *Fusarium* que afecta al agave y otros cultivos agrícolas.

Tabla 3. Efectividad biológica de *Trichoderma* spp. para el control de la marchitez causada por el complejo *Fusarium* en otros cultivos

Hospedero	Complejo *Fusarium*	Agente de control	Efectividad	Referencia
Tomate	*F. oxysporum* f. sp. Lycopersici, *F. oxysporum* f. sp. radicis-lycopersici, y *F. solani*	*T. viride*	90%	Manayay *et al*., 2016
Mango	*F. oxysporum* *F. subglutinans*	*T. harzianum*	74% 64 %	Michel-Aceves *et al*., 2005
Jitomate	*F. oxysporum*	*T. atroviride*	71%.	Yogalakshmi *et al*., 2021
Maracuya	*F. solani foram*	*T. viride*	69%	Da silva *et al*., 2010
Tomate	*F. oxysporum*	*T. asperelloides* y *T. asperellum*	67% 63%	Rodríguez-García y Wang-Wong, 2020
Trigo	*F. graminearum*	*T. atroviride*	60%	Cabrera *et al.,* 2020
Soya	*Fusarium* sp.	*T. asperellum*	26 %	Cruz-Triana *et al*., 2017

La **resistencia genética** se emplea un 12% dentro de los métodos importantes para el control de *Fusarium.* En su defensa, las plantas responden al ataque de los patógenos con barreras físicas como la pared celular y la cutícula, otro es la inmunidad adquirida por efectores (ETI), la cual incluye a los genes R, que codifican un grupo de proteínas tipo NBS-LRR, relacionadas con la resistencia de las plantas al entrar en contacto con los patógenos (Riva, 2010; Ma *et al*., 2013; Villa-Martínez *et al*., 2015). La inducción de resistencia sistémica en el hospedero es uno de los mecanismos indirectos de mayor interés en la actualidad. Dentro de los agentes de control reportados como efectivos elicitores de este mecanismo se encuentran varias especies del género *Trichoderma*, principalmente para controlar fitopatógenos foliares (Harman *et al*., 2004), tal es el de la marchitez vascular del agave causada por el complejo *Fusarium.* Al respecto, existen estudios del género *Agave* para determinar su variabilidad genética, por ejemplo, en el estado de Sonora se estudiaron tres poblaciones de *A. angustifolia*. Los resultados mostraron un índice de similitud de 0.786 en las interpoblaciones y de 0.827 para las intrapoblaciones. La variabilidad promedio intrapoblacional fue de 0.26 y la distancia genética en una misma población de 0.106 y 0.093 (Barraza-Morales *et al*., 2006), de esta manera se crean líneas genéticas resistentes. Recientemente, Reyes-Zambrano *et al*. (2021) reportaron estudios sobre la selección y análisis de polimorfismos en variantes somaclonales en *A. americana* resistentes a *F. oxysporum,* tratados con etil metasulfonato, donde se demostró que esta técnica causa mutaciones puntuales en células de callo mediante micropropagación de esta planta, lo cual deriva en cultivares genéticamente resistentes a este patógeno. En estas señales participa además la interacción de un gen de resistencia (R) del huésped con la proteína efectora del patógeno, a esto se le conoce como inmunidad activada por efectores (ETI). Para que se genere esta defensa interviene la resistencia basal (PTI) y finalmente la resistencia sistémica adquirida (SAR). En este sentido, el ácido Salicílico (SA) brinda una señal importante en la activación de PTI y ETI. El salicilato de metilo (MeSA) derivado de SA es la parte activa de defensa para establecer la resistencia sistémica adquirida (Vlot *et al*., 2009; Rangel *et al*., 2010; Maruri-López *et al*., 2019).

El uso de las **nanopartículas** en esta revisión ocupa el 10% (Figura 4). Es importante mencionar que las nanopartículas de plata (AgNPs) son agregados aislados del mismo metal, de tamaño de 1 a 100 nm (Sifontes *et al*., 2010), que les confiere propiedades físicas, químicas y biológicas con aplicación efectiva y amigable al ambiente en diferentes campos como la agricultura. (Álvarez-Carbajal *et al*., 2020). En la síntesis biológica de AgNPs se utilizan agentes reductores tales como las proteínas, péptidos, carbohidratos, bacterias, hongos, levaduras, algas y plantas (Cardoso, 2016). En investigaciones al respecto, se sintetizaron AgNPs con un tamaño de 30-150 nm de hojas de *Agave americana*, *Mentha spicata* y *Mangifera indica* para analizarlas y detectar su actividad biológica. Las sintetizadas de *A. americana* mostraron actividad significativa (96%) contra *Staphylococcus aureus,* resistente a la meticilina, contra *Escherichia coli* (95%) y *Fusarium oxysporum* (89%). Las AgNPs de *M. spicata* mostraron también una buena actividad antioxidante a 300 µL (79%) y a 1000 µL (88%) (Ahmad *et al.,* 2016). Álvarez-Carvajal *et al.* (2020) mostraron la efectividad de las AgNPs estabilizadas con quitosano (Qs) para el control de la marchitez vascular en tomate causada por *Fusarium oxysporum*, donde las nanoestructuras inhibieron el 70% del crecimiento micelial de este hongo. Este

método basado en la nanotecnología es una alternativa, eficaz, eficiente y ecológica ya que pueden responder al control de agentes patógenos.

El **ácido salicílico (SA)** ocupa el 10% de los métodos alternativos reportados para el control de *Fusarium*. Es una fitohormona natural de las plantas que presenta diferentes funciones de resistencia a factores abióticos (Horváth *et al*., 2007; Yuan y Lin, 2008; Rivas-San Vicente y Plasencia, 2011) y bióticos (Khan *et al*., 2015; Dempsey y Klessig, 2017). Además, induce resistencia basal a plagas y enfermedades, esto es, cuando el patógeno penetra en la planta se establecen señales que activan el efecto del ácido y con ello la resistencia a toda la planta. En Brasil, se evaluó el efecto del ácido salicílico sobre la inducción de resistencia a la secadera o damping-off en plántulas de remolacha, así como su actividad antifúngica sobre *Fusarium* sp. en cultivo *in vitro*. Se aplicaron concentraciones de 0.5, 1.0, 1.5 y 2.0 mM durante 5 min y se encontró que el SA indujo crecimiento de las plántulas y detuvo la enfermedad en la dosis de 2.0 mM (Bertocelli, *et al*., 2016).

El uso del **ozono (O_3)**, por su parte, ocupa el 8% como un método alternativo contra *Fusarium*. Es un gas usado como desinfectante y esterilizante y ha tenido auge desde hace más de 30 años en la industria, casas, hoteles, centros de salud y en la agricultura (Chuajedton *et al*., 2015; Erazo, 2012). Por su alto poder oxidante, presenta efecto sobre virus, hongos y bacterias, en éstas últimas destruye la membrana celular por la vía de las glucoproteínas y glucolípidos, lo cual depende de la concentración aplicada (García-Chamizo *et al*., 2020). Para medir la concentración de ozono como máximo 0.11 ppm (0.2354 $mg \cdot m^{-3}$, conforme a la NOM-020-SSAI-1994), ya sea en gas o líquido, se determina con los métodos: Yodométrico, Absorción de luz UV, Amperimétrico o por Colorimetría (Beutelspacher y Calderón, 2005). Al respecto, Erazo (2012) construyó un ozonificador con capacidad de 300 m^3 en la purificación de ambientes. Para probarlo se realizaron dos ensayos, en el primero se aplicó el ozono en una superficie de 400 cm^2 con bacterias y hongos contaminantes aislados en medios de cultivo puros, el tiempo de exposición fue de 1, 5 y 60 minutos de contacto; con el tiempo de exposición las colonias de hongos y bacterias disminuyeron de 500 a 18 colonias. En el segundo ensayo se probaron bacterias heterotróficas totales (122, 324, 412, 640 colonias), además de mohos y levaduras (4, 8, 12 y 22 colonias). El ozono tuvo un control para bacterias del 44.2 a 91.7% y, para mohos y levaduras, del 66 al 100%. Por otro lado, Chuajedton *et al*. (2015) evaluaron la efectividad de las miliburbujas y microburbujas de ozono en el control postcosecha del moho verde (*Penicillium digitatum*) en mandarina, durante 0, 15, 30, 45 y 60 min de exposición. Las microburbujas mostraron mejores resultados a partir de los 15 min de exposición y a los 60 min las esporas se deformaron.

El empleo de **micorrizas** registra un 5% contra *Fusarium*. El uso de ellas se encuentra ampliamente extendido gracias a los efectos de las especies de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en las enfermedades del marchitamiento vascular, ya que mejoran la resiliencia de las plantas a los desafíos ambientales, estimulan el desarrollo de las raíces, el crecimiento de las plantas y mejoran la tolerancia a los patógenos transmitidos por el suelo, como es el caso del género *Fusarium*. La inoculación dual de HMA, *Pseudomonas fluorescens* y *Trichoderma* sp. se encuentran entre los agentes de biocontrol más eficaces contra las enfermedades del marchitamiento vascular (Boutaj *et al*., 2022). En el estado de Michoacán, consorcios de hongos micorrízicos tuvieron efecto en el biocontrol de *F. oxysporum* al ser inoculados en plantas de *Agave cupreata*, en condiciones de invernadero, ya que disminuyeron la severidad de la marchitez en un 41% y promovieron el crecimiento vegetal con la micorrización al incrementar la biomasa seca total de las plantas, luego de 240 días de inoculación (Trinidad-Cruz *et al*., 2017). Robles-Martínez *et al* (2013), determinaron que existe una compatibilidad funcional de inóculos nativos de hongos de micorriza arbuscular (HMA) en hijuelos vegetativos (HI) y bulbilos florales (BU) de *Agave angustifolia*, utilizando parámetros de crecimiento y nutrición como indicadores. Esto muestra que hay una interacción positiva entre las micorrizas y plantas de agave y que a su vez le proveen de múltiples beneficios nutricionales y ecológicos. Por su parte, Quiroga-Rojas *et al*. (2012) en estudios *in vitro*, utilizaron un consorcio de micorrizas con *Azotobacter* spp., *Azospirillum* spp., *Trichoderma* spp. y *T. lignorum* contra *Fusarium* sp., logrando una efectividad del 93%. Estos resultados confirman que usar micorrizas para el control de la marchitez en agave puede ser efectivo y que puede derivar en la disminución de costos y en el impacto negativo al ambiente provocado por la aplicación de los químicos contra el complejo *Fusarium*.

En la presente revisión se encontró también que el **agua ácida** se usa en un 4%. El agua ácida se produce por electrólisis de sales como NaCl, KCl o $MgCl_2$ con o sin el uso de diafragmas de platino (Pt), platino más iridio (Pt + Ir) o dióxido de iridio (IrO_2). Se aplica en nebulizaciones a los cultivos frutícolas y hortalizas en invernadero para el control de virus, bacterias y hongos (Gómez *et al*., 2017). En un estudio se probó el control de nueve bacterias y tres hongos (10^5-10^6 UFC/mL), se trataron de 1-20 minutos con agua electrolizada, los

resultados mostraron efectividad al utilizar agua electrolizada con diafragma y sin diafragma; la solución salina estéril no tuvo control alguno (Myung-Ho *et al*., 2004). Yamaki y Schörner (1995) realizaron un estudio en plantas de pepino con mildiú pulverulento para evaluar su control con agua ácida (pH de 2.4) y agua alcalina fuerte (pH de 11.5). Se probaron cuatro tratamientos: el primero con fungicida convencional, el segundo, agua ácida, el tercero, agua ácida alternada con agua alcalina y el cuarto sin aspersión. Entre los días 16 y 31 después del trasplante, los síntomas se propagaron rápidamente en la superficie sin control, mientras que en el área de aspersión con el fungicida los síntomas fueron reprimidos. El agua ácida redujo los síntomas del mildiú pulverulento de las hojas de pepino a partir del día 18, durante aproximadamente dos semanas. En otra investigación se probó el agua ácida en cepas de $8x10^7$ esporas mL^{-1} de los hongos: *Botrytis cinerea,* aislado de zarzamora, *Colletotrichum gloeosporioides* aislado de mango, guayaba y lichi, *Fusarium solani* aislado de chile y estevia, *Monilinia fructicola* aislado de durazno, *Penicillium digitatum* aislado de limón mexicano y limón persa, *Penicillium* sp., aislado de papaya y *Rhizopus stolonifer* aislado de yaca y guanábana, para evaluar su efectividad. Los resultados mostraron ser efectivos en el control de las cepas antes mencionadas en 24 y 48 horas (Gómez *et al.*, 2017).

En relación al uso de los **aceites esenciales**, en esta revisión se registró un 2% como un método contra el hongo *Fusarium*; es diverso el origen vegetal de donde se extraen estos productos, la mayoría de los estudios reportados son *in vitro*, los cuales muestran una eficiencia de hasta 100% para el control de *Fusarium*, por ejemplo, Vásquez *et al*. (2013), reportan el uso de *Chenopodium album y C. ambrosioides* para el control de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* y *F. solani* con una eficiencia del 100%; resultados similares obtuvieron Balanta *et al*. (2013) al utilizar *Thymus vulgaris* contra *Fusarium* sp., mientras que Zhao *et al*. (2013) al aplicar *Inula britannica* contra *Fusarium oxysporum* lograron una eficiencia del 96%. Estos resultados muestran también la efectividad de los aceites esenciales para el control del complejo *Fusarium.*

El **sílice** ocupa el 1% como un método alternativo reportado. García-Ramos *et al.* (2018), demostraron que la aplicación de fertilizantes complementados con sílice al 20% disminuyó hasta en un 40% la severidad e incidencia de la marchitez en tomate causada por *F. oxysporum*, demostrando que su uso puede ser una opción para el tratamiento contra *Fusarium*. Aunque en la revisión bibliográfica no se encontraron más documentos al respecto, esto es una oportunidad para generar investigaciones que apoyen estos resultados.

DISCUSION

La situación actual del agave, según el Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria menciona que esta planta es muy importante para México, ya que su cultivo y su industria representa una importante fuente de ingresos para los productores, industrializadores y comercializadores de este producto agrícola; sin embargo, en los últimos años este cultivo ha sido afectado por *Fusarium* causante de la marchitez seca, ocasionando daños de importancia económica en las plantaciones. Por este motivo y con el objetivo de reducir los niveles de incidencia de este patógeno mediante una estrategia ecológica y de bajo costo, se ha realizado esta revisión documental de 10 métodos alternativos (químicos, biológicos, ecológicos y fitosanitarios), para tener un panorama más amplio de las posibles actividades preventivas o correctivas que a lo largo de 30 años se han usado para el control de la marchitez en agave y otros cultivos, como referencia para generar alternativas de solución en el sector productivo.

Sin embargo, es importante destacar que esta revisión ha tratado de evaluar las perspectivas actuales para el control del complejo *Fusarium* causante de la marchitez en agave y otros cultivos, pero, es importante considerar las condiciones agroclimáticas y geográficas, así como las características de los hospederos de este patógeno porque tienen un papel importante en la respuesta de control de los métodos alternativos. También hay que reconocer que éstos tienen buena eficiencia según los resultados mostrados en este documento, además de ser ecológicos y de bajos costos para ser utilizados en futuras investigaciones.

CONCLUSIONES

De acuerdo al análisis realizado en la literatura consultada, es importante reconocer que la marchitez vascular es una de las principales enfermedades del agave y es causada por varias especies del género *Fusarium* que en su conjunto conforman un "complejo". Ante la problemática fitosanitaria actual, es necesario implementar métodos alternativos, efectivos, ecológicos y rentables, de manera complementaria al manejo agronómico en el cultivo del agave. Al respecto, la aplicación de agentes biológicos como *Trichoderma* y *Bacillus*, las micorrizas, extractos vegetales y aceites esenciales, el ozono, ácido salicílico, agua ácida y el uso de nanopartículas, se reportan ser efectivos como estrategias alternativas y han demostrado ser eficientes para el control preventivo y correctivo de esta enfermedad. Sin embargo, se necesitan desarrollar

estudios más amplios y recientes sobre la eficiencia de estos y otros métodos alternativos para el combate sustentable y ecológico de los diversos complejos de *Fusarium* reportados como causantes de la marchitez en agave y otros cultivos agrícolas.

Funding. This research was funded by the National Council of Science and Technology (CONACYT) through the doctoral scholarship with registration number DICARM-1321.

Conflict of interest. The authors declare that they do not have conflicts of interest.

Compliance with ethical standards. Does not apply.

Data availability. Data is available from Dr. Amaury-M. Arzate-Fernández (corresponding author: upon request).

Author contribution statement (CRediT). M.C. Corona-Rodríguez-Conceptualization, data curation, investigation, writing-review editing. **H.G. García-Núñez**- Conceptualization, metodology, investigation, format analysis. **A.M. Arzate-Fernández**-Conceptualization, investigation, project administration, visualization, validation, writing-review and editing. **T.H. Norman-Mondragón** - investigation, metodology, visualization. **V. Lamus-Molina**- Investigation, methodology, writing-review and editing.

REFERENCES

Andrés, J.L., Vicente, M.J., Cenis, J.L., Collar, J. y Tello, J., 2001.Variación genética y patogénica de *Fusarium oxysporum* f. sp. dianthi en España. Boletín de Sanidad Vegetal de Plagas 7, pp 249-257.

Anaya, J.L., González, M.M., Villordo, E., Rodríguez, R., Rodríguez, R., Guevara, R.G., Guevara, L., Montero, V. and Torres, I., 2011. Selección de genotipos de chile resistentes al complejo patogénico de la marchitez. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 2, pp. 373-383. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007093420110003000006&lng=es&tlng=es.

Álvarez, F., González, T., Armenta, A.D., Méndez, R., Eaquer, E., Juárez, J. y Encinas, D., 2020. Silver nanoparticles coated with chitosan against *Fusarium oxysporum* causing the tomato wilt. Nanopartículas de plata recubiertas con quitosano contra la marchitez vascular causada por *Fusarium oxysporum* en plántulas de tomate. *Biotecnia*, 22, pp. 73-80. https://doi.org/10.18633/biotecnia.v22i3.952

Ahmad, B., Shireen, F., Bashir, S., Khan, I. y Azam, S., 2016. Green synthesis, characterization and biological evaluation of AgNPs using *Agave americana*, *Mentha spicata* and *Mangifera indica* aqueous leaves extract. *Nanobiotechnology*, 10, pp. 281–287. https://doi.org/10.1049/iet-nbt.2015.0053

Almazán, A., Moreno, M.E., Hernández, E., Vázquez, M., Mora, J.A., Cabrera, E., y Alvarez, P., 2022. Phytochemical profile and in vitro activity of Agave angustifolia and A. cupreata extracts against phytopathogenic fungi. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 40. pp 169-187. https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.2202-6

Arbeláez, T.G., 2000. Algunos aspectos de los hongos del género *Fusarium* y de la especie *Fusarium oxysporum*. *Agronomía Colombiana*, 17, pp. 11-22. https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=CO20020021127

Ayala, S.J.L., Mur, R.R., Ferrer, G.C.A. y Castellanos, L., 2005. Programa Especial para la Seguridad Alimentaria y el Desarrollo Rural (PESA-FAO) en la República Bolivariana de Venezuela, pp. 54-57. https://www.fao.org/americas/programas-y-proyectos/es/

Balanta, J.F., Ramírez, L. and Caicedo-Bejarano, L.D., 2013. Características fisicoquímicas y actividad antimicótica del extracto de tomillo sobre cepas *Fusarium oxysporum*. *Ingenian*, 7, pp. 29-35.

Barraza, A., Sánchez, F.L., Robert, M., Esqueda, M. and Gardea, A., 2006. Variabilidad genética en *Agave angustifolia* Haw. de la Sierra Sonorense, México, determinada con marcadores AFLP. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 29, pp. 1–8. https://doi.org/10.35196/rfm.2006.1.1

Bertoncelli, D.J., Mazaro, S.M., Serrão, R.R.C.D., Locatelli, N., Lewandowski, A. and Wagner, J.A., 2016. Ácido salicílico na indução de resistência ao tombamento de plântulas de beterraba e atividade antifúngica contra *Fusarium* sp., *in vitro*. *Semina: Ciências Agrárias*, 37, pp. 67-75.

https://www.redalyc.org/pdf/4457/445744667007.pdf

Beutelspacher, S.E., and Calderón, A.J.M., 2005. Diseño y construcción de un generador de ozono para aplicaciones de purificación de agua. CENIDET, Cuernavaca, México, pp. 1-151. https://nanopdf.com/download/diseo-y-construccion-de-un-generador-de-ozono-para_pdf

Booth, C., 1971. The genus *Fusarium*. Commonwealth. Mycological Institute, Kew, pp. 32-35.

Boutaj H., Meddich A., Roche, J., Mouzeyar, S., and El Modafar C., 2022. The effects of mycorrhizal fungi on vascular wilt diseases. *Crop Protection*. 155. https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0261219422000345?via%3Dihub

Bragulat, M.R., Martínez, E., Castellá, G., and Cabañes, F.J., 2004. Selective efficacy of culture media recommended for isolation and enumeration of *Fusarium* spp. *Journal of Food Protection*, 67, pp. 207-11. https://doi.org/10.4315/0362-028X-67.1.207

Cabrera, M., Garmendia, G., Rufo, C., Pereyra, S., and Vero, S., 2020. *Trichoderma atroviride* como controlador biológico de fusariosis de espiga de trigo mediante la reducción del inóculo primario en rastrojo. *Terra Latinoamericana Número Especial*, 38, pp. 629-651. https://doi.org/10.28940/terra.v38i3.664

Camacho, M.D., Valenzuela, C., and Hernández, R., 2014. *Fusarium* spp. asociadas a clavel (*Dianthus caryophyllus* L.) en Baja California, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, *5*, pp. 1409-1415. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342014001001409&lng=es&tlng=es.

Campbell, C.L., and Benson, D.M., 1994. Epidemiology and Management Root Diseases. North Carolina state University. Department of plant Pathology. pp 334.

Cardoso, P.C., 2016. Nanopartículas de plata: obtención, utilización como antimicrobiano e impacto en el área de la salud. *Revista Hospital de Niños*, 58, pp. 19-28. http://revistapediatria.com.ar/wp-content/uploads/2016/04/260-Nanoparti%CC%81culas-de-plata.pdf

Cardona, L.F., and Castaño, J., 2019. Comparación de métodos de inoculación de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder and Hansen, causante del marchitamiento vascular del tomate. *Revista Académica Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 43, pp. 1-7. https://doi.org/10.18257/raccefyn.854.

Carrer, R., Guimarães, M., Abreu, V., Pereira R., Alves G., Menezes, R., Dias, D.V., and Marcos, G.C., 2023. *Fusarium sacchari* associated with stem rot in sweet corn in Brazil. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 53. https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=253074416005

Chandra, N.S., Wulff, E.G., and Udayashankar, A.C., 2011. Prospects of molecular markers in *Fusarium* species diversity. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 90, pp. 1625–1639 . https://doi.org/10.1007/s00253-011-3209-3

Chuajedton, A., Uthaibutra, J., Whangchai, K. and Nuanaon, N., 2015. Ozone microbubbles disinfection technique to inactivate *Penicillium digitatum* in suspension. Acta Horticulturae Procedure IInd Southeast Asia Symposium on Quality Management in Postharvest Systems Eds.: Acedo, A.L. Jr. and Kanlayanarat, S. *Acta Horticulturae*, 60, pp. 355-358. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2015.1088.60

Contreras, M.E., Hernández, F.D., Sánchez, A., Gallegos, G., and Jasso De Rodríguez, D., 2011. Actividad Fungicida de Extractos de Cowania plicata D. Don. contra *Fusarium oxysporum* Schlechtend. Fr. y de *Pistacia lentiscus* L. contra *Colletotrichum coccodes* Wallr. Hunghes. *Revista Agraria Nueva Epoca*, 8. pp 6-13.

C.R.M., Consejo Regulador del Mezcal., 2020. El mezcal, la cultura líquida de México. Informe estadístico. pp.26. https://www.ecorfan.org/bolivia/researchjournals/Desarrollo_Economico/vol6num18/Revista_de_Desarrollo_Econ%C3%B3mico_V6_N18_3.pdf

C.R.M., Consejo Regulador del Mezcal., 2024. El mezcal, la cultura líquida de México. Informe estadístico. pp.26. https://www.ecorfan.org/bolivia/researchjournals/Desarrollo_Economico/vol6num18/Revista_de_Desarrollo_Econ%C3%B3mico_V6_N18_3.pdf

CRT., Consejo Regulador del Tequila, 2020. Historia de la denominación de origen. CRT, pp. 1-3. https://www.crt.org.mx/index.php/es/pages-3/otros-productos-vinculados-al-origen

CRT, Consejo Regulador del Tequila, 2022. Mapas Históricos. ART, pp. 1-3 https://www.crt.org.mx/EstadisticasCRTweb/

C.R.T, Consejo Regulador del Tequila, 2024. Historia de la denominación de origen. pp. 1-3. https://www.crt.org.mx/index.php/es/pages-3/otros-productos-vinculados-al-origen

Cruz, A., Rivero, D., Martínez, B., Echevarría, A., and Tania, A., 2017. Evaluación de la actividad antifúngica de *Trichoderma asperellum* Samuels ante patógenos fúngicos que afectan al cultivo de la soya (*Glycine max* L.). *Cultivos Tropicales*, *38*, pp.15-21. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258593620170004000006&lng=es&tlng=es.

Da Silva, M. C., Robert-Harri H., João, S. M., Pereira, A. and Adami, T. F., 2010. Diversidad e genética por marcadores moleculares em *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense no Estado de Santa Catarina. Ciência Rural

Delgado, J.C., Ochoa, Y.M., Cerna, E., Beltrán, M., Rodríguez, R., Aguirre, L.A., and Vázquez, O., 2016. Patogenicidad de especies de *Fusarium* asociadas a la pudrición basal del ajo en el centro norte de México. *Revista Argentina de Microbiología*, 48, pp. 222-228. https://doi.org/10.1016/j.ram.2016.04.003

Dempsey, D.M.A. and Klessig, D.F., 2017. How does the multifaceted plant hormone salicylic acid combat disease in plants and are similar mechanisms utilized in humans? *Biomedical Center Biology*, 15, pp. 1-11. https://doi.org/10.1186/s12915-017-0364-8

DOF, Diario Oficial de la Federación., 2013. ACUERDO por el que se establece la campaña y las medidas ftosanitarias que deberán aplicarse para el control y en su caso erradicación del picudo del agave, así como disminuir el daño de las enfermedades asociadas a dicha plaga en la Zona Denominación de Origen Tequila. http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5284294&fecha=08/01/2013.

DGSV-CNRF, Dirección General de Sanidad Vegetal-Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria., 2017. Marchitez del Agave, *Fusarium oxysporum*. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación-Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Alimentaria. Tecámac, México, pp.111. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/244026/Ficha_T_cnica_Fusarium_oxysporum_en_agave_Versi_n_FINAL.pdf

Durrant, W.E. and Dong, X., 2004. Systemic acquired resistance. *Annual Review of Phytopathology*, 42, pp. 185-209. https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.42.040803.140421

Flores, L.H.E., Chávez, D.A.A., Ruiz, C.J.A., Mora, O.C., and Rodríguez, M.V.M., 2016. Efecto del cambio climático sobre las zonas de riesgo por marchitez en el *Agave tequilana* Weber variedad Azul en Jalisco. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 13, pp. 2497-2510.

Erazo, C.L.F., 2012. Diseño y construcción de un ozonificador con capacidad de 300 m^3 para la purificación de ambientes. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias de la Ingeniería. UTE, 1-144 p. http://repositorio.ute.edu.ec/handle/123456789/19298.

Flores, L., H.E., Ireta, M.J. y Ruíz, C.J.A., 2010. Prevención y/o control de la marchitez del agave tequilero. Ficha de la Tecnología. INIFAP, pp. 1-2.

Flores, H.E., Chávez, Á. A., Ruíz, J.A., De la Mora, C., and Rodríguez, V.M., 2016. Efecto del cambio climático sobre las zonas de riesgo por marchitez en el *Agave tequilana* Weber variedad Azul en Jalisco. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*,13, pp. 2497-2510

García, J.M., Alcañiz, S., Fernández, F.J., Pérez, J.J., Silveira, D., and García, M., 2020. Revisión de las aplicaciones del ozono y su generación para el uso en mascarillas contra Patógenos.

Versión Preliminar. Grupo Unidad Científica de Innovación Ars Innovatio, Universidad de Alicante, España, pp. 1-14. http://hdl.handle.net/10045/104988.

García, E.J., Méndez S.J., and Talavera., 2010. El género *Agave* spp. en México: Principales usos de importancia socioeconómica y agroecológica. *Revista Salud Pública y Nutrición*, 5, pp.109-129. http://www.geaac.org/images/stories/DM_GeneroAgaveSSP_130311.pdf

García, A.J., 2018. México cuenta con 159 especies de agave; investigadores de la UNAM encontraron 4 nuevas. Universidad Nacional Autónoma de México, Boletín UNAM-DGCS-045, pp. 1-3. https://www.dgcs.unam.mx/boletin/bdboletin/2018_045.html

García, Y., Galindo, M.E., Murguía J., Landero, I., and Leyva, O.R., 2018. Fertilización complementada con sílice en la resistencia del tomate a *Fusarium oxysporum* Schtdl. *Agronomía Mesoamericana*, 29. https://doi.org/10.15517/ma.v29i1.27002

Goertz A.Z., Sebastian, M., Spiteller,, U., Steiner, H.W., Dehne, C., Waalwijk, C., de Vries, I., and Oerke, E. C., 2010. Fusarium species and mycotoxin profiles on commercial maize hybrids in Germany. *European Journal of Plant Pathology*, 128, pp.101-111. https://core.ac.uk/download/pdf/29238725.pdf

Gómez, J.R., Villarreal, B.T., Vázquez, L.A, Arteaga, G.R.I., y Osuna, G.J.A., 2017. Actividad esporicida de la solución electrolizada con pH neutro en hongos de importancia postcosecha. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas,* Publicación Especial, 19. pp. 3993-4007. https://doi.org/10.29312/remexca.v0i19.668.

Gómez, P., Sánchez, A., Virgen, G., Carvajal, C.R. and Padrón, E., 2011. Incidencia y severidad de la marchitez del *Agave tequilana* Weber Var. azul en la zona sur del Estado de Nayarit, México. *Revista Agraria Nueva Época*, 8, pp. 21-25. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/244026/Ficha_T_cnica_Fusarium_oxysporum_en_agave_Versi_n_FINAL.pdf

González, T., Troncos, R., Gonzalez, D., and Mendez, V., 2022. Patogenicidad de las cepas nativas de *Fusarium solani* en plantas de algodón transgénico en Baja California, México. *Tip Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas, 25*, pp. 1-7. https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2022.420

Gliessman, S., 2013. Agroecología: plantando las raíces de la resistencia. *Agroecología*. 8, pp.19-26.

Harman, G., Howell, C., Viterbo, A. y Chet I- Lorito M., 2004. *Trichoderma* species opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews,* 2, pp. 43-56. https://doi.org/10.1038/nrmicro797

Henao, E. D., Hernández, C.A., Salazar, C., Velasco, M.L., and Gómez, E.D., 2018. Identificación molecular de aislamientos de *Fusarium* asociados a maracuyá en el Valle del Cauca, Colombia 1 *Agronomía Mesoamericana*, 29. https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=437540200005

Hernández, R., López, A., Borreg, F., Espinoza, J., Sánchez, D., Maldonado, I.E. and López, L.A., 2014. Razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici en predios tomateros en San Luis Potosí. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 5, pp. 1169-1178

Horváth, E., Pál, M., Szalai, G., Páldi, E. and Janda, T., 2007. Exogenous 4-hydroxybenzoic acid and salicylic acid modulate the effect of short-term drought and freezing stress on wheat plants. *Biología Plantarum*, 51, pp. 480-487. https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s10535-007-0101-1.pdf

INEGI-CAJ, Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática-Consejo Agroalimentario de Jalisco., 2019. Conociendo la industria del tequila y el mezcal. Comunicado de prensa, 342. pp. https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/boletines/2019/OtrTemEcon/industriatequila.pdf

Infante, M., Avilés, M., Borrero, C., Demetrio, W.C. and Dionísio, J.A., 2018. Earthworms and *Fusarium oxysporum*: effect on strawberry plant growth and production. *Semina: Ciências Agrárias, 39*, pp 1437-1446. https://doi.org/10.5433/1679-0359.2018v39n4p1437

Kebede, H., Liu, X., Jin, J. and Xing, F., 2020. Current status of major mycotoxins contamination in food and feed in Africa. *Food Control*, 110, pp.69-75. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106975

Khan, M.I.R., Fatma, M., Per, T.S., Anjum, N.A. and Khan, N.A., 2015. Salicylic acid-induced abiotic stress tolerance and underlying mechanisms in plants. *Frontiers in Plant Science, Secc Plant Physiology*, 30, pp. 1-17. https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00462.

Lecomte, H., Alabouvette, C., Hermann, V., Robert, F., and Steinberg, C., 2016. Biological control of ornamental plant diseases caused by *Fusarium oxysporum*: A review. *Biological Control*, 101, pp.17-30.

Leslie, F. John and Summerell A. Brett., 2006. The *Fusarium* laboratory manual. Ed. Blackwell. Australia.369 pp.

Leyva, S.G., Vivas M.L., Héctor M., Espitia, E., Valadez, E., and Huerta, J., 2003. Diferenciación de aislamientos de *Fusarium graminearum* por patogenicidad y pcr. *Revista de Fitotecnia Mexicana*, 26, pp. 37-42.

Logrieco, A.F., Mulè, G., Moretti, A., and Bottalico, A., 2002. Toxigenic Fusarium Species and Mycotoxins Associated with Maize Ear Rot in Europe. *European Journal of Plant Pathology*, 108, pp. 597-609. https://link.springer.com/article/10.1023/A:1020679029993

López, V., Mora, G., Gutiérrez, M.A., Mendoza, C., Martínez- V.I., Coria-. J.J., Acevedo G., and Santana, B., 2020. Morphological and molecular characterization of *Fusarium* spp. associated to the regional occurrence of wilt and dry bud rot in *Agave tequilana*. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 38. 1-28. https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1911-4

López, G., Martínez, J., and Mayett, Y., 2014. Cadena de suministro del mezcal de Zacatecas, situación actual y perspectivas de desarrollo. *Contaduría y Administración*, 59, pp. 227-252. https://www.elsevier.es/es-revista-contaduria-administracion-87-sumario-vol-59-num-S0186104214X71019.

Lustre, H., 2022. Los superpoderes de las plantas: los metabolitos secundarios en su adaptación y defensa. *Revista Digital Universitaria*, UNAM, 23, pp. 1-8. https//doi.org/10.22201/cuaieed.16076079e2022.23.2.10.

Ma, L., J, Geiser, D.M., Proctor, R.H., Rooney, A.P., O'Donnell, K., Trail, F., Gardiner, M., Manners, J.M. and Kazan, K., 2013. *Fusarium* Pathogenomics. *Annual Review of Microbiology*, 67, pp. 367-399. https://doi.org/10.1146/annurev-micro-092412-155650.

Manayay, C.A.L., Córdova, L.M., García, J.W. and Vásquez, J. M., 2016. Efecto antagónico de una cepa de *Trichoderma* sp sobre *Fusarium* sp. En planta de tomate Río Grande (*Solanum lycopersicum*). *UCV-HACER Revista de Investigación y Cultura*, *5*(1), pp. 64–68. https://revistas.ucv.edu.pe/index.php/ucv-hacer/article/view/748

Martínez, E., Martínez, P., Guillén, D., Peña, G. and Hernández, V. M., 2015. Diversidad de *Fusarium* en las raíces de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) en el estado de Morelos, México. *Revista Mexicana de Micología*, 42, pp. 33-43

Martínez, A., Martínez, L.E., Nápoles, C.R., Sánchez, N.M., Ambríz, L., Guillén, S., and Lobit, P., 2019. Monocultivo y sistemas agresivos de manejo asociados a plagas y enfermedades en plantaciones de *Agave cupreata* en Michoacán. *In*: A. Martínez Palacios, J.L. Morales García and S. Guillén Rodríguez, eds. *Aspectos sobre el manejo y la conservación de Agaves mezcaleros en Michoacán*, Universidad Michoacana de Nicolás de Hidalgo-Universidad Nacional Autónoma de México. pp. 83-101.

Maruri, I., Avilés, N.Y., Buchala, A., and Serrano, M., 2019. Intra and Extracellular Journey of the Phytohormone Salicylic Acid. *Frontiers in Plant Science*, 10, p.423. https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00423.

Medentsev, A.G. y Akimenko, V.K., 1998. Naphtho-quinone metabolites of the fungi, Phytochemistry: 47: 935–959.

Mendoza, C., Mora, G., Coria, J.J., Santana, B., Acevedo, G., Martínez, V., Gutiérrez, M.A. and Rubio, R. 2021. *Fusarium* spp. y

estimación de carga de inóculo asociados a hijuelos de *Agave tequilana* en diferentes niveles de inductividad epidémica regional. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 39, pp. 94-121. https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.2006-8.

Michel, A.C., Otero, M.A., Rebolledo, O., Lezama, R. and Ochoa, M.E., 2005. Producción y efecto antagónico de quitinasas y glucanasas por *Trichoderma* spp, en la inhibición de *Fusarium subglutinans* y *Fusarium oxysporum in vitro*. *Revista Chapingo serie Horticultura, 11*, pp. 273-278. https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=60911213

Montes, R., 2009. Diversidad de compuestos químicos producidos por las plantas contra hongos fitopatógenos. *Revista Mexicana de Micología*, 29, pp. 73-82. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S018731802009000100010&script=sci_abstract&tlng=pt

Myung-Ho, K., Jin-Woong, J. and Young-Je, Cho., 2004. Comparison of characteristics on electrolyzed water manufactured by various electrolytic factors. Korean *Journal of Food Science and Technology*, 36, pp.416-422. https://www.koreascience.or.kr/article/JAKO200404637341573.pdf

Naivy, Y., Nava, M.A., Medina, J.L., Martínez, R.R., and Cristóbal, N., 2015. Agave biotechnology: an overview, *Critical Reviews in Biotechnology*, 35. pp. 546-559. https://doi.org/10.3109/07388551.2014.923813

Nuño, C.S., 2005. Control químico como alternativa para el manejo de marchitez en *Agave* (*Fusarium* sp. y *Erwinia* sp.). Centro Universitario de Ciencias Biológicas. División de Ciencias Agronómicas. Coordinación de Posgrado. U. de G., 82 p. http://repositorio.cucba.udg.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/5402/Nuno_Cuevas_Sergio.pdf?sequence=1

Oliva, L.C., Velázquez, T., Sosa, R., Partida, L., Diaz, T., Arciniega, J., and López, C.A., 2017. Control de la fusariosis vascular del garbanzo (*Cicer arietinum* l.) por microorganismos nativos de Sinaloa, México. *Agrociencia*, *51*, pp.683-695. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952017000600683&lng=es&tlng=es.

Pérez, E., Chávez, M.C. y González, J.C., 2016. Revisión del agave y el mezcal. *Revista Colombiana de Biotecnología*,, 18. pp. 148-164. http://dx.doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v18n1.49552.

Page, J.M., Joanne, E.M., Patrick, M.B., Boutronc, I., Hoffmannd, C.T., Mulrowe, D.C., Shamseerf, L., Jennifer M., Tetzlaffg, E.A. Aklh, S.E., Brennana, R.C., Glanvillej J., Jeremy, M., Grimshawk, A.H., Manoj M., Lalum, T.L, Elizabeth, W., Lodero, E.M, McDonalda S., Luke A., McGuinnessq, L.A., Stewartr, J.T., Triccot A.C., Welchu, V.A., Whitingqy P., Moherw D., Yepes J.J, Urrútia, G., Romero, M., and Fernández, S.A., 2021. Declaración PRISMA 2020: una guía actualizada para la publicación de revisiones sistemáticas., *Revista Española de Cardiología*, 74, pp.790–799. https://doi.org/10.1016/j.recesp.2021.06.016

Quiñones, E.E., Montoya, A.C., Rincón, G., and López, L., 2023. Inoculación de bulbilos de *Agave tequilana* con hongos micorrízicos arbusculares: efecto en el crecimiento y biocontrol contra *Fusarium oxysporum*. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, *24*. pp. 3043. https://doi.org/10.21930/rcta.vol24_num1_art:3043

Quiroga L.F., Ruiz, N., Muñoz, G., and Lozano, M.D., 2012. Microorganismos rizosfèricos, potenciales antagonistas de *Fusarium* sp. causante de la pudrición radicular de maracuyá (*Passiflora edulis* Sims). Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria

Ramirez, M.J., Mancilla, N.A., Meza, L., Turincio, R., Guzmán de Pena D., and Avila, M.E., 2017. Epidemiology of *Fusarium* wilt in Agave tequilana Weber var. azul. *Plant Protection Science*, 53, pp. 144-152.

Ramos, Q.F., Bautista, H.A. and Sotelo, N.H., 2017. Relación de la temperatura y humedad relativa con el brote del hongo *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae*. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 8, pp. 713-720. https://doi.org/10.29312/remexca.v8i3.44.

Rangel, S.G., Castro, M.E., Beltrán, P.E., Reyes, C.H. and García, P.E., 2010. El ácido salicílico y su participación en la resistencia a patógenos en plantas. *Biológicas,* 1, pp. 90-95. https://www.exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/Elacidosalic%C3%ADlicoyresistenciaenplantas.pdf

Retana, K., Ramírez, J.A., Castro, O., Blanco, M., 2018. Caracterización morfológica y molecular de *Fusarium oxysporum* F. SP. Apii asociado a la marchitez del apio en Costa Rica, *Agronomía Costarricense*, 42, pp. 115-126. https://doi.org/10.15517/rac.v42i1.32199

Reyes, S.J., Lecona, C.A., Gutiérrez, F.A., Ruiz, V.M. and Vargas, A.A., 2021. Selection and analysis of polymorphisms in somaclonal variants of *Agave americana* resistant to *Fusarium oxysporum* via an ethyl methanesulphonate treatment. *Phyton-International Journal of Botany*, 90. pp. 1727-1739. https://doi.org/10.32604/phyton.2021.016171

Riva, R.F.X., 2010. Análisis de la expresión del Gen PR-1 mediante la técnica de PCR en tiempo real (RT-PCK) en tomate (*Solanum Lycopersicum*) infectado con *Phytophtora infestans*. Tesis Ingeniería en Biotecnología. Departamento de Ciencias de la Vida, URI. http://repositorio.espe.edu.ec/handle/21000/2640.

Rivas, M., and Plascencia, J., 2011. Salicylic acid beyond defense: its role in plant growth and development. *Journal of Experimental Botany*, 62, pp. 3321–3338. https://doi.org/10.1093/jxb/err031

Robles, M.L., Robles, C., Rivera, Fa., Ortega, M. P., and Pliego, L., 2013. Inoculación con consorcios nativos de hongos de micorriza arbuscular en Agave angustifolia Haw. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 4, p.1231-1240. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007934201300100014&lng=es&tlng=es.

Robles, Y., Leyva M.L., Santos, G., Cruz, G.A., Camacho, T.M., Nieto, A.D. and Tovar, P.J.M., 2016. *Fusarium oxysporum* Schltdl. y *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. causantes de la marchitez de plántulas de *Pinus* spp. en vivero. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*., 7, pp 25-36. https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63449186003

Rodríguez, G., Betancourt, I., Rodríguez, R., Velázquez, J.J., Fernández, S.P. and Gómez, N., 2012. Caracterización de Grupos de Compatibilidad Vegetativa de *Fusarium mexicanum* Causante de la Malformación del Mango en Jalisco, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 30. pp.28-140.

Rodríguez, D., Hernández, D., Angulo, J.L., Rodríguez, R., Villarreal, J.A. and Lira, R.H., 2007. Antifungal activity in vitro of *Flourensia* spp. extracts on *Alternaria* sp., *Rhizoctonia solani*, and *Fusarium oxysporum*. *Industrial Crops and Products*, 25, pp. 111-116. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2006.08.007

Rodríguez, B., Gutiérrez, M., Arrizon, J., Loera, M.M., Flores, E.P., Rincón, G., Quiñones, E.E. and Quiñones, J.A., 2015. La materia prima: *Agave tequilana* Weber Var. Azul. Ciencia y tecnología del tequila: avances y perspectivas. 2 ed. Guadalajara, Jalisco, México: Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, pp. 17-53.

Rodríguez, D. and Wang, A., 2020. Efectividad a nivel in vitro de *Trichoderma* spp. nativos e importados contra *Fusarium oxysporum*. *Agronomía Costarricense*, 44, pp. 109-125. http://dx.doi.org/10.15517/rac.v44i2.43096

Rubio, R., 2007. Enfermedades del cultivo de agave. pp. 171-195. In: Pérez J.F., Del Real J.I. (eds). Conocimiento y prácticas agronómicas para la producción de *Agave tequilana* Weber en la zona de denominción de origen del tequila. Centro de Investigación Regional del Pacífico Centro. Campo Experimental Centro-Altos de Jalisco. Tepatitlán de Morelos, Jalisco. Libro Técnico Núm 4.

Rubio, J.R., 2018. Análisis espacio-temporal de la marchitez del agave tequilero en Jalisco. Tesis de Maestría. Postgrado de Fitosanidad. Colegio de Postgraduados, pp. 33-34. http://colposdigital.colpos.mx8080/jspui/handle/10521/30R.

Rudy, N., Hugh, S., Almanza, J.C. y Loza., M., 2011. Evaluación de la capacidad biocontroladora de cepas nativas de *Trichoderma* spp sobre *Rhizoctonia* sp y *Fusarium* sp en café (*Coffea arabica*) en condiciones experimentales, *Journal of the Selva Andina Research Society*, 2, pp. 43-52. http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=361333623006

Samson R.A, Hoekstra, E.S., Frisvad, J.C. and Filtenborg, O.,1995. Introduction to Foodborne Fungi, fourth edition, CBS, Baarn, Netherlands, pp. 85-119.

Serrano, H.A, and Cardona, N., 2015. Micotoxicosis y micotoxinas: generalidades y aspectos básicos. *CES Medicina*, 29. 143-151. http://www.scielo.org.co/pdf/cesm/v29n1/v29n1a12.pdf

SIAP, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera., 2019. Recuperado de: https://www.gob.mx/siap/documentos/siacon-ng-161430

Sifontes, A.B., Melo, L., Maza, C., Mendes, J.J., Mediavilla, M., Brito, J.L., Zoltan, T., and Albornoz, A., 2010. Preparación de nanopartículas de plata en ausencia de polímeros estabilizantes. *Química Nova*, 33. pp. 1-11. https://doi.org/10.1590/S0100-40422010000600009.

Silva, C. M.; Hinz, R. H.; Stadnik, M. J.; Pereira, A., Adami, F., 2010. Diversidad genética por marcadores moleculares en *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense. *Ciencia Rural*, 40, pp. 2480-2485

Summerell , B.A. and Leslie, J.F., 2011. Fifty years of Fusarium: How could nine species have ever been enough? *Fungal Diversity*, 50. pp. 135-144. http://doi.org/10.1007/s13225-011-0132-y

Summerell, B.A., Salleh, B. and Leslie, J.F., 2003. An utilitarian approach to *Fusarium* Identification. *Plant Disease*., 87, pp. 117-128. https://doi.org/10.1094/PDIS.2003.87.2.117.

Tapia, C. and Amaro, J., 2014. Retrato microbiológico. *Revista Chilena de Infectología*, 31, pp. 1. http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182014000100012.

Tlapal, B., González, H., Zavaleta, E., Sánchez, P., Mora, G., Nava, C., Del Real, J. I. and Rubio, R., 2014. Colonización de *Trichoderma* y *Bacillus* en plántulas de *Agave tequilana* Weber, Var. Azul y el efecto sobre la fisiología de la planta y densidad de *Fusarium*. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 32. pp. 62-72. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0185330920140001000006&script=sci_abstract&tlng=pt

Trinidad, J.R., Quiñones, E.E., Rincón, G., López, L., and Hernández, L.V., 2017. Mycorrhization of *Agave cupreata*: Biocontrol of *Fusarium oxysporum* and plant growth promotion. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 35, pp. 151-169. https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1607-5

Vásquez, D.A., Montes, R., Jiménez, A. and Flores, H.E., 2013. Aceites esenciales y extractos acuosos para el manejo *in vitro* de *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici y *F. solani*. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 31, pp. 170-179.

Villa, A., Pérez, R., Morales, H.A., Basurto, M., Sotelo, J.M. and Martínez, E., 2015. Situación actual en el control de *Fusarium* spp. y evaluación de la actividad antifúngica de extractos vegetales. *Acta Agronómica*, 64, pp. 194-205. https://doi.org/10.15446/acag.v64n2.43358.

Vega, K.L., Uvalle, J.X. and Gómez, J.F., 2013. Molecular Variability among Isolates of *Fusarium oxysporum* associated with root rot disease of *Agave tequilana*. *Biochemistry Genetic*, 51, pp. 243–255. https://doi.org/10.1007/s10528-012-9559-4.

Vlot, A.C., Dempsey, D.M.A. and Klessig, D.F., 2009. Salicylic acid, a multifaceted hormone to combat disease. *Annual Review of Phytopathology*, 47, pp. 177-206. https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.050908.135202

Wagacha, J.M. and Muthomi, J.W., 2007. *Fusarium culmorum*: Infection process, mechanisms of mycotoxin production and their role in pathogenesis in wheat. *Crop Protection*, 26, pp. 877-885. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2006.09.003

Wulff, E.G., Sørensen, J.S., Lübeck, M., Nielsen, K.F., Thrane, U.T.J., 2010. *Fusarium* spp. associated with rice Bakanae: ecology, genetic diversity, pathogenicity and toxigenicity. *Environmental Microbiology*, 12, pp. 649–657. http://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2009.02105.x

Yamaki, Y. and Schörner, A., 1995. A field trial for estimating possibility of controlling powdery mildew of *Cucumber* by function water. University Orchard, Faculty of Agriculture, University of Tokyo. *In*: Function Water Symposium Held in Kyoto in 1995. Vision for the future of acid and alkaline electrolytic water DRAFT, pp. 1-20. https://ci.nii.ac.jp/naid/10016874805/

Yahuza, I. 2011. Review of some methods of calculating intercrop efficiencies with particular reference to the estimates of intercrop benefits in wheat/faba bean system. *International Journal of Biosciences*, 5, pp. 18-30.

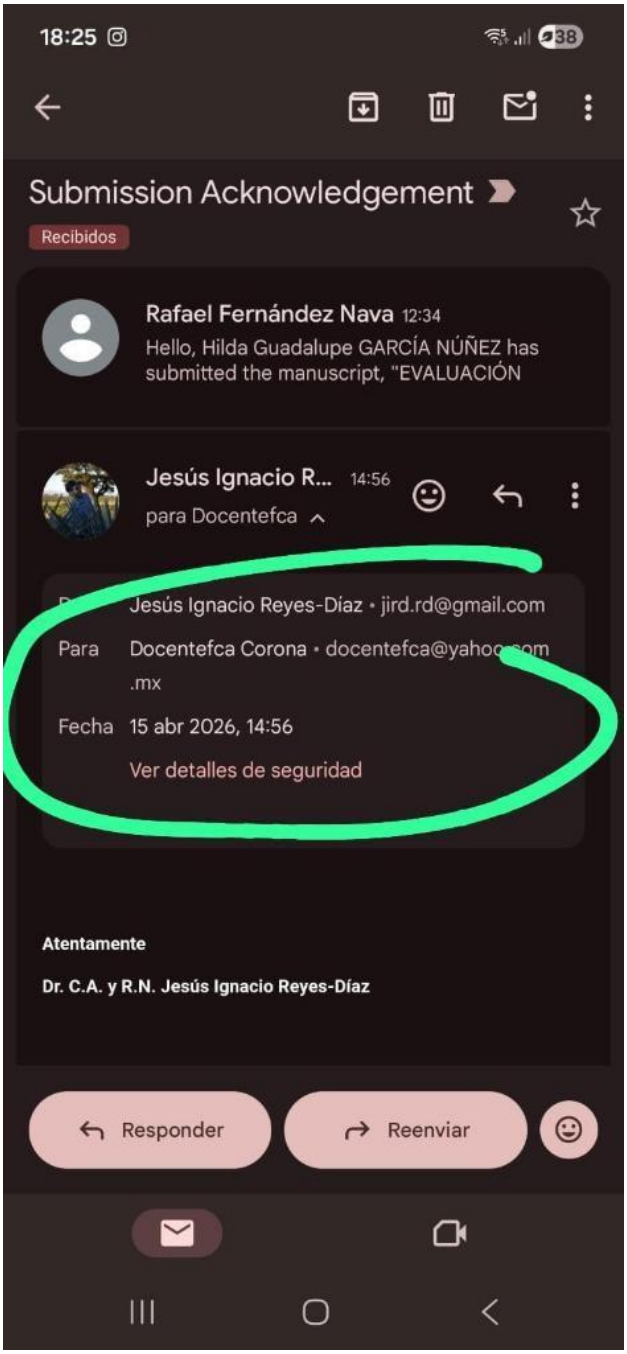
Yogalakshmi, S., Thiruvudainambi, S., Kalpana, K., Thamizh, V.R. and Oviya, R., 2021. Antifungal activity of *Trichoderma atroviride* against *Fusarium oxysporum*.f.sp.lycopersici causing wilt disease of tomato. *Journal of Horticultural Sciences*, 16, https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=577074107015

Yuan, S., Lin, H.H., 2008. Minireview: Role of salicylic acid in plant abiotic stress. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 63, pp. 313-320. https://doi.org/10.1515/znc-2008-5-601.

Zhao, T., Gao, F., Zhou, L. and Song, T., 2013. Essential oil from *Inula britannica* extraction with SF-CO2 and its antifungal activity. *Journal of Integrative Agriculture*, 12, pp. 1791-1798. https://doi.org/10.1016/S2095-3119(13)60382-2

7.2 Artículo enviado: Evaluación del efecto antagónico de *Trichoderma longibrachiatum* contra el complejo *Fusarium oxysporum* en *Agave crupreata* bajo condiciones de invernadero

Fecha de recepción del artículo



EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTAGÓNICO DE *Trichoderma longibrachiatum* CONTRA EL COMPLEJO *Fusarium oxysporum* EN *Agave cupreata* BAJO CONDICIONES DE INVERNADERO

EVALUATION OF THE ANTAGONIST EFFECT OF *Trichoderma longibrachiatum* AGAINST THE *Fusarium oxysporum* COMPLEX ON *Agave cupreata* UNDER GREENHOUSE CONDITIONS

Corona-Rodríguez, M. C.[1]

Arzate-Fernández, A. M.[1]*,

García-Núñez, H. G.[1]

Lamus-Molina, V.[2],

Norman-Mondragón, T. H.[1]

Jiménez-García, A. R.[3]

Salgado-Siclán, M. L.[4]

Pérez-Pichardo, P. J.[1]

Reyes-Díaz, J. I.[1]

[1] Laboratorio de Biología Molecular Vegetal del Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Fitomejoramiento (CIEAF), Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Autónoma del Estado de México-Campus Universitario "El Cerrillo". Carretera Toluca-Ixtlahuaca, km 11.5 entronque al Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, Estado de México, C. P. 50200, **México. Email:** amaury1963@yahoo.com.mx.

[2]Facultad de Ingeniería, Unidad Central del Valle del Cauca. Carretera 28ª. Kilómetro 1. Salida al Sur Tuluá, Ciudadela Universitaria, Tuluá, Colombia.

[3]Laboratorio de Secuenciación Genómica de la Biodiversidad de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Tercer Circuito S/N Ciudad Universitaria, Coyoacán, CDMX, C.P. 04510

[4]Laboratorio de Fitopatología Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Fitomejoramiento (CIEAF), Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Autónoma del Estado de México-Campus Universitario "El Cerrillo". Carretera Toluca-Ixtlahuaca, km 11.5 entronque al Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, Estado de México, C. P. 50200

*Corresponding author: amaury1963@yahoo.com.mx

RESUMEN:

Agave cupreata, especie reconocida por la calidad y fineza de su mezcal, enfrenta graves afectaciones por la marchitez vascular, enfermedad causada por el complejo *Fusarium oxysporum* (F. o.), responsable de pérdidas que pueden oscilar entre el 30 y el 100% de las plantaciones. El control tradicional mediante productos químicos ha mostrado cierta eficacia, aunque su uso inadecuado ha generado impactos ambientales negativos. En este contexto, el presente estudio evaluó el potencial de *Trichoderma longibrachiatum* como alternativa biorracional frente a tres cepas de *F. oxysporum* (FUSA, FUSB y FUSC) en plantas de *A. cupreata* bajo condiciones de invernadero. Se aplicaron 13 tratamientos en un diseño completamente al azar, partiendo de la hipótesis de que el control biorracional podría superar al químico en la reducción de la enfermedad. Los resultados revelaron que la cepa FUSA fue la más patogénica en *A. cupreata* y *Aloe vera*, mientras que FUSC mostró la mayor sensibilidad en ensayos *in vitro*, con un porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) de 48.5% a las 144 h de incubación. En las pruebas de antagonismo en invernadero, no se observaron diferencias estadísticas entre el control químico y el biorracional en variables como incidencia de la enfermedad, nivel de daño, número de hojas, desarrollo radicular y dimensiones de las piñas. Sin embargo, al seccionar las piñas y estimular el crecimiento de raíces en cámaras húmedas, se confirmó mediante cultivos duales en PDA el efecto antagónico significativo de *T. longibrachiatum* sobre las cepas FUSA y FUSB. Se concluyó, que bajo las condiciones experimentales ambos tratamientos mostraron un desempeño similar, la capacidad de *T. longibrachiatum* para inhibir a *F. oxysporum* respalda su uso como estrategia biorracional viable y ecológicamente sostenible para el manejo de la marchitez vascular en *Agave cupreata*.

Palabras clave: *Agave*, antagonismo, patógeno, marchitez.

ABSTRACT

Agave cupreata, a species renowned for the quality and finesse of its mezcal, faces serious challenges from vascular wilt, a disease caused by the *Fusarium oxysporum* (F. o.) complex, responsible for losses ranging from 30% to 100% of plantations. Traditional control using chemical products has shown some effectiveness, although their inappropriate use has generated negative environmental impacts. In this context, the present study evaluated the potential of *Trichoderma*

longibrachiatum as a biorational alternative against three strains of *F. oxysporum* (FUSA, FUSB, and FUSC) in *A. cupreata* plants under greenhouse conditions. Thirteen treatments were applied in a completely randomized design, based on the hypothesis that biorational control could outperform chemical control in reducing the disease. The results revealed that the FUSA strain was the most pathogenic against *A. cupreata* and *Aloe vera*, while FUSC showed the greatest sensitivity *in vitro* assays, with a percentage of radial growth inhibition (PICR) of 48.5% after 144 h of incubation. In greenhouse antagonism tests, no statistically significant differences were observed between the chemical and biorational control methods in variables such as disease incidence, damage level, number of leaves, root development, and cone dimensions. However, when the cones were sectioned and root growth was stimulated in moist chambers, the significant antagonistic effect of *T. longibrachiatum* on the FUSA and FUSB strains was confirmed by dual cultures on PDA. In conclusion, although both treatments showed similar performance under experimental conditions, the ability of *T. longibrachiatum* to inhibit *F. oxysporum* supports its use as a viable and ecologically sustainable biorational strategy for the management of vascular wilt in *Agave cupreata*.

Keywords: Agave, antagonist, pathogen, wilt.

INTRODUCCIÓN

Agave cupreata se distribuye en la cuenca del Río Balsas, entre 1200 y 1800 msnm, en los estados de Guerrero y Michoacán, bajo condiciones de temperatura media anual de 19.1 °C y precipitación promedio de 961 mm (Gentry, 1982). De esta especie se obtiene un mezcal de alta calidad reconocido a nivel nacional e internacional (Mendoza-Celino *et al.*, 2017), con una producción anual reportada de 246,017 L (COMERCAM, 2024). No obstante, se trata de una especie endémica en peligro de extinción (Barrientos-Rivera *et al.*, 2020; Colunga-GarcíaMarín *et al.*, 2007), que desempeña un papel esencial en el nicho ecológico regional (Barrientos-Rivera *et al.*, 2020; Martínez-Palacios *et al.*, 2015). La marchitez vascular, causada por *Fusarium* sp., constituye el principal problema fitosanitario que afecta su producción, comprometiendo tanto el rendimiento como la calidad de la piña destinada a la elaboración de mezcal (DGSV-CNRF, 2017; Gobierno Federal, 2013). La infección inicia en el sistema radicular y progresa mediante la obstrucción del transporte de agua y nutrimentos, generando síntomas de clorosis foliar, enrollamiento, pigmentación púrpura y finalmente la muerte de la planta (López-Bautista *et al.*, 2019; Vega-

Ramos *et al.*, 2013). Esta enfermedad puede incidir en 30–100% de las plantaciones (López-Bautista *et al.*, 2019). El control químico convencional atenúa los síntomas, pero su uso continuo provoca contaminación ambiental (Martínez-Palacios *et al.*, 2015). Como alternativa sostenible, se han propuesto microorganismos antagonistas de los géneros *Bacillus, Beauveria, Trichoderma, Paecilomyces* y micorrizas, con actividad frente a *Fusarium* (Ayala *et al.*, 2018). En particular, *Trichoderma* spp. destaca por su capacidad antagonista, desarrollándose en suelos ricos en materia orgánica, tolerando pH de 5.5–6.5 y temperaturas de 20–38 °C (Zeilinger *et al.*, 2016). Su acción incluye competencia por espacio y nutrimentos, además de micoparasitismo mediado por metabolitos secundarios y enzimas hidrolíticas (Vicente *et al.*, 2022; Zeilinger *et al.*, 2016). Estudios previos han demostrado la eficacia de inductores químicos como sulfato de cobre pentahidratado y fosfito potásico contra *F. oxysporum* en algodón (Guevera y Rodríguez-Gálvez, 2006), así como aplicaciones de sulfato de cobre en agave tequilero (Flores *et al.*, 2010). En este contexto, el objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto antagónico de *Trichoderma longibrachiatum* como tratamiento biorracional contra *F. oxysporum* en *A. cupreata* bajo condiciones de invernadero, planteando la hipótesis de que dicho tratamiento biorracional presenta mayor eficacia que el manejo químico convencional en planta. El enfoque metodológico incluyó la identificación morfológica y molecular de *Trichoderma* spp., la evaluación de la patogenicidad de *F. oxysporum* y la determinación del efecto antagónico en condiciones *in vitro* e invernadero.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico

Se utilizó una cepa de *Trichoderma* sp., proporcionada por el Laboratorio de Fitopatología del Instituto de Investigación y Capacitación Agropecuaria del Estado de México (ICAMEX), junto con tres cepas pertenecientes al complejo *Fusarium oxysporum* (F. o.), denominadas FUSA, FUSB y FUSC, previamente identificadas mediante criterios morfológicos y moleculares (Pérez-Pichardo *et al.*, 2025, datos no publicados). Estas cepas fueron aisladas de hojas de *Agave cupreata* bajo condiciones controladas de invernadero en julio de 2021. Para las pruebas de patogenicidad se incluyeron adicionalmente hojas de *Aloe vera* y *Haworthia acupunctata* como especies confirmatorias, con el propósito de evaluar la especificidad del patógeno y determinar el rango potencial de hospedantes.

Identificación morfológica de *Trichoderma* sp.

La identificación morfológica de *Trichoderma* sp. se realizó mediante la resiembra de la cepa en cajas Petri que contenían medio Papa Dextrosa Agar (PDA). Se colocó un fragmento de micelio de aproximadamente 0.5 cm de diámetro en el centro de cada caja, con tres repeticiones por tratamiento. Las cajas se incubaron a 25 °C durante ocho días en condiciones controladas. Posteriormente, se evaluaron las características macroscópicas y microscópicas de las colonias, considerando el tipo y crecimiento del micelio, la textura y coloración colonial, la morfología de conidios y conidióforos, así como el desarrollo de estructuras reproductivas, de acuerdo con los criterios taxonómicos establecidos por Bissett (1984). Las observaciones microscópicas se realizaron con un microscopio compuesto BOECO Germany, modelo BM-180 AC, utilizando preparaciones temporales teñidas con azul de metileno para facilitar la visualización de las estructuras fúngicas.

Identificación molecular de *Trichoderma* sp.

La identificación molecular de la cepa de *Trichoderma* sp. se llevó a cabo en el Laboratorio de Secuenciación Genómica de la Biodiversidad de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). Para la extracción de ADN se utilizaron 0.5 g de micelio fresco obtenido tras siete días de incubación, empleando el kit comercial Animal and Fungi DNA Extraction Kit (Jena Bioscience GmbH), siguiendo estrictamente las instrucciones del fabricante. La región espaciadora transcrita interna (ITS) del ADN ribosomal se amplificó mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) convencional, utilizando un termociclador Eppendorf. Las condiciones de amplificación consistieron en una desnaturalización inicial a 95 °C durante 10 min, seguida de 35 ciclos de desnaturalización a 95 °C por 15 s, alineamiento a 52 °C por 30 s y extensión a 72 °C por 1.5 min, con una extensión final a 72 °C durante 7 min. Para la amplificación se emplearon los cebadores ITS5f (GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG) (Ward and Adams, 1998) e ITSr4 (TCCTCCGCTTATTGATATGATATGC) (White *et al.*, 1990). Las secuencias obtenidas se compararon con aquéllas disponibles en la base de datos GenBank mediante la herramienta Basic Local Alignment Search Tool (BLAST),

Pruebas de patogenicidad

La verificación de los postulados de Koch se efectuó mediante la inoculación de las cepas FUSA, FUSB y FUSC en hojas de *A. cupreata*, *A. vera* (control positivo) y *H. acupunctata* (control negativo), mantenidas en cámaras húmedas durante 15 días a 28 °C, de acuerdo con la metodología descrita por (Sierra-Moya *et al.*, 2022). Se seleccionaron 20 hojas de cada especie vegetal; éstas se lavaron con agua corriente y se desinfectaron por inmersión en una solución de hipoclorito de sodio al 3 % durante 3 min. Posteriormente, se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril, se sumergieron durante 3 min en alcohol y se colocaron individualmente sobre papel secante esterilizado dentro de recipientes de plástico acondicionadas como cámaras húmedas. En cada hoja se practicó una incisión de aproximadamente 2.0 cm de longitud, en la cual se inoculó una suspensión con una concentración de 1×10^6 propágulos mL^{-1} de cada cepa del complejo *Fusarium oxysporum*. Transcurridos 15 días, se observó el crecimiento micelial de las tres cepas en hojas de *A. cupreata* y *A. vera* (control positivo) y *H. acupunctata* (control negativo). A partir del tejido infectado se realizaron aislamientos y preparaciones microscópicas para confirmar la identidad del patógeno, utilizando un microscopio compuesto de BOECO Germany, modelo BM-180 AC (Delgado-Ortiz *et al.*, 2016).

Pruebas del antagonismo *in vitro* entre *T. longibrachiatum* y tres cepas de *F. oxysporum* (FUSA, FUSB, FUSC)

Complementariamente, se evaluó el efecto inhibidor de *T. longibrachiatum* frente a las cepas FUSA, FUSB y FUSC de *F. oxysporum* mediante el método de cultivo dual en PDA. Se colocaron asépticamente porciones de 5 mm de cada hongo, situando en un extremo a *T. longibrachiatum* y en el otro a una cepa de *F. oxysporum*, con el fin de permitir su crecimiento y calcular su velocidad. Las placas Petri se incubaron en oscuridad durante 144 h a 25 °C. El crecimiento de cada hongo en confrontación, así como el control de cada cepa, se midió con un vernier en milímetros con tres repeticiones por tratamiento (Sánchez-García *et al.*, 2017; Sarro Baro *et al.*, 2008). Posteriormente, se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) de acuerdo con el método descrito por (Worasatit *et al.*, 1994), empleando la siguiente fórmula:

$$PICR = [(D_1 - D_2) / D_1] \times 100$$

donde D_1 representa el diámetro de la colonia del patógeno cultivado en ausencia del antagonista y D_2 el diámetro de la colonia del patógeno en confrontación con el antagonista.

Evaluación del antagonismo para evaluar el control de la marchitez vascular en *Agave cupreata* bajo condiciones de invernadero

Análisis microbiológico del sustrato

Se realizó un análisis microbiológico del sustrato utilizado en el establecimiento inicial de 65 plantas de *Agave cupreata* de tres años, obtenidas mediante cultivo *in vitro* y posteriormente aclimatadas en condiciones de invernadero. El objetivo del estudio fue detectar la presencia de *Trichoderma* spp. y *Fusarium* spp., así como identificar la microflora asociada a la rizósfera. Las plantas se mantuvieron en macetas de 6 pulgadas con una mezcla de peat moss, agrolita y fibra de coco (v/v/v), colocadas individualmente sobre platos y cubiertas con protección plástica. Se recolectó una muestra compuesta de 10 g de sustrato, a partir de la cual se prepararon diluciones decimales seriadas hasta 1×10^{-6}. De cada dilución se inoculó 1 mL por triplicado en cajas Petri con medio Papa Dextrosa Agar (PDA), incubadas a 25±1 °C durante siete días, siguiendo la metodología descrita por Álvarez-Vera *et al.* (2019). Finalmente, las muestras fueron remitidas al Laboratorio de Microbiología del Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Salud Animal de la Universidad Autónoma del Estado de México (UAEMéx) para su análisis e identificación microbiológica.

Pruebas en invernadero

Para evaluar el efecto antagónico de *Trichoderma longibrachiatum* sobre las cepas FUSA, FUSB y FUSC del complejo *Fusarium oxysporum* (F. o.), y compararlo con un control químico, se establecieron 13 tratamientos (Tabla 1) usando un diseño completamente al azar con cinco repeticiones (13×5) bajo condiciones controladas de temperatura (°C) y humedad relativa (%). Cada unidad experimental correspondió a una planta de *Agave cupreata*, cuyo sustrato fue inoculado con $1x10^6$ propágulos mL^{-1} del antagonista y/o del patógeno, según el tratamiento correspondiente, siguiendo la metodología descrita por (Michel–Aceves *et al.*, 2009). Los tratamientos se organizaron en cuatro esquemas: i) aplicación del antagonista, seguida dos semanas después, de la inoculación de cada cepa del patógeno (T1, T2 y T3); ii) aplicación inicial de cada cepa del patógeno y, quince días después, del antagonista (T4, T5 y T6); iii) aplicación simultánea del antagonista y de cada cepa del patógeno (T7, T8 y T9);

y iv) aplicación del control químico en combinación con cada cepa del patógeno (T10, T11 y T12). Además, se incluyó un tratamiento testigo consistente en la inoculación individual de cada cepa del patógeno (T13). La evaluación se realizó en tres momentos (21, 28 y 35 días),

Tabla 1. Diseño de los tratamientos evaluados para determinar el efecto de *T. longibrachiatum* frente a *F. oxysporum* (FUSA, FUSB, FUSC) en el control de la marchitez vascular de *A. cupreata*.

Table 1. Design of the treatments evaluated to determine the effect of *T. longibrachiatum versus F. oxysporum* (FUSA, FUSB, FUSC) in the control of vascular wilt of *A. cupreata*.

Tratamientos	Aplicación día 1	Aplicación día 15
T1	*Trichoderma longibrachiatum*	*Fusarium oxysporum* cepa FUSA
T2	*Trichoderma longibrachiatum*	*Fusarium oxysporum* cepa FUSB
T3	*Trichoderma longibrachiatum*	*Fusarium oxysporum* cepa FUSC
T4	*Fusarium oxysporum* FUSA	*Trichoderma longibrachiatum*
T5	*Fusarium oxysporum* FUSB	*Trichoderma longibrachiatum*
T6	*Fusarium oxysporum* FUSC	*Trichoderma longibrachiatum*
T7	*T. longibrachiatum* + FUSA	*T. longibrachiatum* + FUSA
T8	*T. longibrachiatum* + FUSB	*T. longibrachiatum* + FUSB
T9	*T. longibrachiatum* + FUSC	*T. longibrachiatum* + FUSC
T10	Sulfato de cobre pentahidratado + FUSA	Sulfato de cobre pentahidratado + FUSA
T11	Sulfato de cobre pentahidratado + FUSB	Sulfato de cobre pentahidratado + FUSB
T12	Sulfato de cobre pentahidratado + FUSC	Sulfato de cobre pentahidratado + FUSC
T13	Testigo absoluto	Testigo absoluto

A los 21 días posteriores a la aplicación de los tratamientos se evaluó el porcentaje de incidencia y el nivel de daño por síntomas de marchitez vascular en las 65 plantas del experimento (5 plantas por tratamiento), utilizando la escala patométrica (DGSV-CNRF,

2017), modificada con cuatro niveles: 0 = planta sana; 1 = hojas moradas y encarrujadas (37 % de daño); 2 = 75 % de la planta dañada; y 3 = planta muerta, asimismo, se registraron, el número de hojas por planta, la cantidad y longitud de raíces por planta, así como el diámetro longitudinal y transversal de la piña (cm). Posteriormente, se realizó un segundo análisis microbiológico del sustrato correspondiente a los tratamientos T7, T8 y T9, que consistieron en la inoculación conjunta de *T. longibrachiatum* (antagonista) con las cepas del complejo *F. oxysporum* (FUSA, FUSB y FUSC).

Para corroborar el efecto antagónico de *T. longibrachiatum* sobre las cepas de *F. oxysporum* en el control de la marchitez vascular de *Agave cupreata*, se seleccionó una piña de cada tratamiento evaluado. Las piñas fueron lavadas, rasuradas y cortadas longitudinalmente, colocando las mitades en cámara húmeda con el fin de inducir la emisión de nuevas raíces. Las raíces emergentes se seccionaron y se sembraron en cajas Petri con medio Papa Dextrosa Agar (PDA), incubadas durante 10 días a 25 °C, hasta observar el desarrollo de micelio y estructuras reproductivas de ambos hongos. Los aislamientos obtenidos se transfirieron *in vitro* en cultivos duales para evaluar el efecto antagónico de *T. longibrachiatum*, siguiendo la metodología de Tlapal-Bolaños *et al.* (2014). Las mediciones del crecimiento micelial (mm) se realizaron a las 48, 72, 96 y 144 h, hasta que las cepas entraron en contacto en la zona de confrontación en las cajas Petri. Asimismo, se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) mediante la fórmula propuesta por Worasatit *et al.* (1994), y se realizaron observaciones microscópicas de la zona de enfrentamiento utilizando un microscopio compuesto BOECO Germany, modelo BM-180 AC.

Diseño experimental y análisis estadístico

El efecto de los tratamientos aplicados en *Agave cupreata* para el control de la marchitez vascular bajo condiciones de invernadero, así como sus variables de respuesta, se evaluó mediante la prueba de Fisher al 5 % (ANOVA) en un diseño completamente al azar. La comparación de media se realizó con la prueba de Tukey al 5 %, de acuerdo con los resultados del ANOVA. El análisis estadístico se efectuó utilizando el paquete Minitab® versión 18.1 (Minitab Inc., 2017, EUA).

RESULTADOS

Identificación morfológica y molecular de *T. longibrachiatum*

Ocho días después de la incubación *in vitro* en medio PDA, se observó un micelio blanco-

amarillento dispuesto en círculos concéntricos, con textura algodonosa en la periferia y una esporulación evidente en la zona central (Figura 1a). El examen microscópico (40x) reveló micelio septado, estructuras reproductivas formadas por conidios ligeramente ovoides y agrupados, abundantes clamidosporas de forma globosa y fiálides apicales (Figura 1b).

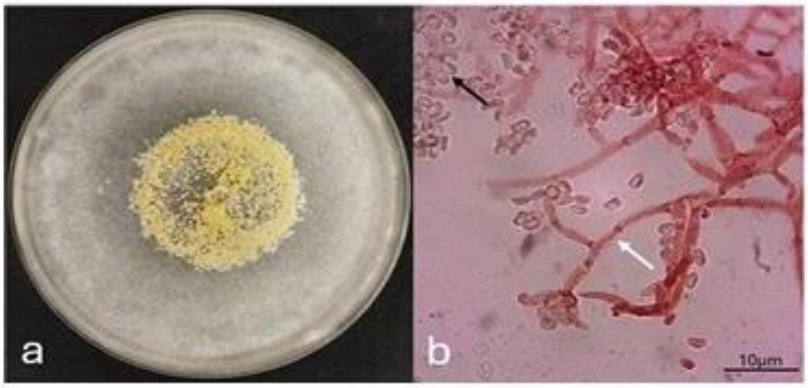


Figura 1. Cepa de *T. longibrachiatum* de consistencia algodonosa blanca, dos anillos concéntricos de color blanco-amarillento (a); conidios ligeramente ovoides y agrupados (flecha negra), clamidosporas globosas (flecha blanca) y fiálides apicales, observados a 40x (b).

Figure 1. *T. longibrachiatum* strain of white cottony consistency, two concentric rings of white-yellowish color (a); slightly ovoid and grouped conidia (black arrow), globose chlamydospores (white arrow) and apical phialides, observed at 40x (b).

Por otro lado, para su identificación molecular se amplificó la region ITS del ADN ribosomal mediante PCR obteniéndose un fragmento de aproximadamente 660 pb. La secuencia obtenida se comparó con la base de datos del GenBank utilizando como herramienta bioinformática el Basic Local Alignment Search Tool (BLAST), revelando un 98.4% de identidad con *Trichoderma longibrachiatum* (Tabla 2).

Tabla 2. Cepa de *Trichoderma* sp. identificada mediante la amplificación de los espaciadores internos (ITS) del DNA ribosomal corroborado con datos del Sistema BLAST y el GenBank.
Table 2. *Trichoderma* sp. strain identified by amplification of ribosomal DNA internal spacers (ITS) corroborated with data from the BLAST System and GenBank.

Organismo identificado	Pares de bases (pb)	Identidad (%)	Referencia del GenBank
Tl	660	98.40	Sin reporte
Trichoderma orientale	637	98.56	JQ685873.1
Trichodema longibrachiatum	668	98.40	MK910067.1
Trichodema longibrachiatum	665	98.40	MK910052.1
Trichodema longibrachiatum	665	98.40	MK910048.1
Trichodema longibrachiatum	666	98.40	MK910044.1
Trichodema longibrachiatum	653	98.40	KR527132.1
Trichodema longibrachiatum	667	98.40	KM225908.1
Trichoderma sp.	979	98.40	MF076623.1
Trichoderma sp.	670	98.40	KM225894.1
Trichoderma sp.	669	98.40	KM225892.1
Trichoderma reesei	665	98.40	MF976623.1

El análisis filogenético, realizado mediante el método Neighbor-Joining con 1000 réplicas de bootstrap, ubicó la cepa estudiada dentro del clado de *Trichoderma longibrachiatum*, diferenciándola de especies cercanas como *T. orientale* (98.56% de identidad) y *T. reesei* (98.40% de identidad). La filogenia mostró tres agrupamientos principales: el primero integrado por *T. reesei* y *T. orientale*, mientras que las demás cepas se clasificaron consistentemente como *T. longibrachiatum*. En este contexto, la cepa TL se posicionó dentro del tercer subgrupo de *T. longibrachiatum* (Figura 2), lo que confirma su identidad molecular y concuerda con estudios previos sobre la diversidad genética del género.

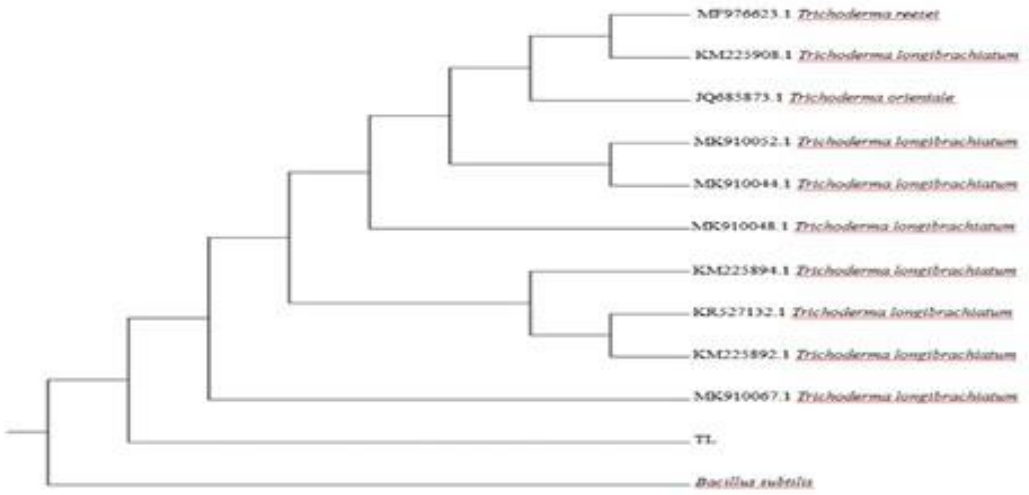


Figura 2. Árbol filogenético que muestra la similitud de *T. longibrachiatum* secuenciada con los datos del Sistema Blast y el GenBank.

Figure 2. Phylogenetic tree showing the similarity of sequenced *Trichoderma longibrachiatum* with data from the Blast System and GenBank.

Pruebas de patogenicidad

A los diez días de incubación a 25 °C se observó el desarrollo de las cepas FUSA, FUSB y FUSC de *Fusarium oxysporum* en hojas de *A. cupreata* y *A. vera*. En contraste, en *H. acupunctata* no se detectaron signos de infección por el hongo patógeno. Entre las cepas evaluadas, FUSA presentó los mayores promedios de crecimiento micelial y en el ancho de la herida en *A. cupreata* y *A. vera*, lo que permite considerarla como la más patogénica de las tres (Tabla 3, Figuras 3 y 4).

Tabla 3. Longitud del crecimiento micelial (mm) y ancho de la herida (mm) en las pruebas de patogenicidad realizadas en *A. cupreata*, *A. vera* y *H. acupunctata*.

Table 3. Mycelial growth length (mm) and wound width (mm) in pathogenicity tests performed on *A. cupreata*, *A. vera* and *H. acupunctata*.

Especie	Cepa	Long. crec. del micelio (mm)	Ancho de la herida (mm)
A. cupreata	FUSA	12.62	2.74
	FUSB	8.80	2.40
	FUSC	2.14	2.22
A. vera	FUSA	12.06	1.94
	FUSB	1.00	1.04
	FUSC	10.70	1.36
H. acupunctata	FUSA	0	0
	FUSB	0	0
	FUSC	0	0

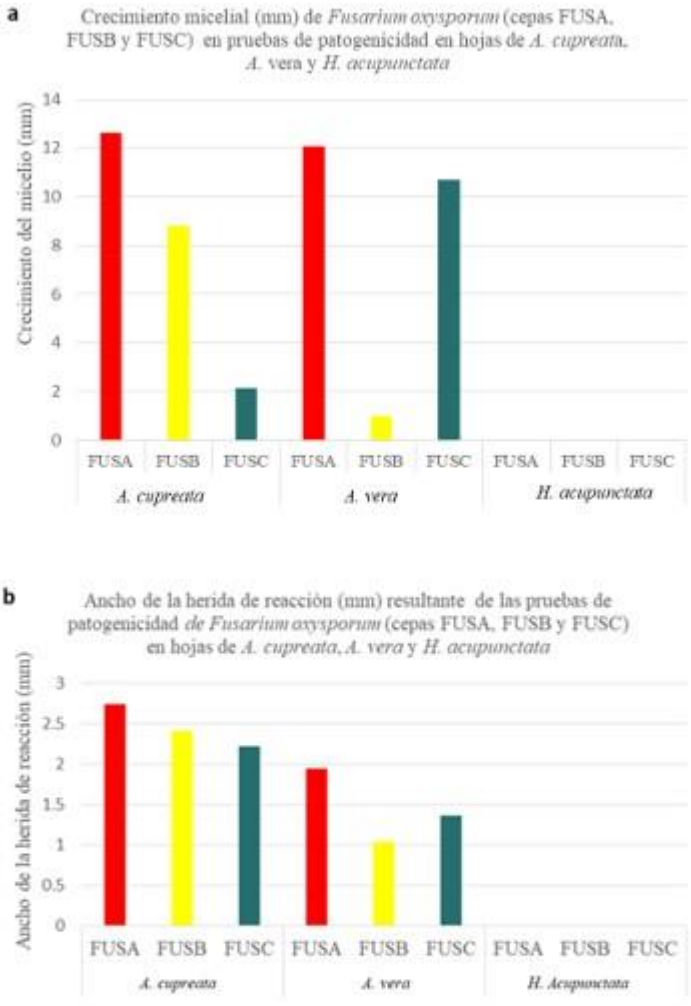


Figura 3. Crecimiento micelial (mm) de las cepas FUSA, FUSB y FUSC de *F. oxysporum* en hojas de *A. cupreata*, *A. vera* y *H. acupunctata* durante las pruebas de patogenicidad en cámaras húmedas. La letra "a" indica la longitud del crecimiento del hongo, mientras que la letra "b" corresponde al ancho de la herida.

Figure 3. Mycelial growth (mm) of the FUSA, FUSB and FUSC strains of *F. oxysporum* on leaves of *A. cupreata*, *A. vera* and *H. acupunctata* during pathogenicity tests in moist chambers. The letter "a" indicates the length of fungal growth and the letter "b" corresponds to the with of the lesion.



Figura 4. Cepas FUSA, FUSB y FUSC obtenidas de las pruebas de patogenicidad de *A. cupreata*.
Figure 4. FUSA, FUSB and FUSC strains obtained from the pathogenicity tests of *A. cupreata*.

Pruebas del antagonismo *in vitro* entre *T. longibrachiatum* y tres cepas de *F. oxysporum* (FUSA, FUSB, FUSC)

La evaluación del antagonismo *in vitro* de *T. longibrachiatum* contra las cepas FUSA, FUSB y FUSC de *F. oxysporum* evidenció que, tras 144 h de confrontación continua, el antagonista inhibió el crecimiento micelial de las tres cepas del patógeno. Entre ellas, FUSC resultó ser la más afectada al registrar el menor valor promedio de crecimiento radial (18.5 mm) y el mayor porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR, 48.5%) en ese periodo de tiempo (Tabla 4 y Figuras 5 y 6).

Tabla 4. Pruebas de antagonismo *in vitro* de *T. longibrachitum* sobre el crecimiento micelial (mm) de las cepas FUSA, FUSB y FUSC de *F. oxysporum* hasta las 144 h de confrontación continua.

Table 4. *In vitro* antagonism tests of *T. longibrachiatum* on mycelial growth (mm) of the FUSA, FUSB and FUSC strains of *F. oxysporum* up to 144 h of continuous confrontation.

Tiempo (h)	*T. long.* (mm)	FUSA (mm)	Tl *vs.* FUSA (mm)	FUSB (mm)	Tl *vs.* FUSB (mm)	FUSC (mm)	Tl *vs.* FUSC (mm)
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
48	24.1	7.5	10.2	8.1	9.0	7.1	10.7
72	31.5	13.0	15.4	12.7	11.2	12.6	12.9
96	39.1	18.2	17.7	17.0	19.8	21.1	13.8
144	41.9	31.4	21.7	28.3	20.1	35.9	18.5

Tl= *Trichoderma longibrachiatum*, FUSA, FUSB, FUSC, cepas de *Fusarium oxysporum*

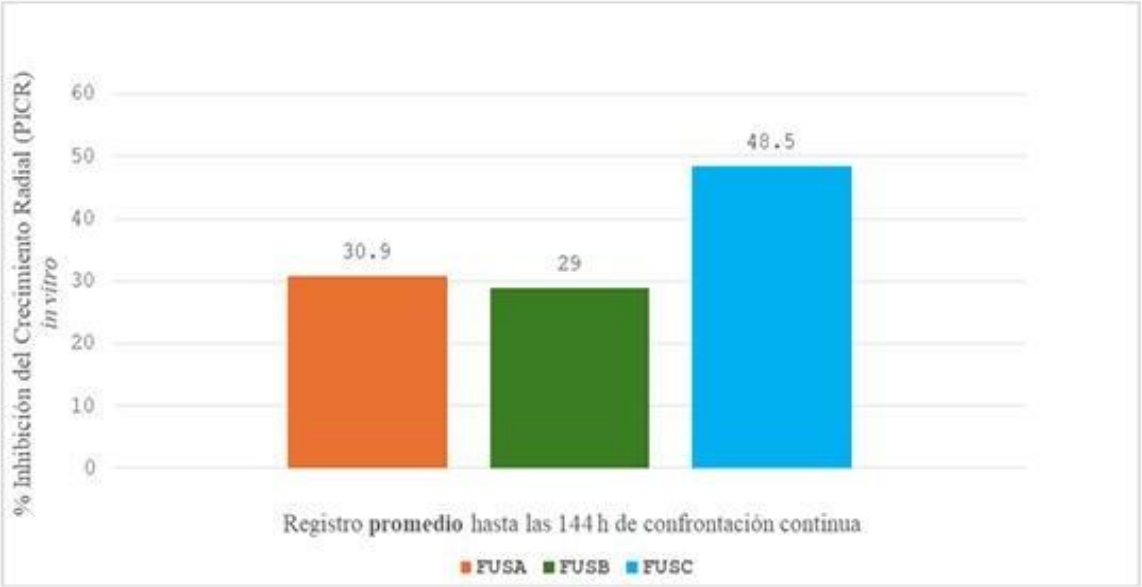


Figura 5. Porcentaje de inhibición por antagonismo *in vitro* de *Trichoderma longibraciatum vs.* FUSA, FUSB y FUSC de *Fusarium oxysporum* hasta las 144 horas de confrontación continua.

Figure 5. Percentage of inhibition by *in vitro* antagonism of *Trichoderma longibrachiatum* vs. FUSA, FUSB and FUSC of *Fusarium oxysporum* up to 144 hours of continuous confrontation.

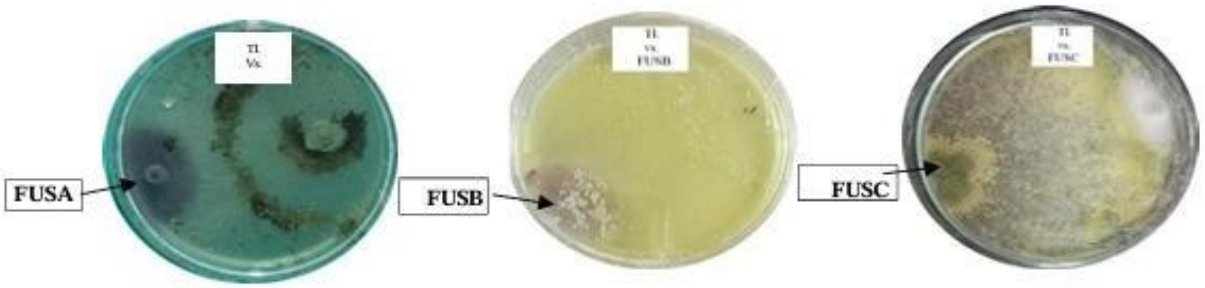


Figura 6. Antagonismo *in vitro* de *T. longibrachiatum* sobre las cepas FUSA, FUSB y FUSC de *F. oxysporum.*

Figure 6. *In vitro* antagonism of *T. longibrachiatum* on the FUSA, FUSB and FUSC strains of *F. oxysporum*.

Análisis microbiológico del sustrato

Los resultados del análisis microbiológico del sustrato, efectuado antes de aplicar los tratamientos, evidenciaron la presencia de bacterias como *Bacillus thuringiensis*, *B. subtilis* y *Lactobacillus* spp., así como el hongo *Verticillium* sp. No se detactó la presencia de *Trichoderma* spp. (antagonista) ni de *Fusarium* spp.

Pruebas en invernadero

El efecto antagónico de *T. longibrachiatum* sobre FUSA, FUSB y FUSC de *F. oxysporum*, evaluado a los 35 días de aplicados los tratamientos en plantas de *A. cupreata* no fue estadísticamente significativo, bajo condiciones de invernadero (Tabla 5).

Tabla 5. ANOVA del efecto antagónico de *T. longibrachiatum* para el control de la marchitez vascular en *A. cupreata*.

Table 5. ANOVA of the antagonistic effect of *T. longibrachiatum* for the control of vascular wilt in *A. cupreata*.

FV	gl	SC	CM	F	P-valor
Tratamientos	12	0.05	4.2E-03	2.0	0.081ns
Repetición	4	0.01	2.5E-03	1.2	0.23ns
Error	48	0.10	2.1E-03		
Total	64				

CV = 46.42. R^2 = 0.37

Con relación al porcentaje de incidencia y el nivel de daño de la marchitez vascular en plantas de *A. cupreata*, a los 21 días de evaluación, el mayor número de plantas sanas se registró en los tratamientos con aplicaciones conjuntas de ambos hongos (T7, T8, T9), alcanzando 10 plantas (66.6%). En contraste, los tratamientos individuales mostraron resultados inferiores: T1, T2 y T3 con 7 plantas (46.7%), y T4, T5 y T6 con apenas 2 plantas (13.3%). Por su parte, los testigos presentaron 9 plantas sanas (60%) en el control comercial y 3 de 5 plantas (60%) del control absoluto. Sin embargo, a los 35 días posteriores a la aplicación de los tratamientos, la incidencia en las 65 plantas evaluadas se elevó al 90.7%, con un nivel de daño "1" en la escala patométrica, caracterizado por hojas moradas y encarrujadas, equivalente a un 37% de

afectación (hojas moradas y encarrujadas) (Tabla 6).

Tabla 6. Incidencia y nivel de daño en el control de *F. oxysporum* (FUSA, FUS B, FUSC) con *T. longibrachiatum.*

Table 6. Incidence and level of damage in the control of *F. oxysporum* (FUSA, FUS B, FUSC) with *T. longibrachiatum.*

	Primera lectura (21d)		Segunda lectura (28d)		Tercera lectura (35d)	
Tratamientos	Plantas Sanas (Núm)	Plantas dañadas (Núm)*	Plantas sanas (Núm)	Plantas dañadas (Núm)*	Plantas Sanas (Núm)	Plantas Dañadas (Núm)*
T1= Tl(1)-FUSA(15)	3	2 *	3	2 *	1	4 *
T2= Tl(1)-FUSB(15)	2	3 *	2	3 *	1	4 *
T3= Tl(1)-FUSC(15)	2	3 *	2	3 *	1	4 *
T4= FUSA(1)-Tl(15)	0	5 *	0	5 *	0	5 *
T5= FUSB(1)Tl(15)	1	4 *	1	4 *	0	5 *
T6= FUSC(1)-Tl(15)	1	4 *	1	4 *	0	5 *
T7= Tl+FUSA	3	2 *	3	2 *	2	3 *
T8= Tl+FUSB	2	3 *	2	3 *	0	5 *
T9= Tl(1)+FUSC	5	0	1	4 *	0	5 *
T10= CuSO45H20+(FUSA)	3	2 *	3	2 *	0	5 *
T11= CuSO45H20+(FUSB)	3	2 *	4	1 *	1	4 *
T12= CuSO45H20+(FUSC)	3	2 *	0	5 *	0	5 *
T13= Testigo absoluto	3	2 *	0	5 *	0	5 *
Totales	31	34	22	43	6	59
	Incidencia = 52.3%		Incidencia = 66.1%		Incidencia = 90.7%	

*Nivel de daño 1 de la escala patométrica.

Tl, *Trichoderma longibrachiatum,* FUSA, FUSB, FUSC, cepas de *Fusarium oxysporum,* (d=días), días de aplicación en el sustrato de crecimiento de la planta, (+), aplicación simultánea.

Por otro lado, en el ANOVA (los cuadrados medios y su significancia) de las variables respuesta evaluadas para determinar el efecto antagónico de *T. longibrachiatum* en plantas de *A. cupreata* —número de hojas por planta, número de raíces por planta, longitud de raíz (cm), así como el diámetro transversal (cm) y vertical de las piñas (cm) — tampoco se detectaron diferencias estadísticas significativas (Tabla 7).

Tabla 7. Cuadrados medios y significancia estadística del número de hojas, número de raíces, longitud de la raíz, diámetro horizontal y vertical de las piñas.
Table 7. Mean squares and statistical significance of the number of leaves, number of roots, root length, horizontal and vertical diameter of the cones.

Fuente	G.L.	No. hojas	No. raíces	Longitud raíz (cm)	Diámetro vertical de la piña (cm)	Diámetro horizontal de la piña (cm)
No. Trat.	12	48.40 ns	122.7 ns	41.72 ns	0.565 ns	0.2934 ns
Error	45	32.69	223.8	1219.8	0.234	0.2046
Promedio		24.56	36.70	6.52	1.72	2.55
C.V %		33.89	40.76	53.55	28.07	16.39

* = Diferencia estadística al 0.05 de probabilidad, ns = no significativo

Sin embargo, al considerar los valores medios aritméticos, se encontró que el tratamiento T2 (T1(1)-FUSB(15)) presentó el mayor número de hojas por planta y diámetro vertical de la piña, el tratamiento T9 (Tl(1)+FUSC(15)) la mayor longitud de raíces, T12 ($CuSO_45H_20$+(FUSC)), mayor número de raíces, mientras que el T7 (Tl(1)+FUSA(15)), mostró el mayor diámetro transversal de la piña (véase Tabla 8).

Tabla 8. Valores medios de las variables número de hojas, raíces y dimensiones de las piñas de *Agave cupreata*.
Table 8. Average values of the variables number of leaves, roots and dimensions of the *A. cupreata* cones.

No. TRAT.	Estructura	NH No.	NR No.	LR cm	DV cm	DH cm
1	T1(1)-FUSA(15)	4.77 ±2.13	6.54 ±2.92	21.15 ±9.46	0.61±0.27	1.53 ±0.68
2	T1(1)-FUSB(15)	**12.28**±5.49	12.93±5.78	26.76±11.96	**3.70±1.65**	0.35±0.15
3	T1(1)-FUSC(15)	4.96±2.22	11.71±5.23	26.85±12.00	0.99±0.44	1.58±0.71
4	FUSA(1)-Tl(15)	1.58±0.070	12.36±5.52	29.12±13.02	1.45±0.64	1.37±0.61

5	FUSB(1)Tl(15)	2.96±1.32	18.05±8.07	31.17±13.93	0.76±0.33	1.29±0.57
6	FUSC(1)Tl(15)	7.39±3.30	16.63±7.44	29.24±13.07	0.90±0.40	1.49±0.66
7	Tl(1)+FUSA(15)	3.84±1.72	16.45±7.35	26.24±11.73	1.01±0.45	**1.71**±0.76
8	Tl(1)+FUSB(15)	7.50±3.36	2.82±1.26	9.74±4.35	1.25±0.56	1.53±0.68
9	Tl(1)+FUSC(15)	10.64±4.76	17.92±8.01	**35.10**±15.69	0.51±0.22	1.26±0.56
10	$CuSO_45H_20$+(FUSA)	7.45±3.72	11.12±5.56	33.06±16.5	0.75±0.33	1.50±0.67
11	$CuSO_45H_20$+(FUSB)	5.05±2.52	1.78±0.89	30.45±15.22	1.14±0.51	1.54±0.89
12	$CuSO_45H_20$+(FUSC)	6.92±3.46	**22.18**±11.09	18.08±9.04	0±0	0±0
13	Testigo	6.92±3.46	33.83±16.91	26.57±13.28	1.55±0.69	1.20±0.69

Tl, *Trichoderma longibrachiatum*, FUSA, FUSB, FUSC, cepas de *Fusarium oxysporum*, NH = número de hojas, NR = número de raíces, LR = longitud de la raíz, DV = diámetro vertical, DH = diámetro horizontal, (días), (#), días de aplicación en el sustrato de crecimiento de la planta, (+), aplicación simultánea.

En el segundo análisis microbiológico del sustrato no se detectó la presencia de los hongos con relación antagonista-patógeno. No obstante, al ser aislados a partir de explantes radiculares obtenidos de piñas de *A. cupreata* y posteriormente confrontados en cultivos duales sobre medio PDA, se evidenció su capacidad antagonista. Las mediciones del crecimiento micelial (mm) de las cepas FUSA, FUSB y FUSC se realizaron a las 48, 72, 96 y 144 h de incubación a 25 °C, hasta el momento en que entraron en contacto en la zona de confrontación con el antagonista *T. longibrachiatum*. El análisis estadístico del porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR), calculado mediante la fórmula propuesta por Worasatit et al. (1994), reveló diferencias significativas al nivel de confianza del 5 % (Tabla 9).

Tabla 9. ANOVA de los enfrentamientos de *T. longibrachiatum vs.* FUSA, FUSB y FUSC de *F. oxysporum* en explantes de raíces sembradas *in vitro* de *A. cupreata*.

Table 9. ANOVA of the confrontations of *T. longibrachiatum vs.* FUSA, FUSB and FUSC of *F. oxysporum* in explants of roots sown *in vitro* of *A. cupreata*.

FV	gl	SC	CM	F	P-valor
Tiempo (T)	3	13504.00375	4501.33458	285.11*	<0.001
Fusarium (F)	5	947.88625	189.57725	12.01*	<0.001
T*F	15	1983.58875	132.23925	8.38*	<0.001
Error	48	757.84000	15.78833		
Total	71	17193.31875			

C. V. = 11.3% $R^2 = 0.96$

Por otro lado, la Tabla 10 y Figura 7 mostraron que a mayor número de horas de incubación *in vitro* los valores medios del PICR (%) fueron más altos, revelando que la FUSC fue la cepa de *F. oxysporum* más sensible a la acción inhibitoria de *T. longibrachiatum*.

Tabla 10. Comparación de medias del Porcentaje de Inhibición del Crecimiento Radial (PICR) en función del tiempo de incubación *in vitro*.

Table 10. Comparison of mean Radial Growth Inhibition Percentage (RGI) values as a function of *in vitro* incubation time.

Agrupamiento de Tukey	Media PICR (%)	Número de observaciones (N)	Tiempo en horas (T)
A	57.117	18	144
B	36.561	18	96
C	24.478	18	72
C	22.828	18	48

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes. Tukey, 5%.

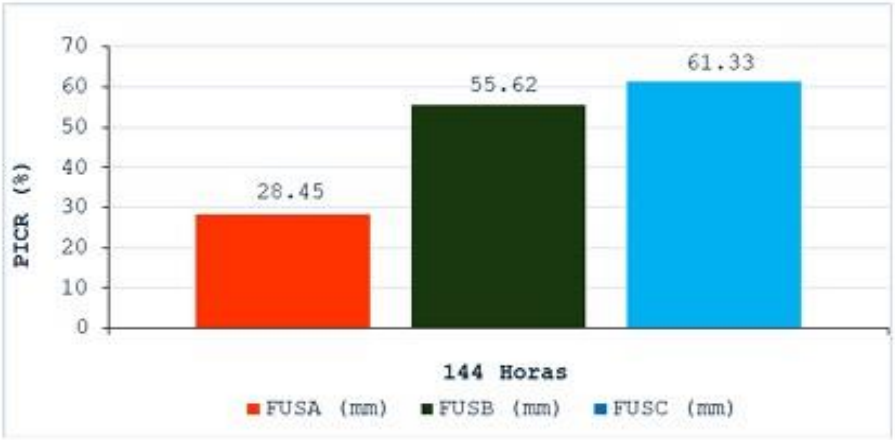


Figura 7. Porcentaje de inhibición de crecimiento radial (PICR) por *T. longibrachiatium* sobre FUSA, FUSB y FUSC de *F. oxysporum* a las 144 h de incubación *in vitro*.

Figure 7. Percentage of radial growth inhibition (PICR) by *T. longibrachiatum* on FUSA, FUSB and FUSC of *F. oxysporum* at 144 h of *in vitro* incubation.

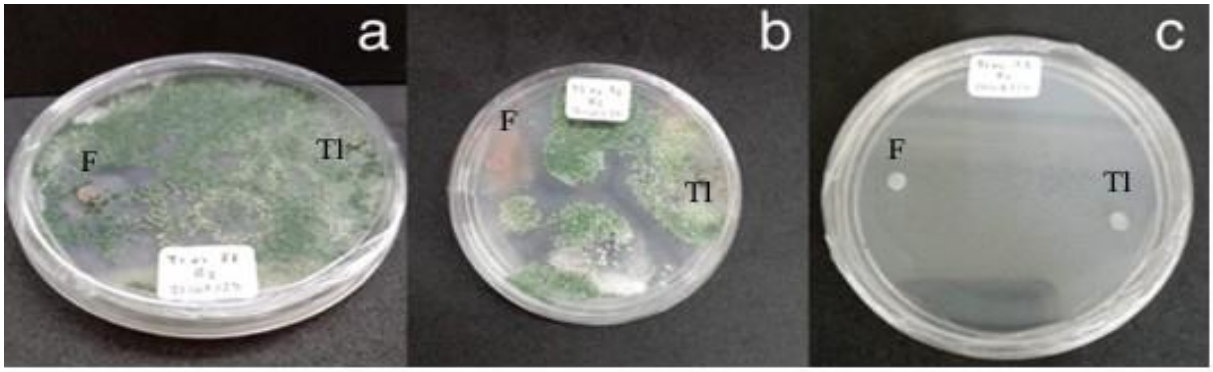


Figura 8. Antagonismo *in vitro* de *T. longibrachiatum* contra *F. oxysporum* (cepas: a = FUSA, b = FUSB y c = FUSC), observado en medio PDA a los 6 días de incubación.

Figure 8. *In vitro* antagonism of *T. longibrachiatum* against *F. oxysporum* (strains: a = FUSA, b = FUSB and c = FUSC), observed in PDA medium after 6 days of incubation

DISCUSIÓN

Identificación morfológica y molecular

La identificación morfológica y microscópica de *Trichoderma longibrachiatum* coincidió con las claves propuestas por (Bissett, 1984). Las características de color y textura del micelio, así como las estructuras reproductivas del hongo, fueron consistentes con lo reportado por (Jambhulkar *et al.*, 2024). El análisis molecular, basado en la comparación con secuencias depositadas en GenBank y en la construcción del árbol filogenético, evidenció una estrecha relación con otras accesiones de la misma especie, corroborando su pertenencia al mismo grupo taxonómico. Este hallazgo concuerda con lo señalado por Samuels *et al.*, (2012) quienes describieron a *T. longibrachiatum* como parte de un clado compuesto por 21 especies de distribución cosmopolita (Tabla 2, Figura 2). La elevada identidad de la secuencia ITS con registros de *T. longibrachiatum* confirmó la identificación molecular de la cepa analizada. Asimismo, el agrupamiento consistente en el árbol filogenético respaldó esta asignación taxonómica y demuestra la utilidad de la región ITS como marcador confiable para la diferenciación de especies dentro del género *Trichoderma* (Druzhinina *et al.*, 2005; Sánchez-Miranda *et al.*, 2021). En comparación con otras especies del género, la posición filogenética de *T. longibrachiatum* sugiere una relación evolutiva cercana con *T. harzianum*, aunque con diferencias suficientes para justificar su separación taxonómica. Este resultado coincide con estudios previos que destacan la diversidad genética dentro del género y la

necesidad de análisis moleculares para una identificación precisa (Kubicek *et al.*, 2019; Samuels *et al.*, 2012). Finalmente, estos hallazgos adquieren relevancia en el ámbito de las aplicaciones biotecnológicas, dado que *T. longibrachiatum* ha sido reportado como un hongo con potencial en el biocontrol agrícola, gracias a su capacidad para colonizar rizósferas y antagonizar patógenos vegetales (Harman *et al.*, 2004; Matas-Baca *et al.*, 2023).

Pruebas de patogenicidad

Respecto a los postulados de Koch, se corroboró la patogenicidad de las tres cepas de *Fusarium oxysporum* probadas en *A. vera* y *A. cupreata* como agentes causales de la marchitez vascular. En el caso de *A. cupreata*, cabe señalar que sus hojas coriáceas difieren de lo reportado por otros autores, quienes realizaron pruebas de patogenicidad en plántulas u hojas herbáceas (Sierra-Moya *et al.*, 2022; Delgado-Ortiz *et al.*, 2016; Kareem *et al.*, 2016). Las preparaciones microscópicas obtenidas del micelio en *A. cupreata* fueron similares a las descritas para hongos del género *Fusarium* (Delgado-Ortiz *et al.*, 2016; Sierra-Moya *et al.*, 2022). Por otra parte, los resultados muestran que la cepa FUSA presentó los mayores promedios de crecimiento en *A. cupreata* y *A. vera*, lo que permite considerarla como la más patogénica de las tres cepas evaluadas en estas pruebas. Este hallazgo es consistente con lo reportado por (Apodaca-Sánchez *et al.*, (2001) quienes demostraron que la patogenicidad de *F. oxysporum* puede variar significativamente entre cepas y está influida por factores como la temperatura y el hospedero. A este respecto, Morales-Mendoza *et al.* (2025) identificaron diferencias en la patogenicidad de cepas aisladas de chile *Capsicum frutescens* sobre *Capsicum chinense*. Estos antecedentes respaldan la interpretación de que la cepa FUSA posee una mayor capacidad infectiva en los hospederos evaluados, en contraste con FUSB y FUSC, y subrayan la importancia de considerar la variabilidad intraespecífica de *Fusarium oxysporum* en estudios de patogenicidad.

Pruebas de antagonismo *in vitro* entre *T. longibrachiatum* y tres cepas de *Fusarium oxysporum*

Los resultados obtenidos en las pruebas de antagonismo muestran que *T. longibrachiatum* fue capaz de inhibir el crecimiento de las tres cepas de *Fusarium oxysporum* evaluadas, siendo FUSC la más susceptible. Este comportamiento concuerda con lo señalado por Benítez *et al.*, (2004), quienes describen que especies de *Trichoderma* ejercen su acción

antagonista a través de mecanismos como micoparasitismo, antibiosis y competencia por nutrientes y espacio. De manera similar, Harman *et al.*, (2004) destacan la eficacia de *Trichoderma* spp. como agentes de biocontrol, subrayando su capacidad para reducir la incidencia de enfermedades causadas por el género *Fusarium*. Además, Hoyos-Carvajal *et al.*, (2009) reportaron variabilidad en la susceptibilidad de diferentes cepas de *Fusarium* frente a especies de *Trichoderma*, lo que respalda la observación de que FUSC fue más sensible en comparación con FUSA y FUSB. Estos antecedentes confirman que la interacción entre antagonista y patógeno depende tanto de las características de la cepa de *Trichoderma* como de la variabilidad intraespecífica de *Fusarium oxysporum*.

La evaluación del porcentaje de inhibición de crecimiento radial (PICR) permitió identificar diferencias en la susceptibilidad de las cepas de *F.* oxysporum frente al antagonista evaluado. Este comportamiento concuerda con lo señalado por Rubio-Tinajero *et al.* (2021) quienes destacan el PICR como un parámetro confiable para medir la capacidad inhibitoria de agentes de biocontrol sobre *Fusarium*. De manera similar, López-Valenzuela *et al.*, (2022) reportaron que la variabilidad en los valores de PICR entre cepas de *Fusarium* se relaciona con diferencias fisiológicas y genéticas, lo que influye en su respuesta frente a antagonistas como *Trichoderma*. Asimismo, Guédez *et al.*, (2012) demostraron que el PICR es una herramienta util para comparar la eficacia de distintos tratamientos y subrayaron la importancia de considerar la variabilidad intraespecífica del patógeno en estudios de control biológico.

Análisis microbiológico del sustrato

En el primer análisis del sustrato se encontraron los siguientes microorganismos: *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus subtilis* reportados como biocontroladores, y *Lactobacillus* spp. como mejorador del suelo reportado por Alvarez-Vera *et al.* (2019) ellos comentan que los consorcios microbianos del suelo son benéficos, en esta investigación el sustrato estuvo compuesto por peat moss, agrolita y fibra de coco que favorecieron el crecimiento de estos microorganismos. También se encontró el hongo *Verticillium* spp. Fitopatógeno del suelo que en esta investigación no mostró efecto detrimental en las plantas utilizadas para el experimento (Velásquez-Valle and Reveles–Torres, 2017). En el segundo análisis microbiológico del sustrato, tampoco se observaron *Trichoderma* sp. ni *Fusarium* sp. como se esperaba. Es probable que estos resultados se deban a que sólo se realizó una aplicación de los tratamientos en plantas con tres años de edad con consistencia coríacea, a diferencia

de otros trabajos realizados en invernadero en plántulas u hojas herbáceas (Delgado-Ortiz *et al.*, 2016;Sierra-Moya *et al.*, 2022; Kareem *et al.*, 2016; Cao *et al.*, 2025). Por otra parte, *Trichoderma* sp. y *Fusarium* son habitantes naturales del suelo y los dos se adhieren a las raíces de las plantas para infectarlas en una interacción planta-antagonista-patógeno (Hernández-Melchor *et al.*, 2019; López-Bautista *et al.*, 2019; Vega-Ramos *et al.*, 2013).

Pruebas en invernadero

En las pruebas en invernadero no se registraron diferencias estadísticas significativas entre los 13 tratamientos probados hasta los 35 días después de su aplicación para evaluar el efecto antagónico de *T. longibrachiaatum* y el químico contra *F. oxysporum*, para el control de la marchitez vascular en *A. cupreata* (Tabla 5). A los 21 días se encontraron 31 plantas sanas sin síntomas de la enfermedad (47.7%) de un total de 65 como unidades experimentales (Tabla 6). Al considerar las quince plantas de los tratamientos T7, T8 y T9 (aplicación conjunta de *T. longibrachiatum* y *F. oxysporum*), también se encontraron 10 plantas sanas (66.6%), mientras que en los tratamientos T10, T11 y T12 (control químico) se tuvieron solo 9 (60%). Estos resultados sugieren un efecto antagónico y químico sobre *F.* ox*ysporum*, respectivamente, como causante de la marchitez vascular, similar a lo reportado por Zhu *et al.* (2026), así como el resultado posible de la competencia por espacio y nutrientes en las interacciones *Trichoderma-Fusarium*-rizósfera (Sharma and Sharma, 2020). Asimismo, la disminución progresiva de las plantas sanas hasta los 35 días (9.2%) reflejó la capacidad de *Fusarium oxysporum* para superar las defensas iniciales de la planta, esto sugiere que el antagonismo de *T. longibrachiatum* depende de factores como su persistencia en el suelo y las condiciones de temperatura y humedad relativa (Verma *et al.*, 2026). Por otro lado, la alta incidencia de la marchitez vascular registrada en *A. cupreata* (90.7%) y el nivel homogéneo de daño en planta (nivel 1 = 37%, escala patométrica DGSV-CNRF, 2017) hasta esos días, confirmó que la virulencia del patógeno aumentó gradualmente, causando una infección sistémica progresiva durante la cual *F. oxysporum* se estableció y multiplicó al mismo ritmo en todas las plantas causando un deterioro constante, uniforme y predecible, que puede explicar la falta de significancia estadística entre los tratamientos probados y sus variables respuesta (Tabla 7): número de hojas, diámetro vertical y diámetro horizontal de la piña, número de raíces y longitud de raíz (López-Bautista *et al.*, 2019). Estos resultados reafirman en consecuencia que el efecto de los tratamientos biológicos con *T. longibrachiatum* y el químico con sulfato de cobre pentahidratado, se comportaron estadísticamente igual en el manejo y control de la marchitez vascular en *A. cupreata*.

Por otra parte, no obstante que el resultado del segundo análisis microbiológico del sustrato de crecimiento de la planta fue negativo en la detección de estos hongos (antagonista-patógeno) al término de las pruebas

de invernadero, su aislamiento a partir de explantes radiculares obtenidos de piñas de *A. cupreata* y, luego su confrontación *in vitro* en cultivos duales durante 6 días (144 h), permitió evidenciar su capacidad antagónica donde el porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) de las cepas FUSB y FUSC por la acción antagónica de *T. longibrachiatum* fue de 55.62% y 61.33% respectivamente (Tabla 10). No se realizaron análisis de fenoles, flavonoides, actividad POX ni PAL en hojas para evaluar la protección en la planta; no obstante, los resultados sugieren la posible existencia de una defensa inducida por *T. longibrachiatum* (Abdelrahman *et al.*, 2016; González-Soto *et al.*, 2017).

Las condiciones de temperatura media anual durante el experimento en invernadero (20.9 °C) fueron cercanas a la región del Balsas (19.1 °C) (Barrientos-Rivera *et al.*, 2020; Gentry, 1982). Esto sugiere que en un futuro *A. cupreata* pueda adaptarse a valles altos como lo señalan Sáenz-Romero *et al.* (2012) debido a que el cambio climático en la región del Balsas, *A. cupreata* enfrenta problemas de sobrevivencia, por lo que sugieren su migración paulatina hacia mayores altitudes.

CONCLUSIONES

La identificación molecular de *T. longibraquiatum* se confirmó con el Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) y el GenBank, con un índice de identidad del 98.40%.

Las pruebas de patogenicidad en hojas de *A. cupreata* confirmaron que la cepa FUSA de *Fusarium oxysporum*, fue la más virulenta.

Las pruebas de antagonismo *in vitro* revelaron que el porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) por *T. longibrachiatum* fue de 28.45% para FUSA, 55.62% para FUSB y 61.33% para FUSC a las 144 horas de incubación en PDA, 25°C.

El efecto del control biológico *T. longibrachiatum vs. F. oxysporum* fue estadísticamente igual al efecto químico con Sulfato de cobre pentahidratado, para el control de la marchitez vascular en *A. cupreata*, bajo condiciones de invernadero.

Con base en estos resultados se rechaza la hipótesis original y se sugiere el empleo de *T. longibrachiatum* como estrategia biorracional alternativa para el control ecológicamente sostenible de la marchitez vascular en esta especie.

Financiamiento. Esta investigación fue financiada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) mediante la beca doctoral con número de registro DICARM-1321.

Conflicto de intereses. Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Cumplimiento de las normas éticas. Este trabajo no requirió la aprobación de un comité de

bioética.

Disponibilidad de datos. Los datos están disponibles previa solicitud al Dr. Amaury M. Arzate-Fernández (autor por correspondencia).

Declaración de contribución de los autores (CRediT). M.C. Corona-Rodríguez: Conceptualización, curación de datos, investigación, redacción y edición del artículo. H.G. García-Núñez: Conceptualización, metodología, investigación y análisis de formato. A.M. Arzate-Fernández: Conceptualización, investigación, administración del proyecto, visualización, validación, redacción y edición. T.H. Norman-Mondragón: Investigación, metodología y visualización. V. Lamus-Molina: Investigación, metodología, redacción y edición. A.A. Jiménez-García: Investigación y metodología. M.L. Salgado-Siclán: Investigación y metodología. P.J. Pérez-Pichardo: Investigación y metodología. J. I. Reyes-Díaz: Investigación, metodología, análisis y visualización.

Agradecimientos

A la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología, Innovación con el proyecto SECIHTI CBF-2025-1-463; a la Universidad Autónoma del Estado de México con el proyecto DICARM 1321. A los doctores: Arizmendi-Cotero, D., González-Huerta, A., Laguna Cerda, A. por su apoyo en los análisis estadísticos e interpretación.

REFERENCIAS

Abdelrahman, M., Abdel-Motaal, F., El-Sayed, M., Jogaiah, S., Shigyo, M., Ito, Shin-ichi and Lam-Son, P. T. (2016). Dissection of *Trichoderma longibrachiatum*-induced defense in onion (*Allium cepa* L.) against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepa* by target metabolite profilinng. *Elsevier*, (1), 7-22. https://www.elsevier.com/open-access/userlicense/1.0/

Alvarez-Vera, M. S., Soto-Valenzuela J. O., Quevedo-Vásquez J. O. y Giler-Escandón L. V. (2019). Obtención de consorcios microbianos benéficos y su incidencia en la población microbiana nativa de la rizósfera de plantas de fresa (*Fragaria* sp.) *Polo Del Conocmiento,* 4(11), 149–179.

DOI:. http://polodelconocimiento.com/ojs/index.php/es.Pol

Apodaca-Sánchez, M. A., Zavaleta-Mejía, E. Osada-Kawasoe, S. y García-Espinosa, R. (2001). Comparación de técnicas para evaluar *in vitro* la patogenicidad de *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* y efecto de la temperatura. *Revista Mexicana de Fitopatología,* 19(2), 197-202. http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61219210

Ayala-Armenta, Q. A., Cortez-Mondaca, E., Apodaca-Sánchez, M. Á., Leal-León, V. M.,

Valenzuela-Escoboza, F. A., y Palacios-Mondaca, C. A. (2018). Efectividad de fungicidas convencionales y biorracionales sobre *Sclerotinia sclerotiorum in vitro*. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, (11), 2149-2156. https://doi.org/10.29312/remexca.v0i11.784

Barrientos-Rivera, G., Hernández-Castro, E., Sampedro-Rosas, M. L., y Segura-Pacheco, H. R. (2020). Conocimiento tradicional y academia: productores de maguey y mezcal de pequeña escala en las regiones Norte y Centro de Guerrero, México. *Sociedad y Ambiente*, (23), 1–28. https://doi.org/10.31840/sya.vi23.2173

Benítez, T., Rincón, A. M., Limón, M. C. and Codón, A. C. (2004). Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strain. *International Microbiology*, 7(4), 249-260. https://scielo.isciii.es/pdf/im/v7n4/Benitez.pdf

Bissett, J. (1984). A revision of the genus *Trichoderma*. I. Section *Longibrachiatum*. *Canadian Journal of Botany*, 62(5), 924–931. https://doi.org/10.1139/b84-130

Blaszczyk, L., Basinska-Barczak, A., Cwiek-Kupczynska, H., Gromadska, K., Popiel D., and Stepien, L. (2017). Suppressive effect of *Trichoderma* spp. on toxigenic *Fusarium* species. *Core*, 66(1), 86–100. https:doi.org/10.5604/17331331.1234997

Cao, X., Liang, J., Wu, Z., Zhang, M., Li, H., Liu, T., Yue, W., Wang, Y., Jiang, L., Wary, G., Zhao, P., Zhou, Y., Chen, X., Sui, J., Hou, D., Song, X., and Zhang, X. (2025). Biocontrol mechanisms of *Trichoderma longibrachiatum* SMF2 against Lanzhou Lily wilt disease caused by *Fusarium oxysporum* and *Fusarium solani*. *Horticulturae*, 11(6), 1–10.

Colunga-GarcíaMarín, P., Zizumbo-Villarreal, D., y Martínez, J. (2007). Tradiciones en el aprovechamiento de los agaves mexicanos: una aportación a la protección legal y conservación de su diversidad biológica y cultural. *En Lo Ancestral Hay Futuro: Del Tequila, Mezcales y Otros Agaves*. 229-248.

Consejo Mexicano Regulador de la Calidad del Mezcal, A. C. (2024). *Informe Estadístico.*

Delgado-Ortiz, J. C., Ochoa-Fuentes, Y. M., Cerna-Chávez, E., Beltrán-Beache, M., Rodríguez-Guerra, R., Aguirre-Uribe, L. A., y Vázquez-Martínez, O. (2016). Patogenicidad de especies de *Fusarium* asociadas a la pudrición basal del ajo en el centro norte de México. *Revista Argentina de Microbiología,* 48(3), 222–228. https://doi.org/10.1016/j.ram.2016.04.003

DGSV-CNRF. (2017). Marchitez del agave. *Fusarium oxysporum*. SAGARPA-SENASICA. Dirección General de Sanidad Vegetal-Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria. Tecámac, México. 11p.

Druzhinina, I. S., Kopchinskiy, A. G., Komon, M., Bissett, J., Szakacs, G. and Kubicek, C. P.

(2005) An oligonucleotide barcode for species indentification in *Trichoderma* and *Hypocrea*. *Fungal Genetics and Biology*, (42), 813-828. https://doi:10.1016/j.fgb.2005.06.007

Flores, L. H. E., Ireta, M. J., y Ruiz, C. J. A. (2010). *Tecnología para la prevención y/o control de la marchitez del Agave tequilero en Jalisco, Guadalajara* (Prometeo Editores). Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias

Gentry, H. S. (1982). *Agaves of Continental North America* (The University of Arizona, Ed.). *The University Arizona Press*. pp. 63-123.

Gobierno Federal. (2013), Diario Oficial de la Federación. 1–11. Enero, 8.

González-Soto, T. E., Moreno-Ramírez, L., Troncoso-Rojas, R., González-Mendoza, D., Sánchez-Estrada, A., Grimaldo Juárez, O., Tzintzun-Camacho, O., y Ceceña-Durán, C. (2017). Inoculación de *Trichoderma longibrachiatum* en algodón transgénico: Cambios en compuestos fenólicos y enzimas de estrés oxidativo. *Idesia*, 35(1), 19–24. https:/doi: 10.4067/50718-3429201700500000

Guédez, C., Canizález, L., Castillo, C. y Olivar, R. 2012. Evaluación *in vitro* de aislamientos de *Trichoderma harzianum* para el control de *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* y *Fusarium oxysporum* en plantas de tomate. *Rev. Soc. Ven. Microbiol.*, 32 (1), 44-49.

Guevera, I., y Rodríguez-Gálvez, E. (2006). Inductores químicos de resistencia en la supresión de la marchitez del algodonero causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* en sistema hidropónico. *Universalia*, 11(1), 6–12.

Harman, G. E., Howell, C. R., Viterbo, A., Chet, I. and Lorito, M. (2004). *Trichoderma* species – opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews, Microbiology*, (2), 43-56. Doi:10.1038/nrmicro797

Hernández-Melchor, D. J., Ferrera-Cerrato, R., and Alarcón, A. (2019). *Trichoderma*: Agricultural and biotechnological importance, and fermentation systems for producing biomass and enzymes of industrial interest. *Chilean Journal Agriculture Animal Science*, 35(1), 98–112. DOI: 10.4067/50719-38902019005000205

Hoyos-Carvajal, L., Orduz, S. and Bissett, J. (2009). Genetic and metabolic diversity of *Trichoderma* from Colombia and their potential as biocontrol agents against plant pathogenic fungi. Fungal Diversity, 46 (9), 165-186. https://doi.org/10.1016/j.fgb.2009.04.006

Jambhulkar, P. P., Singh, B., Raja, M., Ismaiel, A., Lakshman, D. K., Tomar, M., and Sharma, P. (2024). Genetic diversity and antagonistic properties of *Trichoderma* strains from the crop rhizospheres in southern Rajasthan, India. *Scientific Reports*, 14(1), 8610.

https://doi.org/10.1038/s41598-024-58302-5

Kareem, T.K, Ugoji, O. E., and Aboaba, O. O. (2016). Biocontrol of *Fusarium* wilt of cucumber with *Trichoderma longibrachiatum* NGJ167 (Rifai). *British Microbiology Research Journal*, 16(5), 1–11. https://doi.org/10.9734/BMRJ/2016/28208

Kubicek, C. P., Steindorff, A. S., Chenthamara, K., Manganiello, G., Henrissat, B., Zhang, J., Cai, F., Kopchinsky, A. G. Kubicek, E. M., Kuo, A., Baroncelli, R., Sarroco, S., Ferreira Noronha, E., Vannacci, G., Shen, Q., Grigoriev, I. V. and Druzhinina, I. S. (2019). Evolution and comparative genomics of the most common *Trichoderma* species. *BMC Genomics*, 20(485), 1-24. https://doi.org/10.1186/s12864-019-5680-7

López-Bautista, V., Mora-Aguilera, G., Gutiérrez-Espinosa, M. A., Mendoza-Ramos, C., Martínez-Bustamante, V. I., Coria-Contreras, J. J., Acevedo-Sánchez, G., and Santana-Peñaloza, B. (2019). Morphological and molecular characterization of *Fusarium* spp. associated to the regional occurrence of wilt and dry bud rot in *Agave tequilana*. *Revista Mexicana de Fitopatologia, Mexican Journal of Phytopathology*, 38(1), 1-28. https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1911-4

López-Valenzuela, B., Tzintzun-Camacho, O., Armenta-Bojórquez, A., Valenzuela-Escoboza, F., Lizárraga-Sánchez, G., Ruelas-Islas, J., and González-Mendoza, D. (2022). Microorganisms of genus *Trichoderma* as phytohormone promoters and pathogen suppressors. *Bioagro*, 34(2), 163-172. https://doi.org/10.51372/bioagro342.6

Martínez-Palacios, A., Martínez-Castro, L. E., Nápoles-Alvarez, C. R., Sánchez-Vargas, N. M., Ambriz-Cervantes, L., Guillén-Rodríguez, S., y Lobit, P. (2015). Monocultivo y sistemas agresivos de manejo asociados a plagas y enfermedades en plantaciones de *Agave cupreata* en Michoacán. In: *Aspectos sobre el manejo y la conservación de agaves mezcaleros en Michoacán.* (1), 85-101. https://www.researchgate.net/profile/Susana-Rodriguez-15/publication/295573233_Aspectos_sobre_manejo_y_conservacion_de_Agaves_mezcaleros_en_Michoacan/links/56cbd47b08ae1106370bad90/Aspectos-sobre-manejo-y-conservacion-de-Agaves-mezcaleros-en-Michoacan.pdf#page=63

Matas-Baca, M. A., Flores-Córdova, M. A., Pérez-Álvarez, S., Rodríguez-Roque, M. J., Salas-Salazar, N. A., Soto-Caballero, M. C. and Sánchez-Chávez, E. 2023. *Trichoderma* fungi as an agricultural biological control in Mexico. *Revista Chapingo*, Serie Horticultura, 29(3), 79-114. https://doi.org./10.5154/r.rchsh.11.015

Mendoza-Celino, S., Rodríguez-Trejo, D. A., Granados-Sánchez, D., Carrasco-Hernández V.,

Mohedano-Caballero, L., and Tchikoué, H. (2017). The interaction phenotype, seed size and temperature affect the germinative capacity of *Agave cupreata*. *Seed Science and Technology*, 46(3), 726–731. https://doi.org/10.15258/sst.2017.45.3.14

Michel–Aceves, A. C., Otero-Sánchez, M. A., Solano-Pascacio, L. Y., Ariza-Flores, R., Barrios-Ayala, A., and Rebolledo-Martínez, A. (2009). Biocontrol *in vitro* con *Trichoderma* spp. de *Fusarium subglutinans* (Wollenweb. y Reinking) Nelson, Toussoun y Marasas y *F. oxysporum* Schlecht., Agentes Causales de la "Escoba de Bruja" del Mango (*Mangifera indica* L.). *Revista Mexicana de Fitopatología*, *27*(1), 18–26.

Morales-Mendoza, A. G., Chacón, C., Navarrete-Mapen, R. Z. and Ruiz-Lau, N. (2025). Identication of *Fusarium oxysporum* strains isolated from "Siete Caldos" chili (*Capsicum frutescens* L.) and it pathogenicity in *Capcicum chinense* Jacq. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 28(2), 1-10. https://doi.org/10.56369/tsaes.6249

Rubio-Tinajero S, Osorio-Hernández E, Estrada-Drouaillet B, Silva-Espinosa JHT, Rodríguez-Mejía, M.D.L. and Nava-Juárez, R. A. MDL and Nava-Juárez RA. (2021). *In vitro* antagonist biocontrol of *Fusarium oxysporum* and *Dickeya chrysanthemi*. *Mexican Journal of Phytopathology* 39(3), 515-528. doi: https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2104-1

Sáenz-Romero, C., Martínez-Palacios, A., Gómez-Sierra, J. M., Pérez-Nasser, N., & Sánchez-Vargas, N. M. (2012). Estimación de la disociación de *Agave cupreata* a su hábitat idóneo debido al cambio climático. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y Del Ambiente*, *18*(3), 291–301. https://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2011.11.078

Samuels, G. J., Ismaiel, A., Mulaw, T. B., Szakacs, G., Druzhinina, I. S., Kubicek, C. P., & Jaklitsch, W. M. (2012). The *Longibrachiatum* Clade of *Trichoderma*: a revision with new species. *Fungal Diversity*, *55*(1), 77–108. https://doi.org/10.1007/s13225-012-0152-2

Sánchez-García, B. M., Espinosa-Huerta, E., Villordo-Pineda, E., Rodríguez-Guerra, R. and Mora-Aviléz, M. A. (2017). Identificación molecular y evaluación antagónica *in vitro* de cepas nativas de *Trichoderma* spp. sobre hongos fitopátógenos de raíz en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. Montcalm. *Agrociencia*, 51(1), 63-79. www.scielo.org.mx/pdf/agro/v51n1/1405-3195-agro-51-01-00063-en.pdf

Sánchez-Miranda, M. D., Moreno, M. L. F. and Páramo, A. L. A. (2021). Identificación morfológica y molecular de especies autóctonas *Trichoderma* spp., aisladas de suelos de importancia agrícola. *El Higo, Revista de Ciencia y Tecnología*, 11(1), 1-13. https://doi.org./10.5377/elhigo.v11i1.11715

White, T. J., Bruns, T., Lee, S., and Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: PCR protocol: A Guide to method and applications. *Academic Press*, 315-322. DOI: 10.1016/13978-0-12-372180-8.50042-1

Worasatit, N., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E. L., and Rowland, C. (1994). Variation in pyrone production, lytic enzymes and control of *Rhizoctonia* root rot of wheat among single-spore isolates of *Trichoderma koningii*. *Mycological Research*, *98*(12), 1357–1363. https://doi.org/10.1016/S0953-7562(09)81063-0

Zeilinger, S., Gruber, S., Bansal, R., & Mukherjee, P. K. (2016). Secondary bolism in *Trichoderma*–Chemistry meets genomics. *Fungal Biology Reviews*, *30*(2), 74–90. https://doi.org/10.1016/j.fbr.2016.05.001

Zhu, R., Li, Y., Viñas, M., Kong, Q., Xu, M., Zhang, X., Song, X., He, K. and Guo, Z. (2026). Inhibitory effect of *Trichoderma longibrachiatum* on growth of *Fusarium* species and accumulation of fumonisins. *Journal of fungi*, 12(1), 49. https://doi.org/10.339

VIII. DISCUSIÓN GENERAL

8.1 Impact and control prospects at the *Fusarium complex*, associated to the wilt in *Agave* and other crops

Dado que el cultivo de agave representa una importante fuente de ingresos para los productores, industrializadores y comercializadores, se hace imperativa la necesidad de revisar constantemente los avances que en este renglón surgen a través del tiempo para garantizar la calidad de sus productos y servicios. Es el caso de su fitosanidad la cual se ha visto afectada en los últimos años por la presencia de especies del complejo *Fusarium* (F. o.) como causantes de la marchitez vascular entre el 30 y 100% de incidencia de todas las plantaciones. Para su control se han utilizado fungicidas sintéticos costosos y la desifección del suelo con fumigantes que han resultado poco efectivos y han generado contaminación al ambiente y resistencia del patógeno, entre otros (Patiño *et al*., 2026).

Entre los métodos químicos, biológicos, ecológicos y fitosanitarios citados en esta revisión documental como estrategia ecológica y de bajo costo para reducir los niveles de incidencia de este patógeno, se propuso como tratamiento biorracional el empleo de *Trichoderma longibrachiatum* como agente de control biológico en *Agave cupreata*, bajo condiciones de invernadero.

8.2 Evaluación del efecto antagonista de *Trichoderma longibrachiatum* contra el complejo *Fusarium oxysporum* en *Agave cupreata* bajo condiciones de invernadero

8.2.1 Identificación morfológica y molecular de *Trichoderma longibrachiatum*

La identificación morfológica y microscópica de *Trichoderma longibrachiatum* coincidió con las claves propuestas por Bissett (1984). Las características de color y textura del micelio, así como las estructuras reproductivas del hongo, fueron consistentes con lo reportado por Jambhulkar *et al*. (2024). El análisis molecular, basado en la comparación con secuencias depositadas en GenBank y en la construcción del árbol filogenético, evidenció una estrecha relación con otras accesiones de la misma especie, corroborando su pertenencia al mismo grupo taxonómico, de acuerdo a Samuels *et al*. (2012). Asimismo, se demuestra la utilidad de la región ITS como marcador confiable para la diferenciación de especies dentro

del género *Trichoderma* (Druzhinina *et al*., 2005; Sánchez-Miranda *et al*., 2021). La posición filogenética de *T. longibrachiatum* sugiere una relación evolutiva cercana con *T. harzianum*, aunque con diferencias suficientes para justificar su separación taxonómica (Kubicek *et al*., 2019; Samuels *et al*., 2012). Finalmente, *T. longibrachiatum* ha sido reportado como un hongo con potencial en el biocontrol agrícola, gracias a su capacidad para colonizar rizósferas y antagonizar patógenos vegetales (Harman *et al*., 2004; Matas-Baca *et al*., 2023).

8.2.2 Pruebas de patogenicidad

Respecto a los postulados de Koch, se corroboró la patogenicidad de las tres cepas de *Fusarium oxysporum* probadas en *A. vera* y *A. cupreata* como agentes causales de la marchitez vascular. En el caso de *A. cupreata*, cabe señalar que sus hojas coriáceas difieren de lo reportado por otros autores, quienes realizaron pruebas de patogenicidad en plántulas u hojas herbáceas (Sierra-Moya *et al*., 2022; Delgado-Ortiz *et al*., 2016; Kareem *et al*., 2016). Las preparaciones microscópicas obtenidas del micelio en *A. cupreata* fueron similares a las descritas para hongos del género *Fusarium* (Delgado-Ortiz *et al*., 2016; Sierra-Moya *et al*., 2022). Por otra parte, los resultados muestran que la cepa FUSA presentó los mayores promedios de crecimiento en *A. cupreata* y *A. vera*, lo que permite considerarla como la más patogénica de las tres cepas evaluadas en estas pruebas (Apodaca-Sánchez *et al*., 2001). A este respecto, Morales-Mendoza *et al*. (2025) identificaron diferencias en la patogenicidad de cepas aisladas de chile *Capsicum frutescens* sobre *Capsicum chinense*. Estos antecedentes respaldan la interpretación de que la cepa FUSA posee una mayor capacidad infectiva en los hospederos evaluados, en contraste con FUSB y FUSC, y subrayan la importancia de considerar la variabilidad intraespecífica de *Fusarium oxysporum* en estudios de patogenicidad.

8.2.3 Pruebas de antagonismo *in vitro* entre *T. longibrachiatum* y tres cepas de *Fusarium oxysporum* (FUSA, FUSB y FUSC)

Los resultados obtenidos en las pruebas de antagonismo muestran que *T. longibrachiatum* fue capaz de inhibir el crecimiento de las tres cepas de *Fusarium oxysporum* evaluadas, siendo FUSC la más susceptible (Benítez *et al*., 2004). De manera similar, Harman *et al*. (2004) destacan la eficacia de *Trichoderma* spp. como agentes de biocontrol del género *Fusarium*. Además, Hoyos-Carvajal *et al*. (2009) reportaron variabilidad en la susceptibilidad de

diferentes cepas de *Fusarium* frente a especies de *Trichoderma*. La evaluación del porcentaje de inhibición de crecimiento radial (PICR) permitió identificar diferencias en la susceptibilidad de las cepas de *F. oxysporum* frente al antagonista evaluado por Rubio-Tinajero *et al*. (2021), quienes destacan el PICR como un parámetro confiable para medir la capacidad inhbitoria de agentes de biocontrol sobre *Fusarium*. De manera similar, López-Valenzuela *et al*. (2022) reportaron que la variabilidad en los valores de PICR entre cepas de *Fusarium* se relaciona con diferencias fisiológicas y genéticas, lo que influye en su respuesta frente a antagonistas como *Trichoderma*. Asimismo, Guédez *et al*. (2012) demostraron que el PICR es una herramienta útil para comparar la eficacia de distintos tratamientos y subrayaron la importancia de considerar la variabilidad intraespecífica del patógeno en estudios de control biológico.

8.2.4. Análisis microbiológico del sustrato

En el primer análisis del sustrato se encontraron los siguientes microorganismos: *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus subtilis* reportados como biocontroladores, y *Lactobacillus* spp. como mejorador del suelo reportado por Alvarez-Vera *et al*. (2019). También se encontró el hongo *Verticillium* spp. fitopatógeno del suelo que en esta investigación no mostró efecto detrimental en las plantas utilizadas para el experimento (Velásquez-Valle and Reveles–Torres, 2017). En el segundo análisis microbiológico del sustrato, tampoco se observaron *Trichoderma* sp. ni *Fusarium* sp. como se esperaba. Es probable que estos resultados se deban a que sólo se realizó una aplicación de los tratamientos en plantas con tres años de edad con consistencia coriácea, a diferencia de otros trabajos realizados en invernadero en plántulas u hojas herbáceas (Delgado-Ortiz *et al*., 2016; Sierra-Moya *et al*., 2022; Kareem *et al*., 2016; Cao *et al*., 2025). Por otra parte, *Trichoderma* sp. y *Fusarium* son habitantes naturales del suelo y los dos se adhieren a las raíces de las plantas para infectarlas en una interacción planta-antagonista-patógeno (Hernández-Melchor *et al*., 2019; López-Bautista *et al*., 2019; Vega-Ramos *et al*., 2013).

8.2.5 Pruebas en invernadero

En las pruebas realizadas en invernadero no se obtuvieron diferencias estadísticas significativas entre los 13 tratamientos probados, para evaluar el efecto antagónico de *T. longibrachiatum* y el químico contra *F. oxysporum*, para el control de la marchitez vascular

en *A. cupreata* (Tabla 5). A los 21 días después de aplicados los tratamientos se encontraron 31 plantas sanas sin síntomas de la enfermedad (47.7%) de un total de 65 plantas como unidades experimentales (Tabla 6). Al considerar las quince plantas de los tratamientos T7, T8 y T9 (aplicación conjunta de *T. longibrachiatum vs*. *F*. *oxysporum*), presentaron 10 plantas sanas (66.6%), mientras que los tratamientos T10, T11 y T12 (control químico) tuvieron solo 9, (60%). Estos resultados sugieren un efecto antagónico y químico sobre *F. oxysporum*, respectivamente, como causante de la marchitez vascular, similar a lo reportado por Zhu *et al*. (2026), así como el resultado posible por competencia de espacio y nutrientes en las interacciones *Trichoderma-Fusarium*-rizósfera (Sharma and Sharma, 2020). Asimismo, la disminución progresiva de plantas sanas hasta los 35 días (9.2%) reflejó la capacidad de *Fusarium oxysporum* para superar las defensas iniciales de la planta, esto sugiere que el antagonismo de *T. longibrachiatum* depende de factores como su persistencia en el suelo y las condiciones de temperatura y humedad relativa (Verma *et al*., 2026). Por otro lado, la alta incidencia observada en *A. cupreata* (90.7%) y el nivel de daño homogéneo en planta (nivel 1 = 37%, de la escala patométrica DGSV-CNRF, 2017), hasta esos días, confirmó que la virulencia del patógeno aumentó gradualmente causando una infección sistémica progresiva durante la cual *F. oxysporum* se estableció y multiplicó al mismo ritmo en todas las plantas originando un detrioro constante, uniforme y predecible, que bien puede explicar la falta de significancia estadística entre los tratamientos probados y sus variables respuesta (Tabla 7): número de hojas, diámetro vertical y diámetro horizontal de la piña, número de raíces y longitud de raíz (López-Bautista *et al.*, 2019). Estos resultados reafirman consecuentemente que el efecto de los tratamientos biológicos con *T. longibrachiatum* y el químico con Sulfato de cobre pentahidratado, se comportaron estadísticamente igual en el manejo y control de la marchitez vascular en *A. cupreata*.

No obstante lo anterior, los enfrentamientos de explantes de raíz procedentes de las piñas de *A. cupreata*, germinados en cajas de Petri con medio PDA, se encontró el efecto antagonista de *T. longibrachiatum* sobre de las cepas FUSB y FUSC de *F. oxysporum*, que mostraron un porcentaje de inhibición de crecimiento radial (PICR) de 55.62% y 61.33 % respectivamente. No se realizaron análisis de fenoles, flavonoides, actividad POX ni PAL en hojas para evaluar la protección en la planta; no obstante que los resultados anteriores sugieren la posible existencia de una defensa inducida por *T. longibrachiatum* (Abdelrahman *et al*., 2016; González-Soto *et al*., 2017).

Las condiciones de temperatura media anual durante el experimento en invernadero (20.9 °C) fueron cercanas a la región del Balsas (19.1 °C) (Barrientos-Rivera *et al*., 2020; Gentry, 1982). Esto sugiere que en un futuro *A. cupreata* pueda adaptarse a valles altos como lo señalan Sáenz-Romero *et al*. (2012) debido a que el cambio climático en la región del Balsas, *A. cupreata* enfrenta problemas de sobrevivencia, por lo que sugieren su migración paulatina hacia mayores altitudes.

IX. CONCLUSIONES GENERALES

La marchitez vascular en *Agave* sp. es ocasionada por el complejo *Fusarium* (F. o.).

La aplicación de agentes biológicos como *Trichoderma* sp. y *Bacillus* sp., micorrizas, extractos vegetales y aceites esenciales, el ozono, las nanopartículas, ácido salicílico, agua ácida se reportan ser efectivos como estrategias alternativas para el control de la marchitez vascular en agave y otros cultivos.

La idenficación molecular de *T. longibrachiatum* se confirmó con el Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) y el GenBank, con un índice de identidad del 98.40 %.

Las pruebas de patogenicidad en hojas de *A. cupreata* confirmaron que la cepa FUSA de *Fusarum oxysporum* fue la más virulenta.

Las pruebas de antagonismo *in vitro* revelaron que el porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) de FUSA, FUSB y FUSC por *T. longibrachiatum* fue de 28.45%, 55.62% y 61.33% respectivamente, a las144 horas de incubación en PDA, 25 °C.

El efecto del control biológico *T. longibrachiatum vs. F. oxysporum* fue estadisticamente igual al efecto químico con Sulfato de cobre pentahidratado, para el control de la marchitez vascular en *A. cupreata,* bajo condiciones de invernadero.

Con base en los resultados obtenidos en esta investigación, se rechazó la hipótesis originalmente planteada sugiriendo el empleo de *T. longibrachiatum* como estrategia biorracional alternativa para el control ecológicamente sostenible de la marchitez vascular en *Agave cupreata*.

X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abdelrahman, M., Abdel-Motaal, F., El-Sayed, M., Jogaiah, S., Shigyo, M., Ito, Shin-ichi and Lam-Son, P. T. (2016). Dissection of *Trichoderma longibrachiatum*-induced defense in onion (*Allium* cepa L.) against *Fusarium oxysporum* f. sp. cepa by target metabolite profilinng. *Elsevier*, (1), 7-22. https://www.elsevier.com/open-access/userlicense/1.0/

Ahmad, B., Shireen, F., Bashir, S., Khan, I., and Azam, S. (2016). Green synthesis, characterization and biological evaluation of AgNPs using *Agave americana*, *Mentha spicata* and *Mangifera indica* aqueous leaves extract. The Institution of Engineering and Technology. *Nanobiotechnology*, 10(5), 281–287. https://doi.org/10.1049/iet-nbt.2015.0053

Álvarez-Carvajal, F., González-Soto, T., Armenta-Calderón, A. D., Méndez-Ibarra, R., Esquer-Miranda, E., Juarez, J. y Encinas-Basurto, D. (2020) Nanopartículas de plata recubiertas con quitosano contra la marchitez vascular causada por *Fusarium oxysporum* en plantúlas de tomate. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud*, (22)3, 73-80.

Álvarez-Ríos, G. D., Pacheco-Torres, F., Figueredo-Urbina, C. J. and Casas, A., 2020. Management, morphological and genetic diversity of domesticated agaves in Michoacan, Mexico. *Journal of Ethnobiology Ethnomedicine*, 16(3), 1-20. https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1911-4 [16.

Alvarez-Vera, M. S., Soto-Valenzuela, J. O., Quevedo-Vásquez, J. O. y Giler-Escandón, L. V. (2019). Obtención de consorcios microbianos benéficos y su incidencia en la población microbiana nativa de la rizósfera de plantas de fresa (*Fragaria* sp.) *Polo Del Conocmiento*, 4(11), 149–179. DOI:http://polodelconocimiento.com/ojs/index.php/es.Pol

Apodaca-Sánchez, M. A., Zavaleta-Mejía, E. Osada-Kawasoe, S. y García-Espinosa, R. (2001). Comparación de técnicas para evaluar *in vitro* la patogenicidad de *Fusaerium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* y efecto de la temperatura. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 19(2), 197-202. http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61219210

Arbeláez, T. G., (2000). Algunos aspectos de los hongos del género *Fusarium* y de la especie *Fusarium oxysporum*. Some aspects of *Fusarium* genus and the *Fusarium oxysporum* species. *Agronomía Colombiana*, 17, pp. 11-22. https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=CO20020021127

Ávila-Fernández, A., Galicia-Lagunas, N., Rodríguez-Alegría, M. E., Olvera, C. and López-Munguía, A. (2011). Production of functional oligosaccharides through limited acid hydrolysis of *Agave* fructans. *Food Chem*, (129), 380–386. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.04.088

Ávila–Miranda, M. E., López–Zazueta, J. G., Arias–Castro, C., Rodríguez–Mendiola, M. A., Guzmán–de Peña, D. A., Vera–Núñez, J. A. and Peña–Cabriales, J. J. (2010). Vascular wilt caused by *Fusarium oxysporum* in agave (*Agave tequilana* Weber var. azul). Association for Cactus Development. *Journal Professional* (12), 166–180. https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1911-4

Ayala-Armenta, Q. A., Cortez-Mondaca, E., Apodaca-Sánchez, M. A., Leal-León, V. M., Valenzuela-Escoboza, F. A. y Palacios-Mondaca, C. A. (2018). Efectividad de fungicidas convencionales y biorracioanales sobre *Sclerotinia sclerotiorum in vitro*. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, (11), 2149-2156. https://doi.org/10.29312/remexca.v0i11.784.

Ayala, S. J. L., Mur, R. R., Ferrer, G. C. A. y Castellanos, L. (2005). Programa Especial para la Seguridad Alimentaria y el Desarrollo Rural (PESA-FAO) en la República Bolivariana de Venezuela, 54-57. https://www.fao.org/americas/programas-y-proyectos/es/

Balanta, J. F., Ramírez, L. y Caicedo-Bejarano, L. D. (2013). Características fisicoquímicas y actividad antimicótica del extracto de tomillo sobre cepas *Fusarium oxysporum*. *Ingenian*, 7(17), 29-35.

Barraza-Morales, A., Sánchez-Teyer, F. L., Robert, M., Esqueda, M. y Gardea, A. (2006). Variabilidad genética en *Agave angustifolia* Haw. de la Sierra Sonorense, México, determinada con marcadores AFLP. Genetic variability in *Agave angustifolia* Haw. at the Sonoran Sierra, México, as determined by AFLP markers. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 29(1), 1–8.
DOI: https://doi.org/10.35196/rfm.2006.1.1

Barrientos-Rivera, G., Hernández-Castro, E., Sampedro-Rosas, M. L. y Segura-Pacheco, H. R. (2020). Conocimiento tradicional y academia: productores de maguey y mezcal de pequeña escala en las regiones Norte y Centro de Guerrero, México. *Sociedad y Ambiente*, 23, 1–28. https://doi.org/10.31840/sya.vi23.2173

Becerra, J., Bittner, M., Hernández, V., Brintrup, C., Becerra, J. y Silva, M. (2010). Actividad de aceites esenciales de canelo, queule, bailahuen y culén frente a hongos fitopatógenos. Bol. Latinoam. *Caribe Plant Med Aromat*, (9), 212-215.

Benítez, T., Rincón, A. M., Limón, M. C. and Codón, A. C. (2004). Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strain. *International Microbiology*, 7(4), 249-260. https://scielo.isciii.es/pdf/im/v7n4/Benitez.pdf

Bernal, A., Andreu, C., Moya, M., González, M. y Fernández, O. (2001). Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma* spp. frente a *Fusarium oxysporum* Schlecht f.sp. *cubense* (E. F. Smith) Sndy. and Hans. Universidad Central Marta Abreu, Villa Clara. *Serie Centro Agrícola*, 28(2), pp. 30-32. http://www.scielo.org.co/pdf/rfnam/v62n1/a01v62n1.pdf

Bertoncelli, D. J., Mazaro, S. M., Serrão, R. R. C. D., Locatelli, N., Lewandowski, A. and Wagner, J. A. (2016). Salicylic acid in the induction of resistance to beet seedling damping-off and antifungal activity against *Fusarium* sp., *in vitro*. Ácido salicílico na indução de resistência ao tombamento de plântulas de beterraba e atividade an tifúngica contra *Fusarium* sp., *in vitro*. *Semina: Ciências Agrárias*, 37(1), 67-75. https://www.redalyc.org/pdf/4457/445744667007.pdf

Beutelspacher, S. E., y Calderón, A. J. M. (2005). Diseño y construcción de un generador de ozono para aplicaciones de purificación de agua. CENIDET, Cuernavaca, México. 151p. https://nanopdf.com/download/diseo-y-construccion-de-un-generador-de-ozono-para_pdf

Bissett, J. (1984). A revision of the genus *Trichoderma*. I. Section *Longibrachiatum*. *Canadian Journal of Botany*, 62(5), 924–931. https://doi.org/10.1139/b84-130

Blaszczyk, L., Basinska-Barczak, A., Cwiek-Kupczynska, H., Gromadska, K., Popiel D., and Stepien, L. (2017). Suppressive effect of *Trichoderma* spp. on toxigenic *Fusarium* species. *Core*, 66(1), 86–100. https:doi.org/10.5604/17331331.1234997

Booth, C. (1971) The genus *Fusarium*. Commonwealth. *Mycological Institute Kew*, 32-35, 70-72.

Boutaj, H., Meddich, A., Roche, J., Mouzeyar, S., El Modafar, C. (2022). The effects of mycorrhizal fungi on vascular wilt diseases. *Crop Protection*, 155, 10-59. https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0261219422000345?via%3Dihub

Bragulat, M. R., Martínez, E, Castellá, G, and Cabañes, F. J. (2004). Selective efficacy of culture media recommended for isolation and enumeration of *Fusarium* spp. *J. Food Prot*, 67(1), 207-11. doi: 10.4315/0362-028x-67.1.207. PMID: 14717377.

Campbell, C. L. y Benson, D. M. (1994). Epidemiology and Management Root Diseases. North Carolina State University. Department of plant Pathology. 334 p.

Cao, X., Liang, J., Wu, Z., Zhang, M., Li, H., Liu, T., Yue, W., Wang, Y., Jiang, L., Wary, G., Zhao, P., Zhou, Y., Chen, X., Sui, J., Hou, D., Song, X., and Zhang, X. (2025). Biocontrol mechanisms of *Trichoderma longibrachiatum* SMF2 against Lanzhou Lily wilt disease caused by *Fusarium oxysporum* and *Fusarium solani*. *Horticulturae*, 11(6), 1–10.

Cardiet, G., Fuzeau, B., Barreau, C., y Fleurat-Les Sard, F. (2012). Contact and fumigant toxicity of some essential oil constituents against a grain insect pest *Sitophilus oryzae* and two fungi, *Aspergillus westerdijkiae* and *Fusarium graminearum*. *Journal of Pest Science*, 85(3), 351-358.

Cardona-Piedrahíta, L. F., y Castaño-Zapata, J. (2019). Comparación de métodos de inoculación de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder & Hansen, causante del marchitamiento vascular del tomate. Comparison of inoculation methods of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* Sacc. (Snyder & Hansen), the causal agent of the vascular wilt of tomato. Bogotá *Revista Académica Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 43(167), 1-7. https://doi.org/10.18257/raccefyn.854.

Cardoso, P. C. (2016). Nanopartículas de plata: obtención, utilización como antimicrobiano e impacto en el área de la salud. *Revista Hospital de Niños*, 58(260), 19-28. http://revistapediatria.com.ar/wp-content/uploads/2016/04/260-Nanoparti%CC%81culas-de-plata.pdf

Chandra, N. S., Wulff, E. G., Udayashankar, A. C., Nandini, B. P., Niranjana, S. R., Mortensen, C. N. and Prakash, H. S. (2011). Prospects of molecular markers in *Fusarium* species diversity. *Appl Microbiol Biotechnol*, 90, 1625–1639. https://doi.org/10.1007/s00253-011-3209-3

Chehri, K., Salleh, B. and Zakaria, L., (2014). Morphological and Phylogenetic Analysis of *Fusarium solani* Species Complex in Malaysia. *Microbial Ecology*, 69, 457-471. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2015.1088.6048-014-0494-2

Chuajedton, A., Uthaibutra, J., Whangchai, K. and Nuanaon, N. (2015). Ozone microbubbles disinfection technique to inactivate *Penicillium digitatum* in suspension. Acta Horticulturae Procedure IInd Southeast Asia Symposium on Quality Management in Postharvest Systems Eds.: Acedo, A.L. Jr. and Kanlayanarat, S. *Acta Horticulturae*, 1088, 355-358. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2015.1088.60

Colunga-GarcíaMarín, P., Zizumbo-Villarreal, D., y Martínez, J. (2007). Tradiciones en el aprovechamiento de los agaves mexicanos: una aportación a la protección legal y conservación de su diversidad biológica y cultural. *En Lo Ancestral Hay Futuro: Del Tequila, Mezcales y Otros Agaves*, 229-248.

Consejo Mexicano Regulador de la Calidad del Mezcal, A. C. (2024). Informe Estadístico.

Contreras-Arredondo, M.E., Hernández-Castillo, F. D., Sánchez-Arizpe, A., Gallegos-Morales, G. y Jasso De Rodríguez, D. (2011). Actividad Fungicida de Extractos de *Cowania plicata* D. Don. contra *Fusarium oxysporum* Schlechtend. Fr. y de *Pistacia lentiscus* L. contra Colletotrichum *coccodes* Wallr. Hunghes. *Revista Agraria Nueva Epoca* Año viii, 8(1), 6-13.

CRM Consejo Regulador del Mezcal. (2020). El mezcal, la cultura líquida de México. *Informe estadístico*, 26. https://www.ecorfan.org/bolivia/researchjournals/Desarrollo_Economico/vol6num18/Revista_de_Desarrollo_Econ%C3%B3mico_V6_N18_3.pdf

CRT Consejo Regulador del Tequila, (2020). Historia de la denominación de origen. CRT, 1-3. https://www.crt.org.mx/index.php/es/pages-3/otros-productos-vinculados-al-origen

CRT Consejo Regulador del Tequila, (2022). Mapas Históricos. CRT, 1-3. https://www.crt.org.mx/EstadisticasCRTweb/

Cruz-Ramírez, A. S., Martínez-Gutiérrez, G. A. y Escamirosa-Tinoco, C. (2023). Las fluctuaciones de precios del agave tequilero y mezcalero en México, para el periodo 1982-2019, Capítulo 9, 189-209. In: Rojas-Rojas, M. M., Valencia-Sandoval, K. and Ybarra-Moncada, M. C. (Coordinadoras). Plaza y Valdés Editores. México. Competitividad en las cadenas de valor agroalimentarias, 1. pdf

Da Silva, M. C., Harri Hinz, R., João Stadnik, M. Pereira, A., and Tcacenco, F. A. (2010). Ciência Rural. Ciência Rural. Diversidad e genética por marcadores moleculares em *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* no Estado de Santa Catarina.

Delgado-Ortiz, J. C., Ochoa-Fuentes, Y. M., Cerna-Chávez, E., Beltrán-Beache, M., Rodríguez-Guerra, R., Aguirre-Uribe, L. A. y Vázquez-Martínez, O., (2016). Patogenicidad de especies de *Fusarium* asociadas a la pudrición basal del ajo en el centro norte de México. *Fusarium* species

associated with basal rot of garlic in North Central Mexico and its pathogenicity. ELSEVIER. *Revista Argentina de Microbiología*, 48(3), 222-228. Doi: 10.1016/j.ram.2016.04.003

Dempsey, D. M. A. and Klessig, D. F. (2017). How does the multifaceted plant hormone salicylic acid combat disease in plants and are similar mechanisms utilized in humans? *Biomedical Center Biology*, 15(23), 1-11. Doi:10.1186/s12915-017-0364-8.

DGSV-CNRF Dirección General de Sanidad Vegetal-Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria. (2017). Marchitez del *Agave*, *Fusarium oxysporum*. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación-Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Alimenraria. Tecámac, México, 1-11. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/244026/Ficha_T_cnica_Fusarium_oxysporum_en_agave_Versi_n_FINAL.pdf

DOF Diario Oficial de la Federación. (2013). ACUERDO por el que se establece la campaña y las medidas ftosanitarias que deberán aplicarse para el control y en su caso erradicación del picudo del agave, así como disminuir el daño de las enfermedades asociadas a dicha plaga en la Zona Denominación de Origen Tequila. http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5284294&fecha=08/01/2013.

Druzhinina, I. S., Kopchinskiy, A. G., Komon, M., Bissett, J., Szakacs, G. and Kubicek, C. P. (2005) An oligonucleotide barcode for species indentification in *Trichoderma* and *Hypocrea*. *Fungal Genetics and Biology*, (42) 813-828. https://doi:10.1016/j.fgb.2005.06.007

Durán, N., Teixeira, M. F. S., De Conti, R., and Esposito, E. (2002). Ecological-Friendly Pigments From Fungi. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 42(1), 53–66. https://doi.org/10.1080/10408690290825457

Durrant, W. E. and Dong, X., (2004). Systemic acquired resistance. *Annual Review of Phytopathology*, 42, 185-209. https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.42040803.140421. +de+la+Tecnología.+INIFAP.+2+p.&btnG=

Erazo, C. L. F. (2012). Diseño y construcción de un ozonificador con capacidad de 300 m^3 para la purificación de ambientes. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias de la Ingeniería. UTE, 144 p. http://repositorio.ute.edu.ec/handle/123456789/19298

Flores, L. H. E., Ireta, M. J., and Ruiz, C. J. A. (2010). Tecnología para la prevención y/o control de la marchitez del Agave tequilero en Jalisco, Guadalajara (Prometeo Editores). Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias.

Flores, L. H. E., Chávez, D. A. A., Ruiz, C. J. A., Mora, O. C. y Rodríguez, M. V. M., (2016). Efecto del cambio climático sobre las zonas de riesgo por marchitez en el *Agave tequilana* Weber variedad Azul en Jalisco. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 13, 2497-2510. https://scholar.google.com.mx/scholar?hl=es&as_sdt=0%2C5&q=efecto+del+cambio+clim%C3%A0tico+sobre+las+zonas+de+riesgo+de+A.+tequilana+en+Jalisco&btnG=

Fravel, D, C. Olivain, C. and Alabouvette, C. (2003). Research review *Fusarium oxysporum* and its biocontrol. USDA *New Phytologist*, 157, 493–502. www.newphytologist.com

García, F. J. (2017). Análisis de la producción de maguey (*Agave* spp.) en México. In: XI Congreso de la Asociación Española de Economía Agraria. *Sistemas Alimentarios y Cambio Global desde el Mediterráneo*, 312-320. http://revistas.unam.mx/index.php/cns/article/viewFile/12113/11435.

García-Chamizo, J. M., Alcañiz-Lucas, S., Fernández-Pastor, F. J., Pérez-Maciá, J. J., Silveira-Madrid, D. and García-Pérez, M. (2020). Revisión de las aplicaciones del ozono y su generación para el uso en mascarillas contra patógenos. Versión Preliminar. Grupo Unidad Científica de Innovación Ars Innovatio, Universidad de Alicante, España, 1-14. http://hdl.handle.net/10045/104988.

García-Herrera, E. J., Méndez-Gallegos, S. J. and Talavera-Magaña, D. (2010). El género *Agave* spp. en México: Principales usos de importanacia socioeconómica y agroecológica. *Revista Chapingo Ciencias Forestales y del Ambiente*, 16(2), 239-246. http://www.geaac.org/images/stories/DM_GeneroAgaveSSP_130311.pdf

García-Mendoza, A. J., (2007). Los agaves de México. Jardín Botánico. Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México, 87, 14-23. http://revistas.unam.mx/index.php/cns/article/viewFile/12113/11435

García-Mendoza, A. J. (2018). México cuenta con 159 especies de agave; investigadores de la UNAM encontraron 4 nuevas. Universidad Nacional Autónoma de México, Boletín UNAM-DGCS-045, 1-3. https://www.dgcs.unam.mx/boletin/bdboletin/2018_045.html

Geiser, D. M., Al-Hatmi, A. M. S., Aoki,T… Zhang, X. (2021). Phylogenomic Analysis of a 55.1-kb 19-Gene Dataset Resolves a Monophyletic *Fusarium* that Includes the *Fusarium solani* Species Complex. *Home Phytopathology*®, 111(7), 1065-1079. https://doi.org/10.1094/PHYTO-08-20-0330-LE

Gentry, H. S. (1982). Agaves of Continental North America (The University of Arizona, Ed.). The University Arizona Press, 63-123.

Gliessman, S. 2013. Agroecología: plantando las raíces de la resistencia. *Agroecología*, 8, 19-26.

Gobierno Federal (2013), Diario Oficial de la Federación, 1-11. Enero, 8.

Goertz, A. Z., M. Sebastian, U., Spiteller, H. W., Steiner, C., Dehne, C., Waalwijk, I., de Vries, E. C., Oerke (2010). *Fusarium* species and mycotoxin profiles on commercial maize hybrids in Germany. *European Journal of Plant Pathology* 128 (1), 101-111. https://core.ac.uk/download/pdf/29238725.pdf

,

Gómez, J. R., Villarreal, B. T., Vázquez, L. A, Arteaga, G. R. I., y Osuna, G. J. A. (2017). Actividad

esporicida de la solución electrolizada con pH neutro en hongos de importancia postcosecha. Sporicidal activity of the electrolyzed solution with neutral pH in fungi of postharvest importance. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, Publicación Especial, 19, 3993-4007. https://doi.org/10.29312/remexca.v0i19.668.

Gómez-Ortiz, P., Sánchez-Arizpe, A., Virgen-Calleros, G., Carvajal-Cazola, C. R. and Padrón-Corral, E. (2011). Incidencia y severidad de la marchitez del *Agave tequilana* Weber Var. azul en la zona sur del Estado de Nayarit, México. *Revista Agraria Nueva Época*, 8(2), 21-25. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/244026/Ficha_T_cnica_Fusarium_oxysporum_en_agave_Versi_n_FINAL.pdf

González-Soto, T. E., Moreno-Ramírez, L., Troncoso-Rojas, R., González-Mendoza, D., Sánchez-Estrada, A., Grimaldo Juárez, O., Tzintzun-Camacho, O., y Ceceña-Durán, C. (2017). Inoculación de *Trichoderma longibrachiatum* en algodón transgénico: Cambios en compuestos fenólicos y enzimas de estrés oxidativo. *Idesia*, 35(1), 19–24. https:/doi: 10.4067/50718-34292017005000005

Groenewald, S., Van den Berg, N., Marasas, W. F. O. and Viljoen, A. (2006). Biological, physiological and pathogenic variation in a genetically homogeneus population of *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense. *Australian Plant, Springer*, 35, 401-409. https://doi.org/10.1071/AP06041

Guédez, C., Canizález, L., Castillo, C. y Olivar, R. (2012). Evaluación *in vitro* de aislamientos de *Trichoderma harzianum* para el control de *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* y *Fusarium oxysporum* en plantas de tomate. *Rev. Soc. Ven. Microbiol*., 32 (1), 44-49.

Guevera, I. y Rodríguez-Gálvez, E. (2006). Inductores químicos de resistencia en la supresión de la marchitez del algodonero causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* en sistema hidropónico. *Universalia*, 11(1), 6–12.

Harman, G. E., Howell, C. R., Viterbo, A., Chet, I. and Lorito, M. (2004). *Trichoderma* species – opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews, Microbiology*, (2), 43-56. Doi:10.1038/nrmicro797

Hashem, M., Moharam, A. M., Zaied, A. A., and Saleh, F. E. M. (2010). Efficacy of essential oils in the control of cumin root rot disease caused by *Fusarium* spp. *Crop protection*, 29(10), 1111-1117.

Henao-Henao, E. D., Hernández-Medina, C. A., Salazar-González, C., Velasco-Belalcazar, M. L., Gómez-López, E. D. (2018). Identificación molecular de aislamientos de *Fusarium* asociados a maracuyá en el Valle del Cauca, Colombia 1. *Agronomía Mesoamericana*, 29(1), Universidad de Costa Rica, Costa Rica Disponible en: https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=43754020005.Doi:https://doi.org/10.15517/ma.v29i1.27114

Hernández-Martínez, R., López-Benítez, A., Borrego-Escalante, F., Espinoza-Velázquez, J., Sánchez-Aspeytia, D., Maldonado-Mendoza, I. E. y López-Ochoa, L. A. (2014). Razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en predios tomateros en San Luis Potosí* Races of *Fusarium*

oxysporum f. sp. *lycopersici* in tomato farmlands in San Luis Potosí. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 5(7), 1169-1178.

Hernández-Melchor, D. J., Ferrera-Cerrato, R., and Alarcón, A. (2019). *Trichoderma*: Agricultural and biotechnological importance, and fermentation systems for producing biomass and enzymes of industrial interest. *Chilean Journal Agriculture Animal Science*, 35(1), 98–112. DOI: 10.4067/50719-38902019005000205

Horst, R. K., Nelson, P. E. (1997). Compendium of *Chrysanthemum* Diseases. APS Press, St. Paul, Minnesota, 6-9.

Horváth, E., Pál, M., Szalai, G., Páldi, E. and Janda, T., (2007). Exogenous 4-hydroxybenzoic acid and salicylic acid modulate the effect of short-term drought and freezing stress on wheat plants. Agricultural Research Institute of the Hungarian Academy of Sciences, H-2462 Martonvásár, POB 19, Hungary. *Biologia Plantarum*, 51, 480-87. https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s10535-007-0101-1.pdf

Hoyos-Carvajal, L., Orduz, S. and Bissett, J. (2009). Genetic and metabolic diversity of *Trichoderma* from Colombia and their potential as biocontrol agents against plant pathogenic fungi. *Fungal Diversity*, 46 (9), 165-186. https://doi.org/10.1016/j.fgb.2009.04.006

INEGI-CAJ, Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática-Consejo Agroalimentario de Jalisco. (2019). Conociendo la industria del tequila y el mezcal. Comunicado de prensa, 342 p. https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/boletines/2019/OtrTemEcon/industriatequila.pdf

Jambhulkar, P. P., Singh, B., Raja, M., Ismaiel, A., Lakshman, D. K., Tomar, M., and Sharma, P. (2024). Genetic diversity and antagonistic properties of *Trichoderma* strains from the crop rhizospheres in southern Rajasthan, India. *Scientific Reports*, 14(1), 8610. https://doi.org/10.1038/s41598-024-58302-5

Kareem, T. K, Ugoji, O. E., and Aboaba, O. O. (2016). Biocontrol of *Fusarium* wilt of cucumber with *Trichoderma longibrachiatum* NGJ167 (Rifai). *British Microbiology Research Journal*, 16(5), 1–11. https://doi.org/10.9734/BMRJ/2016/28208

Kebede, H., Liu, X., Jin, J. and Xing, F., (2020). Current status of major mycotoxins contamination in food and feed in Africa. *Food Control*. ELSEVIER, 110(10), 69-75 https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106975

Khan, M. I. R., Fatma, M., Per, T. S., Anjum, N. A. and Khan, N. A. (2015). Salicylic acid-induced abiotic stress tolerance and underlying mechanisms in plants. Frontier Plant Physiology. *Plant Science*, 30, 1-17. https://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/07388551.2014.923813?scroll=top&needAccess=truehttps://doi.org/10.3389/fpls.2015.00462.

Khosrow, C. Baharuddin, S. and Latiffah, Z. (2015). Microb Ecol. Morphological and Phylogenetic

Analysis of *Fusarium solani* Species Complex in Malaysia. *Fungal Microbiology*, 69, 457–471. DOI 10.1007/s00248-014-0494-2.

Kubicek, C. P., Steindorff, A. S., Chenthamara, K., Manganiello, G., Henrissat, B., Zhang, J., Cai, F., Kopchinsky, A. G. Kubicek, E. M., Kuo, A., Baroncelli, R., Sarroco, S., Ferreira Noronha, E., Vannacci, G., Shen, Q., Grigoriev, I. V. and Druzhinina, I. S. (2019). Evolution and comparative genomics of the most common *Trichoderma* species. BMC Genomics, 20(485), 1-24. https://doi.org/10.1186/s12864-019-5680-7

Kumar, V., Mathela, C.S., Tewari, A.K., Bisht, K.S. (2014). *In vitro* inhibition activity of essential oils from some *Lamiaceae* species against phytopathogenic fungi. *Pesticide biochemistry and physiology*, 114, 67-71.

Lecomte, H., Alabouvette, C., Edel-Hermann, V., Robert, F., Steinberg, C. (2016). Biological control of ornamental plant diseases caused by *Fusarium oxysporum*: A review. *Biological control*. 101, 17-30.

Logrieco, A. F., Mulè, G., Moretti, A. and Bottalico, A. (2002). Toxigenic *Fusarium* Species and Mycotoxins Associated with Maize Ear Rot in Europe. *European Journal of Plant Pathology*, 108, 597-609. https://link.springer.com/article/10.1023/A:1020679029993

López-Bautista, V., Mora-Aguilera, G., Gutiérrez-Espinosa, M. A., Mendoza-Ramos, C., Martínez-Bustamante, V. I., Coria-Contreras, J. J., Acevedo-Sánchez G., and Santana-Peñaloza, B. (2020). Morphological and molecular characterization of *Fusarium* spp. associated to the regional occurrence of wilt and dry bud rot in *Agave tequilana*. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 38 (1), 1-28. https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1911-4.

López-Nava, G., Martínez-Flores, J., Mayett-Moreno, Y. (2014). Cadena de suministro del mezcal de Zacatecas, situación actual y perspectivas de desarrollo. Contaduría y Administración, *Elsevier*, 59(2), 227-252. https://www.elsevier.es/es-revista-contaduria-administracion-87-sumario-vol-59-num-S0186104214X71019.

López-Valenzuela, B., Tzintzun-Camacho, O., Armenta-Bojórquez, A., Valenzuela-Escoboza, F., Lizárraga-Sánchez, G., Ruelas-Islas, J., and González-Mendoza, D. (2022). Microorganisms of genus *Trichoderma* as phytohormone promoters and pathogen suppressors. *Bioagro*, 34(2), 163-172. https://doi.org/10.51372/bioagro342.6

Lustre-Sánchez, H. (2022). Los superpoderes de las plantas: los metabolitos secundarios en su adaptación y defensa. *Revista Digital Universtaria*, UNAM, 23(2), 1-8. https//doi.org/10.22201/cuaieed.16076079e2022.23.2.10

Ma, L., J, Geiser, D.M., Proctor, R.H., Rooney, A.P., O'Donnell, K., Trail, F., Gardiner, M., Manners, J.M. and Kazan, K. (2013). *Fusarium Pathogenomics Annual Review of Microbiology*, 67, 367-399. https://doi.org/10.1146/annurev-micro-092412-155650.

.

Márquez-Fernández, O., Medel-Ortiz, R., Palestina, E. Naara, and Belingheri, M. Emilia. (2021). Identificación de dos cepas de *Fusarium* productoras de pigmentos aisladas de *Bemisia* sp.

(Hemíptera). *Scientia fungorum*, 50, 262. https://doi.org/10.33885/sf.2020.50.1262

Martínez-Fernández, E., Martínez-Jaimes, P., Guillén-Sánchez, D., Peña-Chora, G., Hernández-Hernández, V. M. (2015). Diversidad de *Fusarium* en las raíces de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) en el estado de Morelos, México. *Revista Mexicana de Micología*, 42, 33-43

Martínez-Palacios, A., Martínez-Castro, L. E., Nápoles-Alvarez, C. R., Sánchez-Vargas, N. M., Ambríz-Cervantes, L., Guillén-Rodríguez, S. y Lobit, P. (2019). Monocultivo y sistemas agresivos de manejo asociados a plagas y enfermedades en plantaciones de *Agave cupreata* en Michoacán. In: Agaves mezcaleros en Michoacán, 83-101. https://www.researchgate.net/publication/295573233_Aspectos_sobre_manejo_y_conservacion_de_Agaves_mezcaleros_en_Michoacan

Marury-López, I., Avilés-Baltazar, N. Y., Buchala, A. and Serrano, M. (2019). Intra and Extracellular Journey of the Phytohormone Salicylic Acid. *Frontier Plant Science*, 1-9 https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00423.

Matas-Baca, M. A., Flores-Córdova, M. A., Pérez-Álvarez, S., Rodríguez-Roque, M. J., Salas-Salazar, N. A., Soto-Caballero, M. C. and Sánchez-Chávez, E. (2023). *Trichoderma* fungi as an agricultural biological control in Mexico. *Revista Chapingo, Serie Horticultura*, 29(3), 79-114. https://doi.org./10.5154/r.rchsh.11.015

Medentsev, A. G. and Akimenko, V. K. (1998). Naphtho-quinone metabolites of the fungi. *Phytochemistry*, 47, 935–959.

Mendoza-Celino, S., Rodríguez-Trejo, D. A., Granados-Sánchez, D., Carrasco-Hernández V., Mohedano-Caballero, L. and Tchikoué, H. (2017). The interaction phenotype, seed size and temperature affect the germinative capacity of *Agave cupreata*. *Seed Science and Technology*, 46(3), 726–731. https://doi.org/10.15258/sst.2017.45.3.14

Mendoza-Ramos, C., Mora-Aguilera, G., Coria-Contreras, J. J., Santana-Peñaloza, B., Acevedo-Sánchez, G., Martínez-Bustamante, V., Gutiérrez-Espinosa, M.A. y Rubio-Cortés, R.. (2021). *Fusarium* spp. y estimación de carga de inóculo asociados a hijuelos de *Agave tequilana* en diferentes niveles de inductividad epidémica regional. *Revista Mexicana de Fitopatología* 39(1), 94-121. https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.2006-8.

Mesa V. A. M., Marín P., Ocampo O., Calle J., Monsalve Z. (2019). Fungicidas a partir de extractos vegetales: una alternativa en el manejo integrado de hongos fitopatógenos. *Revista de Investigaciones Agropecuarias* (45), 23-30.

Michel–Aceves, A. C., Otero-Sánchez, M. A., Solano-Pascacio, L. Y., Ariza-Flores, R., Barrios-Ayala, A. and Rebolledo-Martínez, A. (2009). Biocontrol *in vitro* con *Trichoderma* spp. de *Fusarium subglutinans* (Wollenweb. y Reinking) Nelson, Toussoun y Marasas y *F*. *oxysporum* Schlecht., Agentes Causales de la "Escoba de Bruja" del Mango (*Mangifera indica* L.). *Revista Mexicana de Fitopatología*, 27(1), 18–26.

Mokobi, F. 2020. *Fusarium* spp. En línea: https://microbenotes.com/fusarium-spp/ Fecha de consulta:

agosto de 2023.

Montes-Belmont, R. (2009). Diversidad de compuestos químicos producidos por las plantas contra hongos fitopatógenos. *Revista Mexicana de Micología*, 29, 73-82. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S018731802009000100010&script=sci_abstract&tlng=pt

Morais, M. dos S., Araújo, E., Araújo, A. C. de and Belem, L. de F. (2010). Eficiência dos extratos de alho e agave no controle de *Fusarium oxysporum* S. *Revista Brasileira de Agroecología*, 5(2), 89-98. http://www.aba-agroecologia.org.br/revistas/index.php/rbagroecologia/article/view/9580

Morales-Mendoza, A. G., Chacón, C., Navarrete-Mapen, R. Z. and Ruiz-Lau, N. (2025). Identication of *Fusarium oxysporum* strains isolated from "Siete Caldos" chili (*Capsicum frutescens* L.) and it pathogenicity in *Capcicum chinense* Jacq. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 28(2), 1-10. https://doi.org/10.56369/tsaes.6249

Myung-Ho, Kim, Jin-Woong, J. and Young-Je, Cho., (2004). Comparison of characteristics on electrolyzed water manufactured by various electrolytic factors. *Korean Journal Food Science Technology*, 36(3), 416-422. https://www.koreascience.or.kr/article/JAKO200404637341573.pdf

Naeini, A., Ziglari, T., Shokri, H. and Khosravi, A. R. (2010). Assessment of growth-inhibiting effect of some plant essential oils on different *Fusarium* isolates. *Journal de Mycologie Médicale*/*Jornal of Medical Mycology*, 20(3), 174-178.

Naivy Y., Nava-Cruz, M. A., Medina-Morales, J. L. Martinez, R., Rodriguez and Aguilar, C. N. (2015). *Agave* biotechnology: an overview, *Critical Reviews in Biotechnology*, 35(4), 546-559. DOI: 10.3109/07388551.2014.923813

,

Nguyen, D. T., Nguyen, C. H., Hoang, T. B. T. and Trinh X. H., (2019). First report of molecular characterisation of *Fusarium proliferatum* associated with root rot disease of Indian mulberry (*Morinda officinalis* How.) in Viet Nam. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 52, 1-2, 200-217. Doi:10.1080/03235408.2019.1603351

Novais da Silva, A., Brito de Azevedo, G., Gomes, R. S., Geraldo y Silva de Novaes Quelmo. (2014). Efecto de los productos químicos y de *Trichoderma* spp. en control del *Fusarium solani* de la fruta de pasión. *Interciencia*, 39(6)398-403. ISSN: 0378-1844. Disponible en: https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=33931213007

Nuño, C. S. (2005). Control químico como alternativa para el manejo de marchitez en Agave (*Fusarium* sp. y *Erwinia* sp.). Centro Universitario de Ciencias Biológicas. División de Ciencias Agronómicas. Coordinación de Posgrado. U. de G. 82 p. http://repositorio.cucba.udg.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/5402/Nuno_Cuevas_Sergio.pdf?sequence=1

O'Donnell, K, Sutton, D.A., Rinaldi, M. G. (2009). Novel multilocus sequence typing scheme reveals high genetic diversity of human pathogenic members of the *Fusarium incarnatum*, *F. equiseti* and *F. chlamydosporum* species complexes within the United States. *Journal Clinical Microbiollogy*, 47(12), 3851–3861. doi: 10.1128/JCM.01616-09

Ouiroqa-Rojas, L. F., Ruiz-Ouiñones, N., Muñoz-Motta, G. y Lozano-Tovar, M. D. (2012). Microorganismos rizosféricos, potenciales antagonistas de *Fusarium* sp. causante de la pudrición radicular de maracuyá (*Passiflora edulis* Sims). Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria

Page, M. J., McKenzie, J. E., Bossuyt, P. M., Boutron, I., Hoffmann T. C., Mulrow, C. D., Shamseer, L., Tetzlaff, J. M., Akl, E. A. Sue E. Brennan, S. E., Chou, R., Glanville, J., Grimshaw, J. M. Hro'bjartsson, A., Lalu, M. M., Li, T., Loder, E. W., Mayo-Wilson, E., McDonald, S., McGuinness, L. A., Stewart, L. A., Thomas, J., Tricco, A. C., Welch, V. A., Penny Whitingq, P. y Moher. D. (2020). Declaración PRISMA 2021: una guía actualizada para la publicación de revisiones sistemáticas. *Rev. Esp. Cardiol*., 74(9), 790–799.

Patiño, D. A, Plascencia, J., Das, S. H., S., Raymundo, T., Montiel, C., Valenczuela, R. and Figueroa, M. (2026). Sustainable biocontrol of *Agave* vascular wilt using and inactivated mycelial formulation from the mangrove endofyte *Talaromyces islandicus* M31. ACS *OMEGA*, 1-12. https://doi.org/10.1021/acsomega.6c01311

Pérez-Hernández, E., Chávez-Parga, M. C. y González-Hernández, J. C. (2016). Revisión del agave y el mezcal. *Revista Colombiana de Biotecnología*, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia, 18(1), 148-164. http://dx.doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v18n1.49552.

Ramírez, J. (1995). Los magueyes, plantas de infinitos usos. CONABIO. *Biodiversitas*, (3), 1-7. Ramirez-Ramirez, M. J., Mancilla-Margalli, N. A., Meza-Alvarez, L., Turincio-Tadeo, R., Guzmán de Ramos, Q. F. I, Bautista, H. A. y Sotelo, N. H. (2017). Relación de la temperatura y humedad relativa con el brote del hongo *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae*. Relationship between temperature and relative humidity with the outbreak of the fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. vanillae. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 8(3), 713-720. https://doi.org/10.29312/remexca.v8i3.44.

Rangel, S. G., Castro, M. E., Beltrán, P. E., Reyes, C. H. and García, P. E. (2010). El ácido salicílico y su participación en la resistencia a patógenos en plantas. *Biológicas*, 1(2), 90-95. https://www.exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/Elacidosalic%C3%ADlicoyresistenciaenplantas.pdf

Retana, K., Ramírez-Coché, J. A., Castro, O., Blanco-Meneses, M. (2018). Caracterización morfológica y molecular de *Fusarium oxysporum* F. sp. *Apii* asociado a la marchitez del apio en Costa Rica *Agronomía Costarricense*, 42(1), 115-126. DOI: https://doi.org/10.15517/rac.v42i1.32199

Revilla-Medina, R., Vuelta-Lorenzo, D. R., Guerrero-Barriel, D. (2020). Efecto *in vitro* de extractos vegetales y *Trichoderma harzianum* en el control de *Fusarium oxysporum* aislado de vivero de café (*Coffea arabica*), 1(2), 48-65.

Reyes-Zambrano, S. J., Lecona-Guzmán, C. A., Gutiérrez-Miceli, F. A., Ruiz-Valdiviezo, V. M. and Vargas-Díaz, A. A. (2021). Selection and analysis of polymorphisms in somaclonal variants of *Agave americana* resistant to *Fusarium oxysporum* via an ethyl methanesulphonate treatment. *Phyton-International Journal of Botany*, 90(6), 1727-1739. Doi:10.32604/phyton.2021.016171.

Riva, R. F. X. (2010). Análisis de la expresión del Gen PR-1 mediante la técnica de PCR en tiempo real (RT-PCK) en tomate (*Solanum lycopersicum*) infectado con *Phytophtora infestans*. Tesis Ingeniería en Biotecnología. Departamento de Ciencias de la Vida, URI: http://repositorio.espe.edu.ec/handle/21000/2640.

Rivas-San Vicente, M., and Plascencia, J. (2011). Salicylic acid beyond defense: its role in plant growth and development. *Journal of Experimental Botany*, 62, (10), 3321–3338 https://doi.org/10.1093/jxb/err031

Rodríguez-Alvarado, G., BetancourtResendes, I., Rodríguez-Fernández, R., Velázquez-Monreal, J. J., Fernández-Pavía, S. P. y Gómez-Dorantes, N. (2012). Caracterización de Grupos de Compatibilidad Vegetativa de *Fusarium mexicanum* Causante de la Malformación del Mango en Jalisco, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 30, 128-140.

Rodríguez, D., Hernández-Castillo, D., Angulo-Sánchez, J. L., Rodríguez-García, R., Villarreal-Quintanilla, J. A., Lira-Saldivar, R.H. (2007). Antifungal activity *in vitro* of *Flourensia* spp. extracts on *Alternaria* sp., *Rhizoctonia solani*, and *Fusarium oxysporum*. *Industrial Crops and Products*, 25(2), 111-116.

Rodríguez-Garay, B., Gutiérrez-Mora, M., Arrizon, J., Loera-Quezada, M. M., Flores-Berrios, E. P., Rincón-Enríquez, G., Quiñones-Aguilar, E. E. y Quiñones-Zapata, J. A., (2015). La materia prima: *Agave tequilana* Weber Var. Azul. In: Gschaedler-Mathis, A. C. Rodríguez-Garay, B., Prado-Ramírez, R. y Flores-Montaño, J.L. (Eds.). Ciencia y tecnología del tequila: avances y perspectivas. 2 ed. Guadalajara, Jalisco, México: Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, 17-53.

Rubio-Cortés, R. (2007). Del Cultivo de *Agave* sp. Categoría: 169-195 En Categoría: Rulfo-Vilchis O, Pérez-Domínguez, J. F, Del Real-Laborde, J. I., Byerly-Murphy, K. F. [eds.], y Conocimientos para la Producción de Producción de *Agave tequilana* Weber en la Zona de Denominación de Origen del Tequila. INIFAP (Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agricolas y Pecuarias), Jalisco, México.

Rubio-Ríos, J. R. (2018). Análisis espacio-temporal de la marchitez del agave tequilero en Jalisco. Tesis de Maestría. Postgrado de Fitosanidad. Colegio de Postgraduados, 33-34. http://colposdigital.colpos.mx8080/jspui/handle/10521/30R.

Rubio-Tinajero, S., Osorio-Hernández, E., Estrada-Drouaillet, B., Silva-Espinosa, J. H. T., Rodríguez-Mejía, M. D. L. and Nava-Juárez, R. A. (2021). *In vitro* antagonist biocontrol of *Fusarium oxysporum* and *Dickeya chrysanthemi*. *Mexican Journal of Phytopathology*, 39(3), 515-528. doi: https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2104-1

Rudy, N., Hugh, S., Almanza, J. C, y Loza-Murguia, M. (2011). Evaluación de la capacidad biocontroladora de cepas nativas de *Trichoderma* spp. sobre *Rhizoctonia* sp. y *Fusarium* sp. en café (*Coffea arabica*) en condiciones experimentales. *Journal of the Selva Andina Research Society*, 2 (1), 43-52. http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=361333623006

Ruiz-Mondragón, K. Y. (2025). El legado de los agaves: historia, usos y genómica de los magueyes. *Oikos, Ecología*, UNAM. 312 p.

Sáenz-Romero, C., Martínez-Palacios, A., Gómez-Sierra, J. M., Pérez-Nasser, N., y Sánchez-Vargas, N. M. (2012). Estimación de la disociación de *Agave cupreata* a su hábitat idóneo debido al cambio climático. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y Del Ambiente*, 18(3), 291–301. https://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2011.11.078

SAGARPA, Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural y Pesca. (2017). Planeación Agrícola Nacional. 2017-2030. Agave Tequilero y Mezcalero Mexicano, 115 p. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/257066/PotencialAgave_Tequilero_y_Mezcalero.pdf

Samson, R. A, Hoekstra, E. S., Frisvad, J. C. and Filtenborg, O. (1995). Introduction to Foodborne Fungi, fourth edition, CBS, Baarn, Netherlands, 85-119.

Samuels, G. J., Ismaiel, A., Mulaw, T. B., Szakacs, G., Druzhinina, I. S., Kubicek, C. P., and Jaklitsch, W. M. (2012). The *Longibrachiatum* Clade of *Trichoderma*: a revision with new species. *Fungal Diversity*, 55(1), 77–108. https://doi.org/10.1007/s13225-012-0152-2

Sánchez-García, B. M., Espinosa-Huerta, E., Villordo-Pineda, E., Rodríguez-Guerra, R. y Mora-Aviléz, M. A. (2017). Identificación molecular y evaluación antagónica *in vitro* de cepas nativas de *Trichoderma* spp. sobre hongos fitopatógenos de raíz en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. Montcalm. *Agrociencia*, 51(1), 63-79. www.scielo.org.mx/pdf/agro/v51n1/1405-3195-agro-51-01-00063-en.pdf

Sánchez-Miranda, M. D., Moreno, M. L. F. and Páramo, A. L. A. (2021). Identificación morfológica y molecular de especies autóctonas *Trichoderma* spp., aisladas de suelos de importancia agrícola. *El Higo, Revista de Ciencia y Tecnología*, 11(1), 1-13. https://doi.org./10.5377/elhigo.v11i1.11715

Sarro-Baro, A., Lara, J. M. y Castillo, C. (2011). Evaluación *in vitro* de la capacidad antagonista de *Trichoderma lignorum* FEEPTL0601 frente a *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Phytohemeroteca*, 225, 47-50.

Serrano-Coll, H. A, y Cardona-Castro, N. (2015). Micotoxicosis y micotoxinas: generalidades y aspectos básicos. *CES Medicina*, 29(1), 143-151. http://www.scielo.org.co/pdf/cesm/v29n1/v29n1a12.pdf

Sharma, I. P., and Sharma, A. K. (2020). *Trichoderma-Fusarium* interactions: a biocontrol strategy to manage wilt. *Biological Science*, 167-185. https://doi.org/10.1017/978-981-15-3321_19

SIAgro, Sistema de Información sobre Agrobiodiversidad (2019). Reunimos y generamos datos abiertos relacionados con la agrobiodiversidad en México para que puedan ser utilizados por distintos públicos interesados. https://siagro.conabio.gob.mx/

SIAP, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (2022). Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. Servicio de Información Agropecuaria y Pesquera. https://nube.siap.gob.mx/cierreagrícola/

Sierra-Moya, J. A., Espinoza, C., Guzmán-López, O., Trigos, Á., and Salinas Castro, A. (2022). Characterization of *Fusarium* species that affect the asparagus crops cultivation in Veracruz, Mexico. *Scientia Agropecuaria*, 13(4), 343–349. https://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2022.031

Sifontes, A. B., Melo, L., Maza, C., Mendes, J. J., Mediavilla, M., Brito, J. L., Zoltan, T. y Albornoz, A. (2010). Preparación de nanopartículas de plata en ausencia de polímeros estabilizantes. Preparation of silver nanoparticles in the absence of polymer stabilizers. *Química Nova*, 33 (6), 1-11. https://doi.org/10.1590/S0100-40422010000600009.

Silva, C. M., Hinz, R. H., Stadnik, M. J., Pereira, A., Adami-Tcacenco, F. (2010). Diversidad genética por marcadores moleculares en *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. *Ciencia Rural*, 40, (12), 2480-2485.

Summerell, B. A., Salleh, B. and Leslie, J. F. (2003). An utilitarian approach to *Fusarium* identification. Plant Disease. *The American Phytopathological Society*, 87(2), 117-128. https://doi.org/10.1094/PDIS.2003.87.2.117.

Tamaki, M., Kobayashi, F., Ikeura, H. and Sato, M., (2018). Disinfection by ozone microbubbles can cause morphological change of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* spores. *Plant Pathology Journal*, 34(4), 335-340. doi: 10.5423/PPJ.NT.11.2017.0234.

Tapia, C. y Amaro, J. 2014. Retrato microbiológico. *Revista Chilena de Infectología*, 31(1), p. 1. http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182014000100012.

Tlapal-Bolaños, B., González-Hernández, H., Zavaleta-Mejía, E., Sánchez-García, P., Mora-Aguilera, G., Nava-Díaz, C., Del Real-Laborde, J. I., and Rubio-Cortes, R. (2014). Colonización de *Trichoderma* y *Bacillus* en plántulas de *Agave tequilana* Weber, var. Azul y el efecto sobre la fisiología de la planta y densidad de *Fusarium*. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 32(1).

Trinidad-Cruz, J. R., Quiñones-Aguilar, E. E., Rincón-Enríquez, G., López-Pérez, L. and Hernández-Cuevas, L. V. (2017). Mycorrhization of *Agave cupreata*: Biocontrol of *Fusarium oxysporum* and plant growth promotion. Micorrización de *Agave cupreata*: Biocontrol de *Fusarium oxysporum* y promoción del crecimiento vegetal. *Revista Mexicana de Fitopatología, Mexican Journal of Phytopathology*, 35, 151-169. https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1607-5

Vásquez-Covarrubias, D. A., Montes-Belmont, R., Jiménez-Pérez, A. y Flores-Moctezuma, H. E. (2013). Aceites esenciales y extractos acuosos para el manejo *in vitro* de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* y *F. solani*. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 31(2), 170-179.

Vega-Ramos, K. L., Uvalle-Bueno, J. X., and Gómez-Leyva, J. F. (2013). Molecular variability among isolates of *Fusarium oxysporum* associated with root rot disease of *Agave tequilana*. *Biochemical Genetics*, 51(34), 243–255. https://doi.org/10.1007/s10528-012-9559-4

Velásquez-Valle, R., and Reveles–Torres, L. R. (2017). Necrosis foliar; nuevo síntoma asociado a la pudrición de la raíz de chile (*Capsicum annuum*) en Durango y Zacatecas, México. *Scientia Fungorum* , 46, 47–53. DOI: 10.33885/sf.2017.46.1176

Velluti, A., Marın, S., Gonzalez, P., Ramos, A. J. and Sanchis, V. (2004). Initial screening for inhibitory activity of essential oils on growth of *Fusarium verticillioides*, *F. proliferatum* and *F. graminearum* on maize-based agar media. *Food microbiology*, 21(6), 649-656.

Verma, P., Kaur, J. Arova, M. S., Dogar, M. M. and Purohit, S. (2026). Modeling the impact of direct air capture on forest biomass and production dynamics. *Earth systems and environment*, 10, 407-427 doi: 10.1007/s41748-025-00599-x

Vicente, I., Baroncelli, R., Hermosa, R., Monte, E., Vannacci, G., and Sarrocco, S. (2022). Role and genetic basis of specialised secondary metabolites in *Trichoderma* ecophysiology. *Fungal Biology Reviews*, 39, 83–99. https://doi.org/10.1016/j.fbr.2021.12.004

Villa-Martínez, A., Pérez-Leal, R., Morales-Morales, H. A., Basurto-Sotelo, M., Sotelo-Parra, J. M., Martínez-Escudero, E., 2015. Situación actual en el control de *Fusarium* spp. y evaluación de la actividad antifúngica de extractos vegetales. *Acta Agronómica*, 64(2), 194-205. Universidad Nacional de Colombia. https://doi.org/10.15446/acag.v64n2.43358.

Vlot, A. C., Dempsey, D. M. A. and Klessig, D. F. (2009). Salicylic acid, a multifaceted hormone to combat disease. *Annual Review of Phytopathology A7*, pp. 177-206. https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.050908.135202.

Wagacha, J. M. and Muthomi, J. W. (2007). *Fusarium culmorum*: Infection process, mechanisms of mycotoxin production and their role in pathogenesis in wheat. *Crop Protection, Elsevier*, 26(7), 877-885. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2006.09.003

Ward, E. and Adams, M. J. (1998). Analysis of ribosomal DNA sequence of Polymixa species and related fungi and the development of genus-and species-specific PCR primers. *Mycological Research*, 102(8), 965-974. doi: 10.1017/S0953756298006179

White, T. J., Bruns, T., Lee, S., and Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: PCR protocol: A Guide to method and applications. Academic Press, 315-322. DOI: 10.1016/13978-0-12-372180-8.50042-1

Worasatit, N., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E. L., and Rowland, C. (1994). Variation in pyrone production, lytic enzymes and control of *Rhizoctonia* root rot of wheat among single-spore isolates of *Trichoderma koningii*. *Mycological Research*, 98(12), 1357–1363. https://doi.org/10.1016/S0953-7562(09)81063-0

Wulff, E. G., Sørensen, J. S., Lübeck, M., Nielsen, K. F., Thrane, U., Torp, J. (2010). *Fusarium* spp. associated with rice Bakanae: ecology, genetic diversity, pathogenicity and toxigenicity. *Environ Microbiol*, 12, 649–657. https://enviromicro-journals.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1462-2920.2009.02105.x

Yahuza, I. (2011). Review of some methods of calculating intercrop efficiencies with particular reference to the estimates of intercrop benefits in wheat/faba bean system. *Inter. J. Bios*. 5(1), 18-30.

Yamaki, Y. and Schörner, A., 1995. A field trial for estimating possibility of controlling powdery mildew of Cucumber by function water. University Orchard, Faculty of Agriculture, University of Tokyo. In: Function Water Symposium Held in Kyoto in 1995. *Vision for the future of acid and alkaline electrolytic water* DRAFT, 1-20. https://ci.nii.ac.jp/naid/10016874805/

Yuan, S., Lin, H. H. (2008). Minireview: Role of Salicylic Acid in Plant Abiotic Stress. *From the journal Zeitschrift für Naturforschung C*. 63c, 313-320. https://doi.org/10.1515/znc-2008-5-601.

Zeilinger, S., Gruber, S., Bansal, R. and Mukherjee, P. K. (2016). Secondary metabolism in *Trichoderma*–Chemistry meets genomics. *Fungal Biology Reviews*, 30(2), 74–90. https://doi.org/10.1016/j.fbr.2016.05.001

Zhao, T., Gao, F., Zhou, L., Song, T. (2013). Essential Oil from Inula britannica Extraction with SF-CO2 and Its Antifungal Activity. *Journal of Integrative Agriculture*, 12(10), 1791-1798.

Zhu, R., Li, Y., Viñas, M., Kong, Q., Xu, M., Zhang, X., Song, X., He, K. and Guo, Z. (2026). Inhibitory effect of *Trichoderma longibrachiatum* on growth of *Fusarium* species and accumulation of fumonisins. *Journal of Fungi*, 12(1), 49. https://doi.org/10.3390/jof12010049