



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

COMPLEJO REGIONAL MIXTECA

IZÚCAR DE MATAMOROS

Licenciatura en Biotecnología

**“Hongos entomopatógenos como antagonistas contra posibles
fitopatógenos aislados del rosal”**

Tesis para obtener el título de

LICENCIADA EN BIOTECNOLOGÍA

Presenta:

Guadalupe Lucero Sánchez Romero

Director de tesis:

Dr. Miguel Ángel Aco Tlachi

Junio 2025



Cificio No. CRM/914/2025

Asunto: Autorización para impresión de tesis

C. SANCHEZ ROMERO GUADALUPE LUCERO
Matrícula 201666347
Estudiante del Complejo Regional Mixteca
de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
Presente

Por medio de la presente, me permito autorizar la impresión de la tesis titulada "**Hongos entomopatógenos como antagonistas contra posibles fitopatógenos aislados del rosal**", como parte del proceso de titulación del programa de Licenciatura en Biotecnología.

La tesis fue revisada y aprobada sin observaciones por la comisión revisora asignada, por lo que se encuentra en condiciones de ser impresa.

Sin otro particular, le envío un cordial saludo.

ATENTAMENTE

"Pensar bien, para vivir mejor"

H. Ciudad de Atlixco, Puebla a 11 de diciembre de 2025.

Mtra. Sara Cecilia Vega Cervantes
Directora Complejo Regional Mixteca

C.c.p. Archivo

C.c.p. Dr. Miguel Ángel Aco Tachi.- Director de tesis.

SCVC/MOR



Agradecimientos

- Agradezco profundamente a mi mamá, a mi papá, y a mis hermanos, cuyo amor y apoyo han sido una guía constante en mi vida. Aunque mi papá ya no está físicamente conmigo, su recuerdo y enseñanzas siguen acompañándome y dándome fuerza para seguir adelante.
- Expreso mi sincero agradecimiento a mi director de tesis, el Dr. Miguel Ángel Aco Tlachi, por su guía experta, su disposición constante y su valiosa orientación durante la elaboración de este trabajo.
- Agradezco al Dr. José Roberto Zúñiga Silva por compartir generosamente su conocimiento y experiencia, fundamentales para el desarrollo de esta investigación.
- Agradezco al Complejo Regional Mixteca Izúcar de Matamoros por contribuir a mi formación académica y por ser parte importante de mi crecimiento intelectual y profesional.
- Gracias a mis amigos por sus comentarios, sugerencias y por el apoyo que brindaron a lo largo de este proyecto.

Índice

1. Introducción	1
2. Justificación	4
3. Objetivos	5
3.1 Objetivo principal	5
3.2 Objetivos particulares	5
4. Hipótesis	6
5. Antecedentes	7
5.1 Rosal	7
5.2 Hongos endófitos	9
5.3 Hongos entomopatógenos	10
5.4 <i>Trichoderma</i>	10
5.5 <i>Aspergillus japonicus</i>	12
5.6 <i>Beauveria bassiana</i>	12
5.7 <i>Metarhizium anisopliae</i>	13
5.8 <i>Penicillium dipodomycicola</i>	14
5.9 <i>Aspergillus niger</i>	14
5.10 Hongos fitopatógenos	15
5.11 Confrontación	15
5.12 Categorización de los hongos	17
6. Metodología	18
6.1 Obtención del material vegetal	19
6.2 Aislamiento de hongos del rosal	19

6.3 Microcultivos	20
6.4 Confrontación con <i>Trichoderma ssp</i>	22
6.5 Confrontación con antagonistas seleccionados	22
6.6 Mediciones	24
6.7 Análisis estadístico	24
7. Resultados	25
7.1 Aislamiento	26
7.2 Microcultivos	30
7.3 Confrontación con <i>Trichoderma spp</i>	31
7.4 Confrontación con los antagonistas seleccionados	33
8. Discusión de resultados	57
8.1 Aislamiento	57
8.2 Microcultivos	57
8.3 Confrontación con <i>Trichoderma spp</i>	58
8.4 Confrontación con los demás antagonistas	58
8.5 Aislado HIII	59
9. Conclusiones y perspectivas	60
10. Bibliografía	62

Índice de figuras

Figura 1. Planta de rosal con flores rojas	6
Figura 2. <i>Trichoderma spp</i>	10
Figura 3. Ejemplo que muestra la técnica de confrontación utilizada	15
Figura 4. Diagrama que describe el proceso de trabajo	17
Figura 5. Representación de la técnica para hacer los micro cultivos	20
Figura 6. Hongos antagonistas utilizados para las confrontaciones	22
Figura 7. Planta de rosal afectada por patógenos	24
Figura 8. Cajas Petri de medio PDA con partes de rosal infectado, en estas cinco placas se ve el crecimiento de hongos fitopatógenos	25
Figura 9. Hongos fitopatógenos aislados del rosal con diferentes características	26
Figura 10. Placas de confrontación invadidas por <i>Trichoderma spp</i> , crecimiento después de 24 horas, se cubrió completamente la caja Petri.....	30
Figura 11. Placas Petri con las confrontaciones, de hongos antagonistas vs. Hongos fitopatógenos	31

Índice de tablas

Tabla 1. Sitio de aislamiento y descripción de los aislados	27
Tabla 2. Resumen de los resultados obtenidos de los diferentes aislados contra los antagonistas	32
Tabla 3. Capacidad antagónica de hongos entomopatógenos frente a posibles fitopatógenos aislados de rosa a las 72 horas de incubación	34
Tabla 4. Evaluación del grado de antagonismo de hongos entomopatógenos contra fitopatógenos aislados de Rosa spp. a las 72 horas de incubación	35
Tabla 5. "Evaluación de la capacidad de resistencia de un fitopatógeno al antagonismo ejercido por un hongo entomopatógeno"	36
Tabla 6. Determinación del grado de resistencia de fitopatógeno al antagonismo ejercido por un hongo entomopatógeno	37

Resumen

Los hongos entomopatógenos han adquirido un papel destacado en los últimos años como agentes de control biológico, debido a su eficacia como plaguicidas naturales frente a insectos que afectan cultivos de importancia agrícola y económica. Además de su acción insecticida, algunas especies presentan actividad antagónica contra hongos fitopatógenos, lo que amplía su potencial dentro de las estrategias de protección vegetal.¹

El presente estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto antagónico de diversos hongos entomopatógenos sobre hongos fitopatógenos aislados de un rosal (*Rosa* sp.) que mostraba síntomas visibles de infección microbiana.²

Se llevaron a cabo ensayos de confrontación dual en cajas Petri entre los entomopatógenos *Trichoderma* spp., *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus japonicus* y *Penicillium dipodomycola*, frente a ocho aislados fúngicos obtenidos del rosal afectado. Las confrontaciones se realizaron en medio PDA, evaluando 42 combinaciones en total, y se midió el crecimiento radial de las colonias cada 24 horas para determinar el grado de inhibición ejercido sobre los fitopatógenos.³

Los resultados mostraron que *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* presentaron el mayor efecto antagónico sobre los aislados fúngicos del rosal, evidenciando una inhibición micelial significativamente superior en comparación con las demás especies evaluadas. Estos hallazgos sugieren que *M. anisopliae* y *B. bassiana* poseen un potencial promisorio como agentes de biocontrol, con posible aplicación como fungicidas biológicos en el manejo sanitario del rosal.⁴

(1) Introducción breve, (2) Objetivo, (3) Métodos clave, (4) Resultados principales y conclusión.

1. Introducción

A lo largo del tiempo, se han desarrollado diversas estrategias para controlar las plagas que afectan los cultivos agrícolas, especialmente aquellos de alto valor económico y alimenticio, con el propósito de prevenir pérdidas en la producción. En las etapas iniciales, los métodos culturales constituyeron la principal herramienta de manejo, orientados a la protección de los cultivos mediante prácticas como la eliminación manual de malezas o la instalación de trampas que impidieran la aproximación de insectos y otros organismos perjudiciales (Saburo Shimada, Vinícius Simon, & do Socorro Cunha, 2021). Posteriormente, se introdujeron los métodos químicos, los cuales permitieron una acción más rápida y efectiva contra las plagas; sin embargo, su uso prolongado resultó en costos elevados, efectos tóxicos sobre el suelo y alteraciones en los ecosistemas agrícolas.

Los hongos entomopatógenos han emergido como una alternativa biotecnológica sostenible frente al uso intensivo de pesticidas sintéticos. Estos microorganismos poseen la capacidad de infectar y controlar poblaciones de insectos plaga mediante mecanismos naturales, sin generar residuos tóxicos ni afectar organismos benéficos (Vivekanandhan, Alford, & Krutmuang, 2024). Su aplicación en programas de manejo integrado de plagas (MIP) contribuye a la reducción del impacto ambiental, la restauración de la microbiota del suelo y la preservación de la biodiversidad agrícola, posicionándolos como agentes clave en la agricultura sustentable y ecológicamente responsable (Bernaola & R. Holt, 2021).

Las enfermedades causadas por microorganismos (hongos, bacterias, virus, viroides y micoplasmas), así como nematodos o malezas, ocasionan importantes daños en los cultivos, los cuales pueden acortar la vida útil de las plantas (Bruggen & Finckh, 2016). Estas enfermedades pueden causar graves epidemias en algunos cultivos, llegando a ocasionar hambrunas y consiguiente emigración de la población humana en ciertas zonas, como ocurrió en 1845-1849 con el mildiu o tizón de la patata en Irlanda (López & Melero, 2020).

Los problemas fitopatológicos se pueden presentar en hojas, raíces, tallos, etc. y se detectan cuando las plantas crecen de modo anormal, se secan o se mueren, disminución de la cosecha, alteraciones en el crecimiento, decoloraciones, sobrepigmentaciones, manchas, rayados, pudriciones, marchitamientos, etc (Cuervo, Espadas, & Zita, SF).

Algunas enfermedades pueden ser reconocidas a simple vista, basándose en la experiencia y en las particularidades de los patógenos que los hacen inconfundibles, pero algunas otras se pueden confundir, lo que complica el diagnóstico, teniendo que realizar las siguientes actividades: colecta, aislamiento, identificación del patógeno, inoculación, reaislamiento y reidentificación del agente patógeno. (Cuervo, Espadas, & Zita, SF)

Se han encontrado varias plagas que dañan los cultivos del rosál, entre ellos los hongos fitopatógenos, lo que se busca en este trabajo es poder identificar algunos de estos hongos y la manera podemos combatirlos (Jiménez, y otros, 2017).

Los hongos fitopatógenos son causantes de muchas enfermedades en los cultivos, provocando pérdidas de cultivo a los productores, lo que hace enfocarnos en métodos para combatir estas plagas. Existen ya técnicas que utilizan hongos antagonistas, estos hongos compiten con los patógenos por nutrientes y los parasitan, eliminándolos. Esta técnica es muy

importante para contrarrestar a los hongos patógenos, ya que es una técnica que no produce daño al suelo (Sánchez-Fernández, y otros, 2013).

El rosal se ha vuelto de alto valor económico ya que es una planta que produce una flor muy llamativa y se ha vuelto de las preferidas en el espacio ornamental, es de las más encontradas en jardines. Además, ya se han innovado alimentos con los pétalos, siendo usados en postres y guisados.

El cultivo del rosal es importante por la demanda creciente para exportación. Impulsando a los productores a incrementar la producción y la calidad, para cubrir las exigencias del mercado internacional. Entre los problemas principales que afectan los estándares de exportación en México están las enfermedades causadas por microorganismos (Dominguez, García, Mora, Salgado, & Gonzalez, 2016).

En este trabajo se utilizaron hongos entomopatógenos para analizar si alguno de ellos podía eliminar a los hongos aislados del rosal. Con técnicas de confrontaciones sabremos que hongo antagonista podrá combatir a los aislados.

2. Justificación

A lo largo del tiempo se han desarrollado diversas estrategias y técnicas para combatir las plagas que afectan a los cultivos, entre ellas prácticas culturales, biológicas, químicas y genéticas. Estas prácticas han demostrado ser efectivas para minimizar los daños en los cultivos y evitar pérdidas económicas significativas.

En este contexto, el presente trabajo busca aportar conocimiento sobre el control de hongos fitopatógenos del rosál mediante el uso de hongos entomopatógenos, evaluando su potencial como alternativa dentro del control biológico. Entre estos organismos, *Trichoderma spp.* destaca por su relevancia en estudios de antagonismo contra diversos patógenos en cultivos.

En esta investigación se empleará *Trichoderma spp.* para confrontarlo con los hongos fitopatógenos aislados del rosál enfermo, con la expectativa de que muestre capacidad de parasitismo e inhibición.

Si bien los hongos entomopatógenos se han utilizado tradicionalmente para el control de plagas de insectos, este trabajo plantea analizar su posible eficacia contra los hongos aislados del rosál. De esta manera, se pretende ampliar su potencial de uso, no solo como agentes para el manejo de insectos, sino también como posibles herramientas en el control de hongos fitopatógenos.

3. Objetivos

3.1 Objetivo principal

Evaluar el efecto antagónico de diversos hongos entomopatógenos frente a hongos fitopatógenos aislados de un rosal con síntomas de infección.

3.2 Objetivos particulares

- Aislar e identificar los hongos presentes en el rosal que muestren signos de daño asociado a crecimiento microbiano.
- Evaluar el antagonismo de distintos hongos entomopatógenos contra los posibles fitopatógenos aislados del rosal.
- Comparar el grado de inhibición del crecimiento micelial ejercido por cada hongo entomopatógeno para identificar cuáles presentan mayor potencial como agentes de biocontrol contra los hongos fitopatógenos del rosal.

4. Hipótesis

Los hongos entomopatógenos poseen la capacidad de inhibir el crecimiento de los posibles hongos fitopatógenos aislados del rosal, actuando como agentes antagónicos efectivos en condiciones de confrontación in vitro.

Hipótesis nula (H_0)

Los hongos entomopatógenos no inhiben el crecimiento de los hongos fitopatógenos aislados del rosal; no existe diferencia significativa entre los tratamientos con entomopatógenos y los controles.

Hipótesis alternativa (H_1)

Al menos uno de los hongos entomopatógenos inhibe significativamente el crecimiento de los hongos fitopatógenos aislados del rosal en condiciones de confrontación in vitro.

5. Antecedentes

5.1 Rosal

5.1.1 Taxonomía

El género *Rosa* pertenece a la familia *Rosaceae* y está estrechamente relacionado con la manzana, la pera, el membrillo, la ciruela, la cereza, las moras y las fresas. La clasificación actual está basada en el sistema de Rehder (1940), en la cual hay cuatro subgéneros: *Hesperhodos*, *Hulthemia*, *Platyrhodon* y *Rosa* (*Eurosa*) (Arzate, 2014).

5.1.2 Descripción botánica

El rosal es una planta arbustiva, de porte abierto, con ramas leñosas y normalmente espinosas. Las hojas son pinnadas, con estípulas, caducas, compuestas de cinco folíolos, ovaladas y con las nervaduras del envés sobresalientes. Sus flores suelen ser grandes y vistosas, comúnmente solitarias o agrupadas en inflorescencias terminales. Tienen un receptáculo carnoso en forma cónica hueca que rodea muchos carpelos monospermos situados en su pared interna, (Figura 1) (Arzate, 2014).



Figura 1. Planta de rosal con flores rojas.

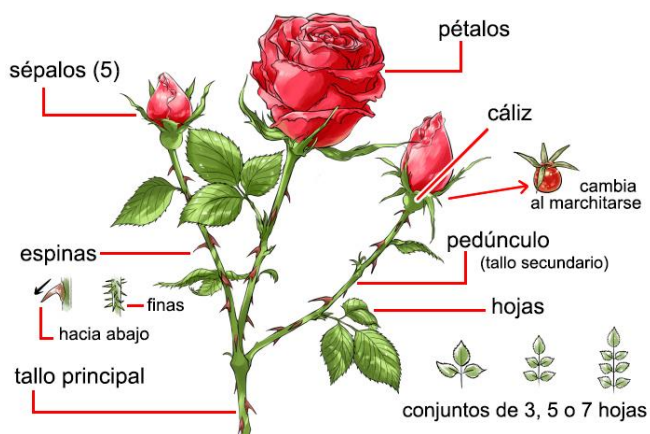


Figura 2. Esquema de las partes de una rosa típica

5.1.3 Distribución

El género *Rosa* es endémico de las regiones templadas del hemisferio norte, incluyendo Norte América, Europa, Asia, Medio Oriente y una gran diversidad de especies encontradas en el occidente de China. La *Rosa* también está distribuida en áreas cálidas tales como Nuevo México, Iraq, Etiopía, Bangladesh y el sur de China. No hay especies endémicas de *Rosa* en el hemisferio sur (Arzate, 2014).

La rosa se considera originaria de la China y se habla de ella desde hace más de 4 000 años. En su proceso de expansión, la rosa llegó a la India, Persia, Grecia, Italia y España, países que conocieron la rosa a todo lo largo de su historia (Yong, 2004).

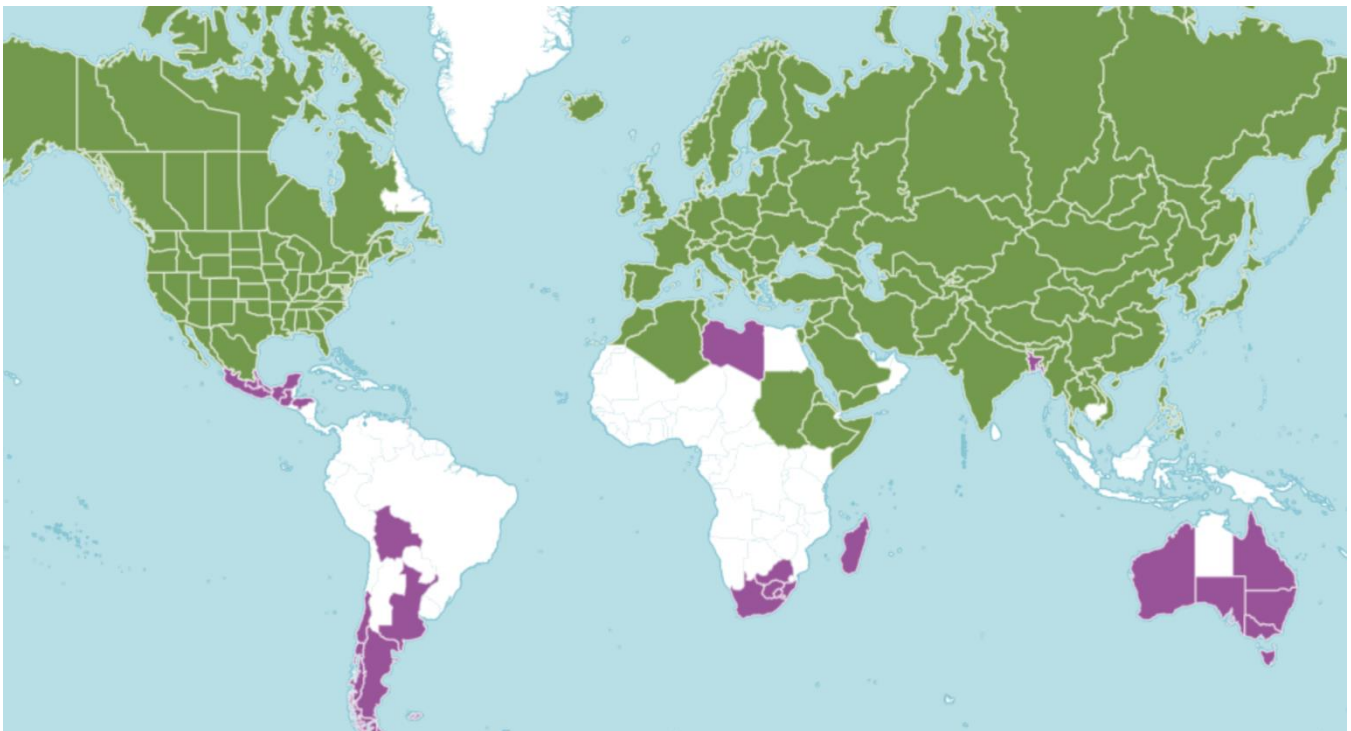


Figura 3. Mapa que muestra las regiones geográficas donde la rosa se ha distribuido. Los países en color verde son regiones donde la rosa se considera nativa; en color morado donde ha sido introducida. (Royal Botanic Gardens, Kew. (s. f.) Plants of World Online. Recuperado el 19 de noviembre 2025, de <http://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipin.org:names:30002432-2>)

En 1815, Francia se puso a la vanguardia de este cultivo. Diez años después ya se conocían más de 5 000 variedades. Posteriormente las rosas fueron traídas a América por hispanos y sajones, y hoy en día, se cultiva comercialmente en varios países de este continente, especialmente en Estados Unidos de Norteamérica, México, Colombia, Ecuador, Costa Rica y Guatemala (Gómez, 2015).

En 2022 la producción de rosas en México aumento 2.3 % en comparación con 2021 alcanzando las 9,815,000 gruesas. Las entidades que más produjeron rosas fueron:

- Estado de México: 7,654,000 gruesas, lo que representa el 78% del total nacional
- Puebla; 709,693 gruesas, lo que representa el 7.2% del total nacional
- Morelos: 689,990 gruesas, lo que representa el 7.0% del total nacional

La producción de rosas en México se realiza en invernaderos y en algunas entidades del país, los principales estados productores son: el Estado de México, Puebla, Morelos, Querétaro y Jalisco (Rural, 2025).

5.2 Hongos endófitos

Los hongos endófitos constituyen un grupo de microorganismos que habitan de manera intracelular o intercelular en los tejidos vegetales sin causar síntomas visibles de patogenicidad durante al menos parte de su ciclo de vida. Su elevada diversidad biológica, junto con su capacidad para sintetizar metabolitos secundarios bioactivos, promover el crecimiento vegetal e inducir resistencia sistémica, los posiciona como una alternativa biotecnológica de alto

potencial para el manejo integrado de plagas y enfermedades en cultivos de relevancia agrícola (Lugtenberg, Caradus, & Johnson, 2016).

Los microorganismos endófitos pueden inducir la expresión de genes en las plantas para la producción de metabolitos secundarios en estas o en el medio donde se desarrollan, los cuales pueden ser extraídos para diferentes fines. Estas sustancias pueden interferir con organismos potencialmente patógenos de la planta hospedera y pueden inducir resistencia a enfermedades, mayor tolerancia a factores abióticos y cambio en la calidad de los productos de la planta. Por esta razón los hongos endófitos se consideran agentes de control biológico (Aragón & Beltrán-Acosta, 2018).

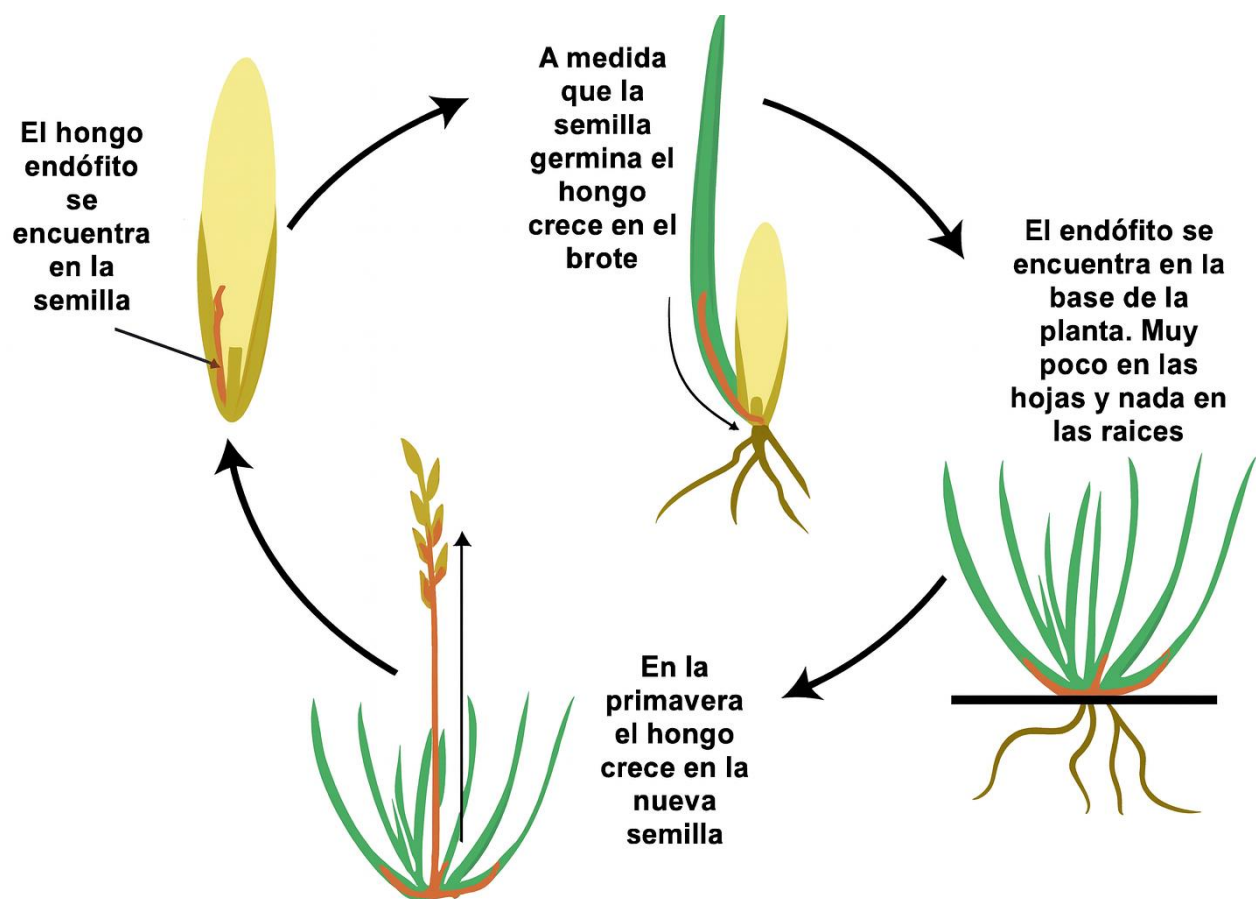


Figura 4. Colonización de un Hongo Endófito Durante el Ciclo de Vida de la Planta.

5.3 Hongos entomopatógenos

Estos hongos son microorganismos que habitan en el suelo principalmente, estos infectan y matan insectos por la penetración de su cutícula. Recientemente se utilizan como biocontrol contra las plagas de insectos que afectan cultivos (Meyling, Eilenberg, & Jørgen, 2007).

Estos hongos son de gran importancia biotecnológica teniendo diversas aplicaciones, como ejemplo en la industria agrícola en el control de plagas con tratamientos basados en insecticidas de nanopartículas, evitando el uso de pesticidas químicos que tiene consecuencias negativas. Los hongos entomopatógenos tienen mejor potencial para su uso en la biosíntesis de nanopartículas de plata, teniendo diversas propiedades (Bihal, y otros, 2023).

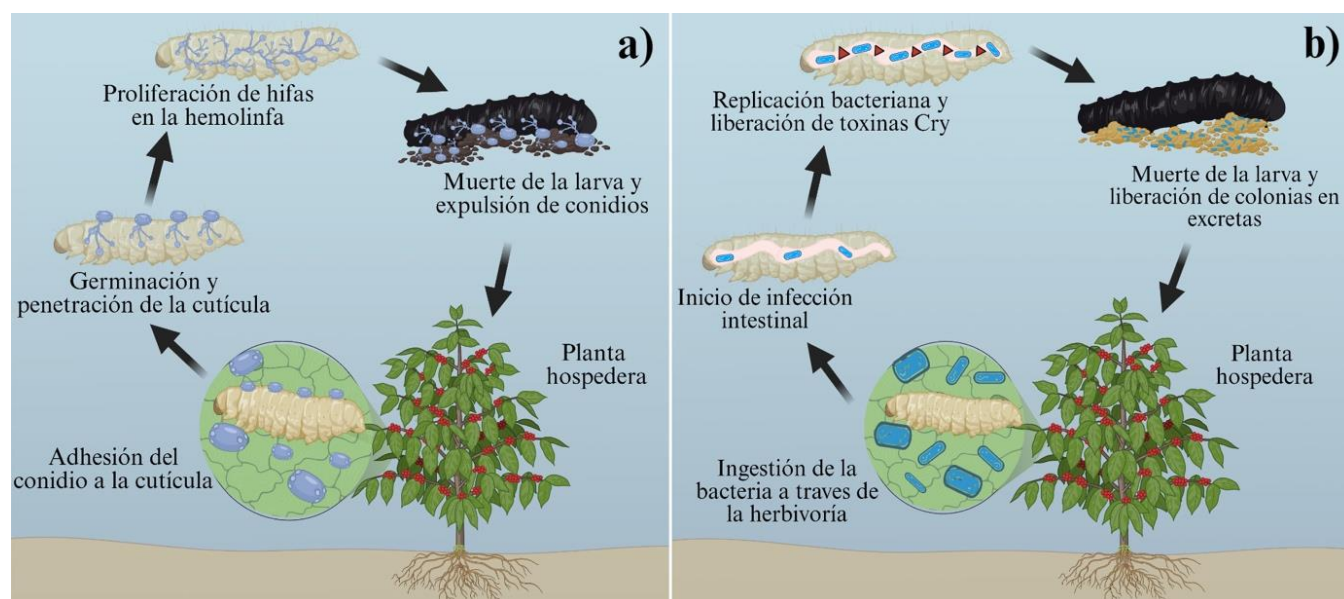


Figura 5. Ciclo de infección de los entomopatógenos sobre larvas defoliadoras. a) Infección por *Beauveria bassiana* y b) Infección por *Bacillus thuringiensis*. (Guzman Hernandez, Chan Arjona, Ruiz Santiago, & Ruiz Sánchez, 2024)

5.4 *Trichoderma spp*

Son habitantes comunes del suelo, principalmente en suelos ácidos y ricos en materia orgánica. Se aíslan con relativa facilidad y se propagan en diversos sustratos. Son antagonistas eficientes, buenos competidores por nutrientes y presentan un sistema enzimático especializado para parasitar diversos hongos fitopatógenos (Guzman, y otros, 2023).

Trichoderma spp, tiene diversos estilos de vida, creciendo como saprófito, como parásito de otros hongos, incluidos muchos fitopatógenos y como simbioses benéficos de plantas, promoviendo el crecimiento y mejorando la respuesta de defensa vegetal (Olmedo, Vargas, Romero, Gómez, & Macias, 2019).

La versatilidad, la gama de mecanismos biológicos y la plasticidad ecológica que posee *Trichoderma spp*, hicieron que se convirtiera en un excelente controlador biológico (Martínez, Infante, & Reyes, 2013).

En la figura dos se muestra al hongo *Trichoderma spp* de manera microscópica vista desde un microscopio y de manera macroscópica visualizando su crecimiento en medio de cultivo, inician con una coloración blanca, después se tornan en tonalidades verde o amarillas por la esporulación, se llega a observar pigmento amarillo en el agar. Tiene hifas tabicadas, septadas y hialinas, sus conidióforos son ramificados con estructura piramidal (Jaiswal, Khadka, Bhat, Baidya, & Keshari., 2025).



Figura 6. *Trichoderma* spp A) vista de un microscopio observando el micelio b) crecimiento del hongo en una caja Petri.

5.5 *Aspergillus japonicus*

Es un hongo que se encuentra en los suelos y cuevas. Es una especie de amplia distribución. Es un hongo filamentoso hialino, puede reproducirse sexual y asexualmente, produce alcaloides anticancerígenos. Las características morfológicas de *Aspergillus japonicus* incluyen colonias de crecimiento rápido que suelen ser de color blanco, amarillo, marrón amarillento, marrón o negro. Microscópicamente, se identifican por hifas tabiculares y conidióforos con cabeza, con vesículas y fialides que forman una estructura característica (Parenicová, y otros, 2001).

Como hongo endofítico, *A. japonicus* tiene la capacidad de favorecer el crecimiento de las plantas sometidas a estrés por altas temperaturas (hasta 40 °C), mediante la regulación de hormonas vegetales como el ácido abscísico y de enzimas antioxidantes como la catalasa y la ascorbato oxidasa. Asimismo, promueve un aumento en los niveles de compuestos bioactivos, tales como fenoles y flavonoides, en las plantas que hospeda (Ismail, y otros, 2018).

5.6 *Beauveria bassiana*

Beauveria bassiana es un hongo entomopatógeno que produce metabolitos secundarios como factores de virulencia durante el proceso patogénico en insectos.

Este hongo secreta enzimas degradadoras de la cutícula del insecto, enzimas como quitinasa, proteasa y lipasa. Sus toxinas son principalmente metabolitos secundarios y compuestos moleculares como beauvericina, bassianina, bassianolida, beauverólidos, tenelina, oosporeína ácido oxálico cristales de oxalato de calcio entre otros, estos presentan actividad insecticida, bactericida y fungicida (Wang, Peng, Li, Cheng, & Gong., 2021).

La patogénesis que este hongo causa en el insecto inicia por la unión de las conidias a la cutícula del hospedero, éstas germinan y penetran para invadir el hemocoele. El insecto hospedero muere debido al agotamiento de la hemolinfa causado por la invasión del hongo, así como por una toxemia causada por la producción de metabolitos tóxicos fúngicos (Rosas García, Mireles Martínez, & Villegas Mendoza, 2020).

5.7 *Metarhizium anisopliae*

Es un hongo entomopatógeno popular por su gran efecto insecticida, es mundialmente conocido, puede atacar a más de 200 especies de insectos (Kobmoo, y otros, 2024). También puede presentar funciones como hongo saprofita, endófito y promotor del crecimiento en plantas (González, Ortega, Bautista, Delgado, & Jiménez, 2022). *M. anisopliae* secreta enzimas que degradan la cutícula del insecto para infectarlo, algunas de estas son las enzimas lipolíticas, proteasas y proteínas relacionadas con ROS, oxidorreductasas, también proteínas de señalización (Beys-da-Silva, y otros, 2014). El uso de este hongo como control biológico de plagas es positivo ya que no daña a las plantas es directo en la eliminación de insectos y puede

sustituir el uso de pesticidas químicos que si tienen impactos negativos para el medio ambiente (Silva, y otros, 2025).

5.8 *Penicillium dipodomyicola*

Este hongo presenta una morfología típica del género *Penicillium*, con hifas septadas y conidióforos estos producen conidios en cadenas. Los conidios son esféricos y se dispersan fácilmente por el aire (Gouba, Raoult, & Drancourt, 2013).

Esta especie es conocida por la producción de varios metabolitos secundarios, entre los que se incluyen:

Peniphenonas A–D: Compuestos que han mostrado actividad inhibidora contra la fosfatasa MptpB de *Mycobacterium tuberculosis*. Ácido ciclopiazónico: Un metabolito que puede tener efectos tóxicos y es común en diversas especies de *Penicillium*. Patulina: Una micotoxina que se ha asociado con efectos adversos en la salud humana (Hanxiang, y otros, 2013).

5.9 *Aspergillus niger*

Este hongo filamentoso, común en la naturaleza, conocido por su capacidad de producir enzimas y metabolitos secundarios útiles. También un buen productor de células importantes para la investigación biotecnológica. Se utiliza ampliamente en la producción industrial de proteasas, ácidos orgánicos, etc., por su excelente diversidad metabólica y está certificado por la FDA como una cepa segura reconocida. La morfología de *A. niger* está estrechamente relacionada con su crecimiento y sus funciones secretoras, estimuladas por factores ambientales externos e interferidas por la autorregulación. Su morfología celular se caracteriza principalmente por la hifa, la rama y la espora, la hifa individual puede interactuar entre sí y formar redes hifales complejas (Yu, Wang, Wang, & Pan, 2024).

5.10 Hongos Fitopatógenos

Todas las plantas son atacadas por algún tipo de hongo, y cada uno de los hongos parásitos ataca a uno o más tipos de plantas. A nivel mundial los hongos fitopatógenos constituyen el grupo más importante desde el punto de vista económico derivado de su frecuencia de aparición y daño potencial (Fertilab).

El hábitat de los hongos es muy amplio, puesto que se encuentran en el suelo, en el agua y en las plantas y animales. Pueden desarrollarse en condiciones climáticas muy variadas, en todo tipo de ecosistemas (Cuervo, Espadas, & Zita, SF).

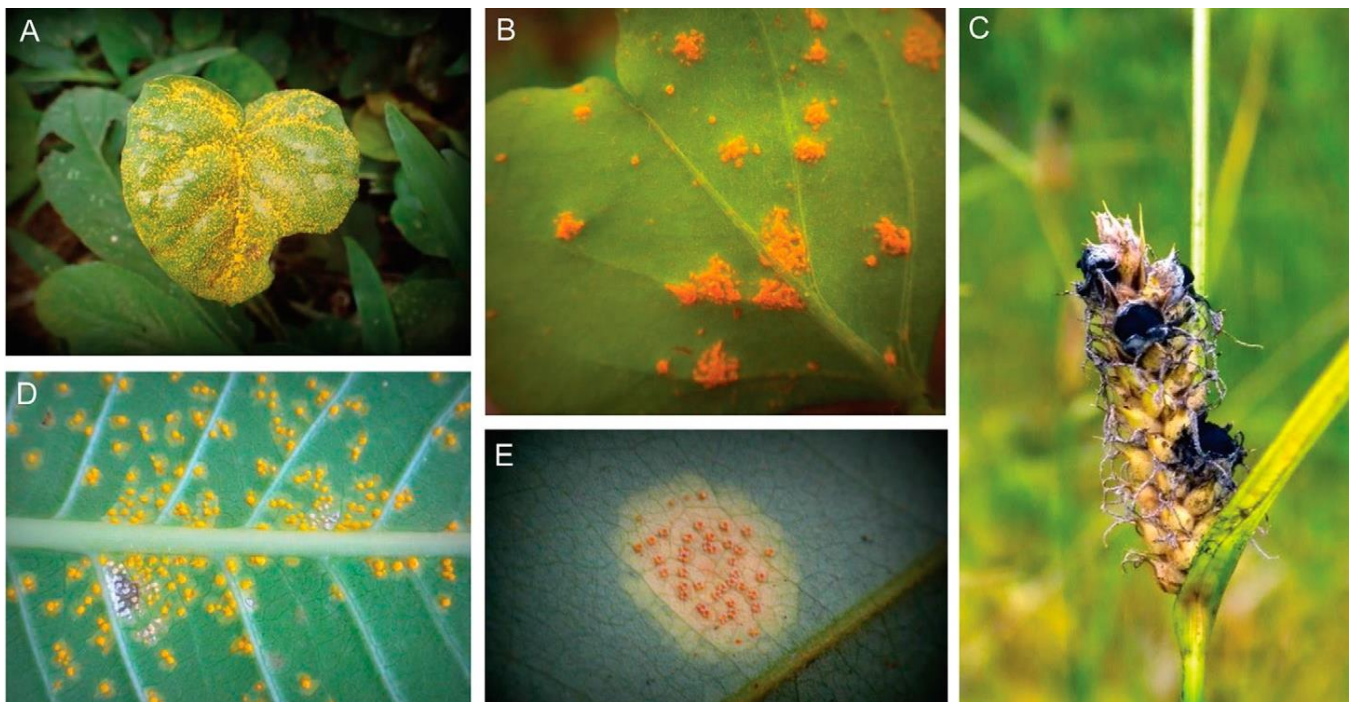


Figura 7. Ejemplos de hongos fitopatógenos. A, *Lycianthes asarifolia* (*Caeoma*). B, *Oxalis* (*Puccinia oxalidis*). C, *Carex* (*Anthracoidea*). D, *Plumeria* (*Coleosporium plumeriae*). E, *Xylopia* (*Sphenorchidium*). (W. Crous, Y. Rossman, Aime, Allen, & Burgess, 2021)

Existen unas 100.000 especies de hongos, de las cuales unas 8.000 son especies fitopatógenas y causan aproximadamente 80.000 enfermedades. De todas solamente se conocen 6.000

especies. Por su número y especies fitopatógenas, los hongos constituyen el grupo más numeroso de microorganismos (Estrada Salazar & Ramírez Galeano, 2019).

5.11 Confrontación

La técnica de confrontación de microorganismos, también conocida como ensayo de enfrentamiento o test de antagonismo, es utilizada para evaluar la capacidad de un microorganismo (bacteria o hongo) para inhibir el crecimiento de otro microorganismo. Esta técnica se basa en la observación de la interacción entre dos microorganismos en un medio de cultivo, donde se busca identificar si uno de ellos inhibe el crecimiento del otro (De Dios Avila, 2020). En la figura tres se muestra un ejemplo de cómo se realiza la confrontación en cajas Petri con medio de cultivo, en un extremo se pone el hongo antagonista como ejemplo en la imagen la figura verde y del otro extremo el hongo a inhibir de color gris. Se siembra, al mismo tiempo y se dejan incubar hasta ver el crecimiento y momento de confrontación

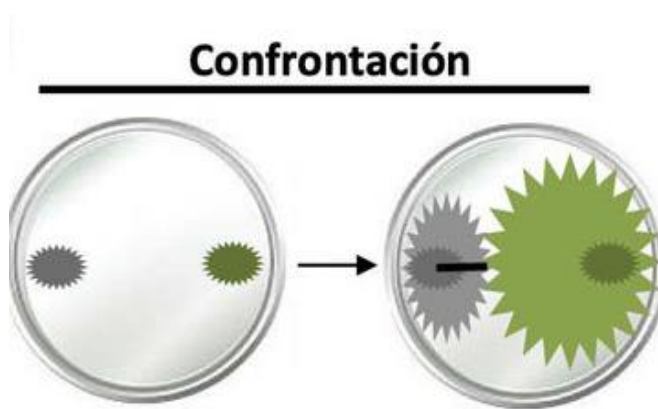


Figura 8. Ejemplificación de la técnica de confrontación que se utilizó.

Las pruebas de antagonismo funcionan para evaluar la capacidad de un microorganismo seleccionado de inhibir el crecimiento de hongos patógenos, por mecanismos como: Competencia de espacio y nutrientes, Invasión directa de la colonia del patógeno, Producción

de metabolitos inhibitorios y Secreción de encimas líticas como las quitinasas y glucanasas (Acosta, y otros, 2013).

5.12 Categorización de los hongos

Esta es una forma de clasificar el crecimiento del hongo antagonista contra el hongo patógeno, utilizando la escala por Bell et al. (1982) y Askew y Laing (1994) y reproducido por Rodríguez y Flores (2018), donde se divide por clases. Clase 0: no hubo crecimiento suficiente para ser evaluado, ninguno de los hongos invadió al otro (esta clase fue agregada). Clase 1: el hongo antagonista crece completamente sobre el aislado y cubre toda la superficie de la caja Petri. Clase 2: el hongo antagonista crece dos tercios sobre la superficie de la caja Petri. Clase 3: el hongo antagonista crece el 50% en la superficie de la caja Petri. Clase 4: el asilado coloniza dos tercios de la superficie. Clase 5: el asilado crece completamente sobre la superficie (Rodríguez & Flores, 2018).

6. Metodología

- **Tipo de estudio:** Estudio experimental in vitro. Cuantitativo, exploratorio.
- **Diseño:** Diseño completamente aleatorizado, in vitro.
- **Unidad experimental:** Placas Petri con medio de cultivo.
- **Variables:** Crecimiento micelial, grado de invasión, clases de antagonismo.

La metodología se compone de las siguientes etapas:

1. Obtención de la muestra vegetal
2. Aislamiento de hongos fitopatógenos
3. Identificación preliminar mediante microcultivo
4. Ensayos de confrontación dual
5. Mediciones
6. Análisis estadístico: Frecuencias, porcentajes; prueba exacta de Fisher

El presente estudio se desarrolló bajo un enfoque cuantitativo y experimental, empleando ensayos in vitro para evaluar el efecto antagónico de hongos entomopatógenos frente a hongos fitopatógenos aislados de un rosal con síntomas de infección.

La investigación se estructuró en cuatro etapas principales: aislamiento de hongos, identificación preliminar, confrontación dual y análisis estadístico.

En el diagrama de la figura 4 se describe de manera general el proceso que se siguió para cumplir los objetivos planteados para este trabajo de investigación.

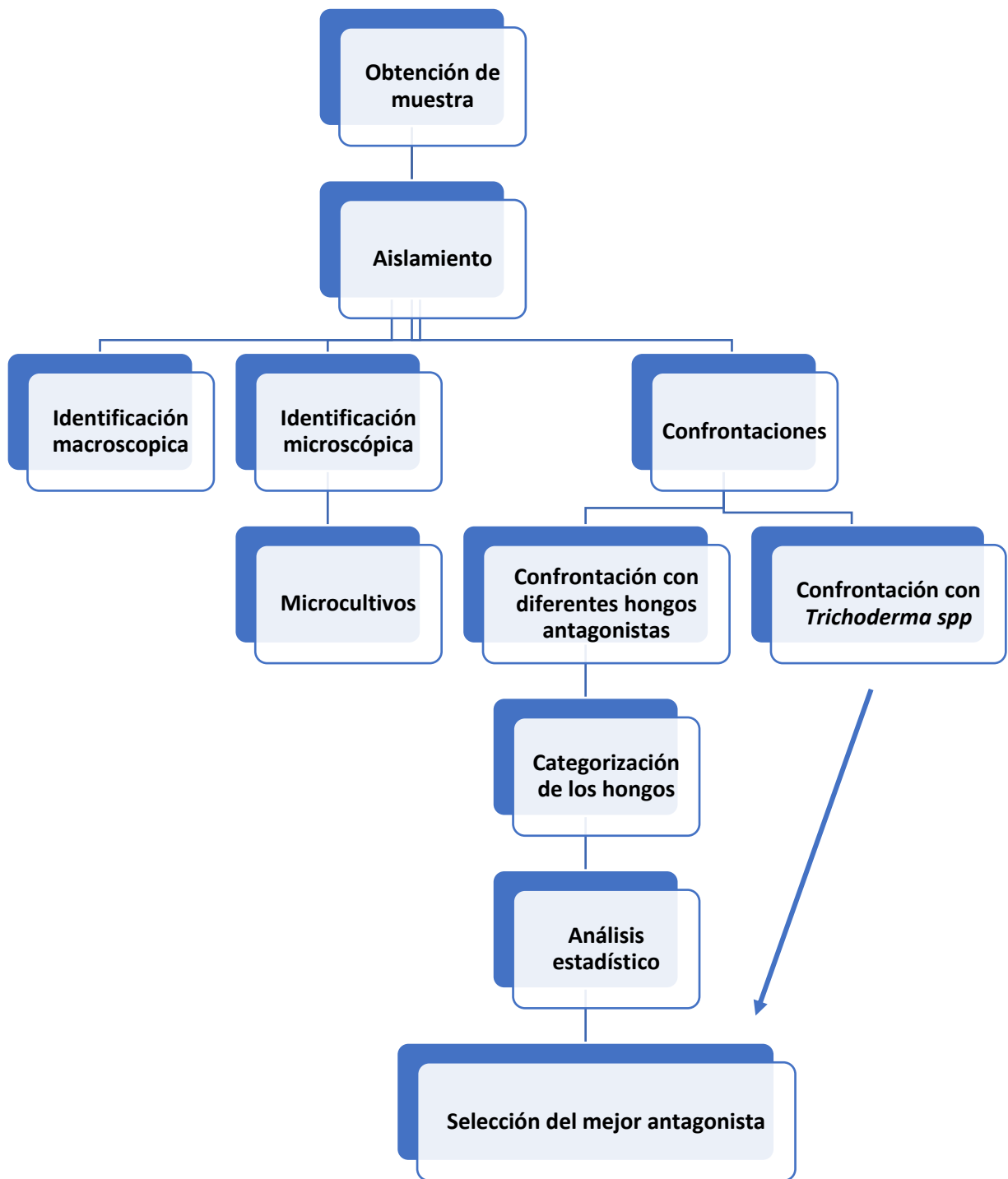


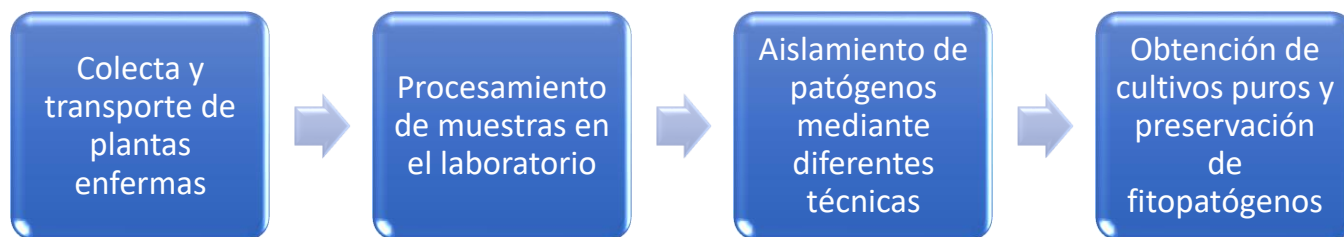
Figura 9. Diagrama que describe el proceso de trabajo

6.1 Obtención del material vegetal

La muestra fue recolectada de un ejemplar de Rosa sp. que presentaba signos visibles de infección por microorganismos, proveniente de un jardín particular ubicado en la ciudad de Puebla, en septiembre de 2022. El material vegetal fue transportado envuelto en papel periódico, con el fin de minimizar la humedad y prevenir la contaminación o interacción con el ambiente externo.

6.2 Aislamiento de hongos de la rosa como posibles fitopatógenos

Una vez recolectadas las muestras con evidencia de daño asociado al desarrollo de microorganismos, estas fueron transportadas al laboratorio para su análisis microbiológico. A partir del material vegetal, y mediante la aplicación de técnicas microbiológicas convencionales, se procedió al aislamiento y obtención de cultivos puros de posibles fitopatógenos, los cuales fueron posteriormente preservados para su caracterización (Muñoz, Cisterna, & France, 2020).



Se seleccionaron seis secciones del ejemplar vegetal empleando pinzas estériles, eligiendo aquellas que presentaban daños visibles como hojas lesionadas, cálices y pétalos con signos de infección microbiana, presencia de moho y cicatrices en hojas y tallos. Cabe señalar que no se incluyeron hojas sanas ni raíces, ni tejidos sin evidencia de desarrollo microbiano. El procedimiento se llevó a cabo dentro de una campana de flujo laminar, y las muestras se

colocaron sin desinfectar, con el propósito de preservar los posibles fitopatógenos presentes en el material vegetal.

Los fragmentos seleccionados fueron sembrados en agar papa dextrosa (PDA), cada parte de las secciones se sembró en una caja Petri diferente, teniendo un total de seis muestras, que pertenecen a diferentes partes aéreas del rosal.

Se dejaron en incubación por 48 horas, a una temperatura de 32° C, tiempo en que se espera sea visible el crecimiento asociado a la muestra y posibles fitopatógenos.

A partir de las seis cajas Petri que presentaron crecimiento de posibles hongos fitopatógenos, se realizaron aislamientos en nuevas cajas Petri con medio de cultivo agar papa dextrosa (PDA) estéril. Este procedimiento se llevó a cabo dentro de una campana de flujo laminar, utilizando un asa micológica estéril para transferir los fragmentos de micelio que mostraban crecimiento activo y aún no habían invadido otras colonias. Se seleccionaron aislados con diferencias morfológicas evidentes, considerando características como el color de las hifas, la textura del micelio y el tamaño de las colonias.

6.3 Microcultivos

Esta técnica del micro cultivo se utiliza para identificar a los hongos observando el tipo de forma reproductiva (esporas), y sus estructuras sexuales al teñirlas y analizar al microscopio: forma, tamaño, agrupamiento, etc. También se describen las características de las hifas: presencia o ausencia de tabiques, hifas en raqueta, hifas en espiral (Micología, 2017).

Se empleó medio de cultivo PDA gelificado, proveniente de una caja Petri estéril, el cual fue seccionado en cubos pequeños utilizando un bisturí esterilizado. Cada cubo de agar se colocó sobre un portaobjetos, sostenido por dos puntas de pipeta para mantenerlo elevado. El montaje

se dispuso dentro de una caja Petri de vidrio, en cuyo fondo se colocaron discos de papel filtro humedecidos con aproximadamente 3 mL de glicerina al 80%, con el propósito de mantener la humedad durante el periodo de incubación (Figura 5). En total, se prepararon ocho cajas de este tipo para el cultivo de los hongos aislados.

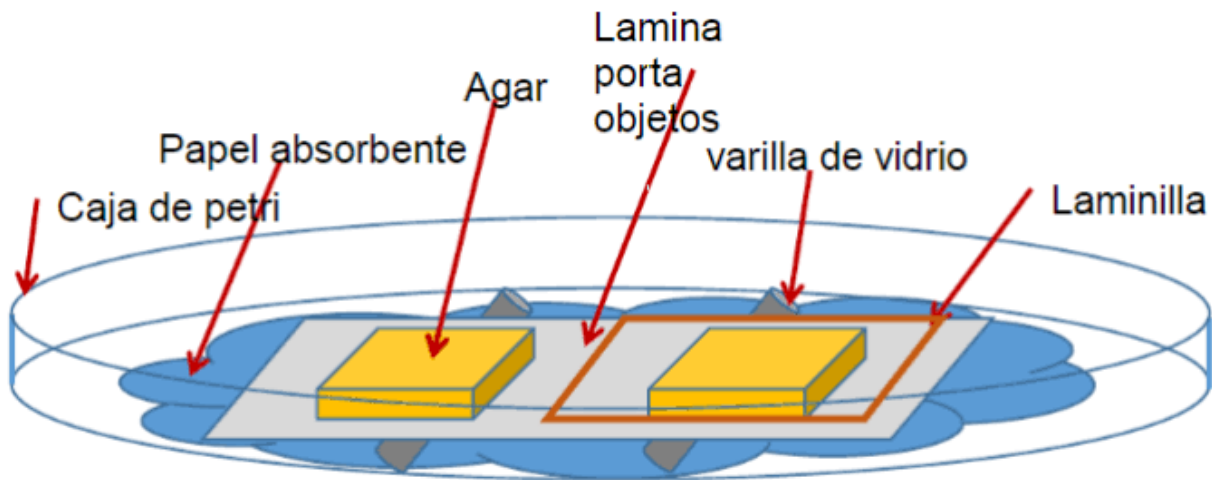


Figura 10. Representación de la técnica para hacer los microcultivos

Se inocularon estos cuadros de agar con cada uno de los hongos aislados. Cada hongo se tomó con un asa micológica, previamente esterilizada y se picaba el centro del cuadro de agar para depositar las esporas. Las cajas se pusieron en incubación por 48 horas a una temperatura de 32°C, que fue tiempo suficiente para que los hongos crecieran alrededor del agar.

Para la observación en microscopio se utilizó azul de lactofenol, para teñir los 8 micro cultivos, utilizando un gotero para su aplicación.

6.4 Confrontación de los hongos aislados contra *Trichoderma spp*

Para medir la actividad de inhibición de un hongo antagonista contra el posible fitopatógeno aislado, se utilizaron estrategias de confrontación, estas se realizaron de la siguiente manera: se hicieron dos etapas de antagonismos *in vitro*. Para hacer la confrontación con el hongo *Trichoderma spp* se utilizó agar papa dextrosa PDA. Se pusieron los hongos aislados en una caja Petri con agar PDA, con cada uno en una caja para que pudiera analizarse la confrontación contra *Trichoderma spp*.

En la caja Petri se inoculo de un extremo *Trichoderma spp* y en el otro extremo se inoculo el hongo aislado, las inoculaciones se llevaron a cabo en campana de flujo laminar, para asegurar que creciera el cultivo deseado y no alguno otro microorganismo que interfiera con los resultados.

Las cajas Petri inoculadas se pusieron en incubación por 24 horas a una temperatura de 32° C.

6.5 Confrontación con los antagonistas seleccionados

Antagonistas

Para el resto de los hongos antagonistas se utilizó agar Sabouraud.

Los posibles hongos fitopatógenos aislados se inocularon en una caja Petri con agar Sabouraud, se tomaron hongos aislados, para confrontarlos con los antagonistas.

Los hongos antagonistas (*Aspergillus Japonicus*, *Penicillium dipodomycola*, *Aspergillus Niger*) son donados de la colección del Dr. José Roberto Zúñiga Silva, se muestran en la figura seis, los otros hongos se utilizaban en diversos experimentos en el laboratorio fueron comprados (*Beauveria Bassiana*, *Metarhizium anisopliae*), estos hongos solo se han utilizado en insectos,

para este trabajo los empleamos para analizar si también inhibían posibles hongos patógenos del rosal, HIII (nombre clave para un hongo aislado) fue uno de los aislados del a rosa infectada, se tomó como un posible *Trichoderma spp*, por sus características macroscópicas, la comparación se hizo con el hongo *Trichoderma spp* aislado que utilizamos para las primeras confrontaciones.



Figura 11. Hongos antagonistas utilizados para las confrontaciones

La confrontación de estos hongos se realizó en placas Petri con medio Sabouraud, con un asa esterilizada se tomó micelio del hongo antagonista y se picó el agar en una orilla de la caja Petri y justo del otro lado se picó con micelio del hongo aislado de la rosa, se dejaron en incubación a temperatura de 32°C por 72 horas, se realizaron mediciones de crecimiento cada 24 hora. Se tomo un hongo antagonista para confrontarlo con los 7 aislados y así se hizo con el resto de los

hongos, dando un total de 42 cajas Petri con confrontaciones. Este proceso se llevó a cabo en una campana de flujo laminar y con un mechero de alcohol, para evitar crecimiento de otros microorganismos que puedan interferir en los resultados.

6.6 Mediciones

Para las mediciones se utilizó un vernier, midiendo de la orilla de la caja Petri donde se picó con el asa al centro de la caja. Se registraron las anotaciones de las medidas en una bitácora. Las mediciones se realizaron a las 24, 48 y 72 hrs.

6.7 Análisis estadístico

Se realizó un análisis estadístico de tipo descriptivo y exploratorio. Las variables hongos entomopatógenos, hongo fitopatógeno, capacidad antagónica y grado de antagonismo, al ser de tipo cualitativo nominal, se les calculó solo las frecuencias y porcentajes. A los datos obtenidos se les realizó la prueba exacta de Fisher, debido a que el número de ensayos realizados fue menor a 50, con el fin de observar si se presentaba una diferencia estadísticamente significativa ($p\text{-valor} < 0.05$) entre las frecuencias de los grupos que indicaran una posible asociación entre las variables. Para el análisis estadístico se utilizó el software estadístico IBM SPSS en su versión 27.0.

7. Resultados

Para la recolección de las muestras se consideraron características morfológicas del rosal que indicaban posible infección, tales como agrietamiento foliar, decoloración y marchitez anormal en hojas, pétalos y cáliz. En el material vegetal seleccionado se observó crecimiento fúngico, acompañado de manchas de color blanco y negro en las hojas, las cuales presentaban cicatrices con tonalidades café y blanquecinas. En la región floral se detectó la presencia de micelio blanquecino y signos de pudrición, lo que permitió confirmar visualmente la existencia de hongos potencialmente fitopatógenos. En la Figura 7 se aprecia el cáliz con micelio blanco y tejido en descomposición, daños atribuibles a la acción de microorganismos asociados al rosal, a partir del cual se obtuvieron los aislamientos fúngicos. Asimismo, se identificaron lesiones compatibles con la enfermedad conocida como Mancha Negra, patología común en especies del género *Rosa*.

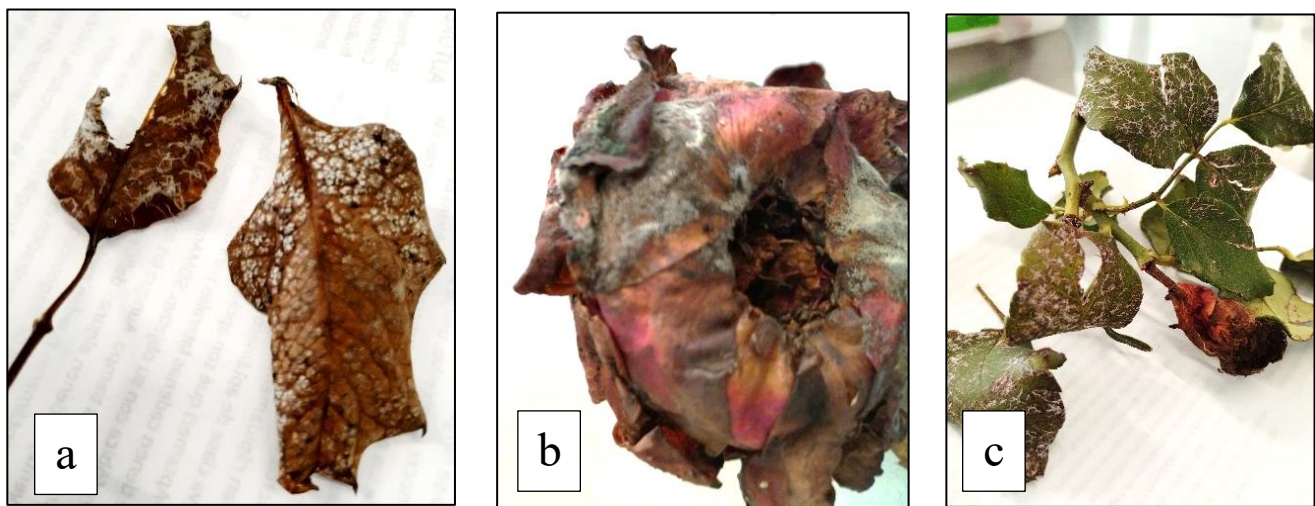


Figura 12. Planta de rosal afectada por patógenos: **a)** Hoja con coloración café y puntos blancos, ya seca **b)** flor con moho blanco y pudrición, **c)** tallo y hojas rotas infectadas con cicatrices blancas

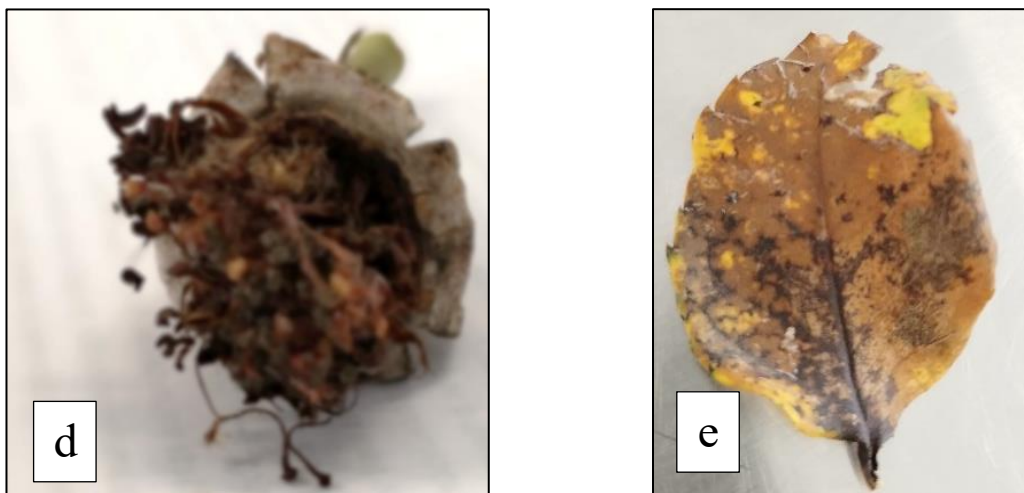


Figura 12 (cont.). Planta de rosal afectada por patógenos: **d)** Calix con moho blanco y pudrición **e)** hoja con coloración café y manchas negras.



Figura 13. Cajas Petri de medio PDA con partes de rosal infectado, en estas seis placas ve el crecimiento de hongos fitopatógenos.

7.1 Aislamiento

Una vez que era visible el crecimiento de los hongos en las cajas Petri, como se muestra en la figura ocho, se seleccionó un hongo con características diferentes a los demás, tomando en cuenta la diferencia de color y tamaño, también en el crecimiento, que el hongo estuviera aislado de cualquier otro para evitar contaminación cruzada.

En total se obtuvieron 8 aislados de hongos posibles fitopatógenos con morfologías diferentes, se dejaron en incubación a una temperatura de 32° por 48 horas, monitoreando el crecimiento observando que a las 24 horas ya era visible el crecimiento. Estos hongos aislados de las partes de la rosa infectada se utilizaron para hacer las confrontaciones con los hongos antagonistas.

En la figura nueve se observan algunos hongos aislados en cajas Petri, con diferentes características, a) se encuentra un hongo de estructura algodonosa con coloraciones amarillas y verdes en el centro, de crecimiento circular b) hongo con tonalidad beige, de aspecto cremoso, de crecimiento irregular, c) hongo color café, de aspecto cremoso, de crecimiento irregular.

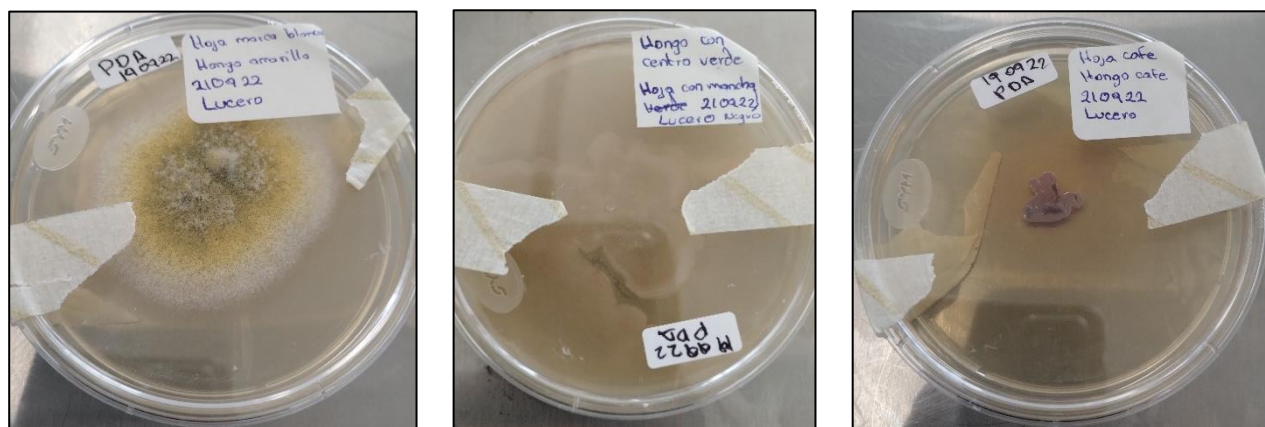


Figura 14. Hongos fitopatógenos aislados del rosal con diferentes características.

Para poder facilitar reconocimiento de los hongos, se les puso un nombre clave conforme al origen de donde se aisló, en la tabla uno se describe de donde se aislaron los hongos.

Tabla 1. Sitio de aislamiento y descripción de los aislados

Nombre en clave de los hongos aislados.	PI	PII	PIII	CI	CII	HI	HII	HIII
Sitio de aislamiento	Pétalo	Pétalo	Pétalo	Cáliz	Cáliz	Hoja	Hoja	Hoja
Descripción de los hongos aislados de acuerdo con sus características macroscópicas	Apariencia algodonosa, este criterio se tomó con el tiempo que se dejaron crecer los aislados.	En medio Sabouraud crece de color blanco tornándose un color amarillo en el centro.	Colonia algodonosa, micelio membranoso , con colores blanco.	De apariencia aterciopelada, de color blanco, con crecimiento lento.	Color blanco tornándose amarillo, de apariencia algodonosa abultado y agrietado.	Apariencia algodonosa y de color blanco.	Con colonias esparcidas de color blanco, el centro se va tornando negro.	Colonia expandida, tornando un color verde el medio de cultivo, el centro del micelio es blanco, se va tornado verde con el crecimiento.
Velocidad de crecimiento a las 24 horas	Crecimiento lento	Crecimiento moderado	Crecimiento lento	Crecimiento lento	Crecimiento regular	Crecimiento rápido	Crecimiento regular	Crecimiento regular

7.2 Microcultivos

Con los microcultivos de los aislados para poder identificarlos, no se obtuvieron óptimos resultados para poder observarlos en microscopio ya que al teñirlos con el Azul de lactofenol hubo demasiada pigmentación, de esta manera no se pudieron identificar las formas hifas, micelios o esporas de los hongos aislados, además por el rápido crecimiento de los hongos, estos invadían el agar generando un acumulamiento de masa que impedía poder ver las estructuras microscópicas de los aislados.

7.3 Confrontación con *Trichoderma spp*

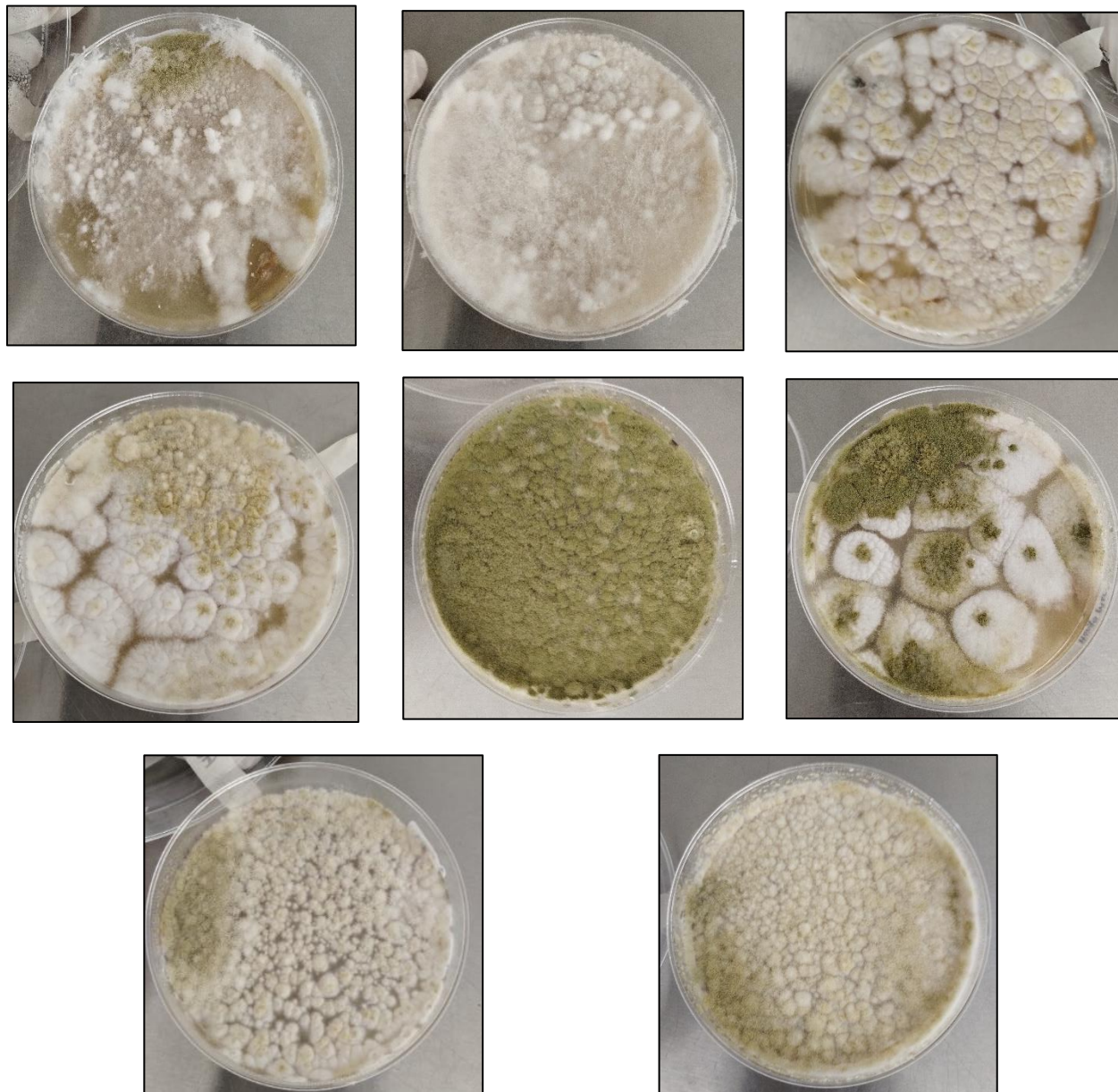
La técnica de confrontación que se utilizó fue poner a dos hongos en una caja Petri, un hongo antagonista y un hongo aislado, uno a un extremo de la caja y el otro en el otro extremo, se pusieron en incubación y se analizó el crecimiento de ambos. El hongo *Trichoderma spp* que se utilizó en este trabajo fue donando del cepario del Dr. José Roberto Zúñiga Silva.

Se realizaron las confrontaciones primero con *Trichoderma spp* ya que es uno de los hongos antagónicos con mejor acción fungicida, es el más utilizado en diversas enfermedades de cultivos causadas por hongos fitopatógenos. pero ha sido poco estudiado en las plantas del rosál. Después se utilizó al resto de los hongos antagonistas en las confrontaciones, ya que estos son hongos entomopatógenos, generalmente utilizados en insectos.

En las confrontaciones los hongos aislados fueron invadidos por *Trichoderma*, este hongo antagonista cubrió a los demás, con este resultado podemos tomar en cuenta a este hongo antagonista como un posible fungicida de plagas en rosál. La invasión de *Trichoderma spp* fue rápida, en 24 horas se notó el crecimiento de este hongo, en las cajas Petri, por esta razón no se pudieron realizar mediciones. En la figura 10 se muestra como el hongo *Trichoderma spp* cubrió por completo las placas Petri con características diferentes en la forma

del micelio en algunas placas se notaba el micelio más verde, posiblemente por la composición química de cada hongo aislado, en algunas placas el micelio creció de forma algodonosa y en otras se dividían varias colonias.

Figura 15. Placas de confrontación invadidas por *Trichoderma*, crecimiento después de 24 horas, se cubrió completamente la caja Petri.



7.4 Confrontaciones con los antagonistas seleccionados

En las confrontaciones se observó como los hongos se comportaban hacia su contrincante, el hongo *Metarhizium anisopliae* fue de los que tuvo mejor efecto fungicida contra los aislados, el hongo aislado **HI** fue de los más resistentes contra los hongos antagonistas, en la mayoría de las placas donde se puso este hongo se llenaba la placa Petri al tercer día de incubación, con micelio denso color blanco. Ante los aislados el hongo antagonista *Penicillium dipodomycola* no creció, este antagonista se descarta como fungicida para los posibles patógenos del rosal. Con los resultados obtenidos podemos observar que los hongos antagonistas como el *Metarhizium anisopliae* podrían funcionar como un fungicida siendo útil para el control de fitopatógenos del rosal.

En la figura 16 se observan las placas Petri ordenadas conforme a los hongos antagonistas y los aislados, a las 72 horas de crecimiento, mostrando de manera macroscópica las características de las confrontaciones. Podemos observar el crecimiento del micelio de los aislados y los antagonistas, caracterizados por su color, forma y tamaño. En la fila de las placas de *Metarhizium anisopliae* contra los aislados es visible el crecimiento de este hongo dando un micelio oscuro y con textura algodonosa. El hongo antagonista *Beauveria bassiana* tuvo visiblemente un buen crecimiento. También el crecimiento en la columna del hongo aislado **HI**, fue uno de los aislados que fue difícil de contrarrestarse con los antagonistas por su rápido crecimiento y su denso micelio blanco.

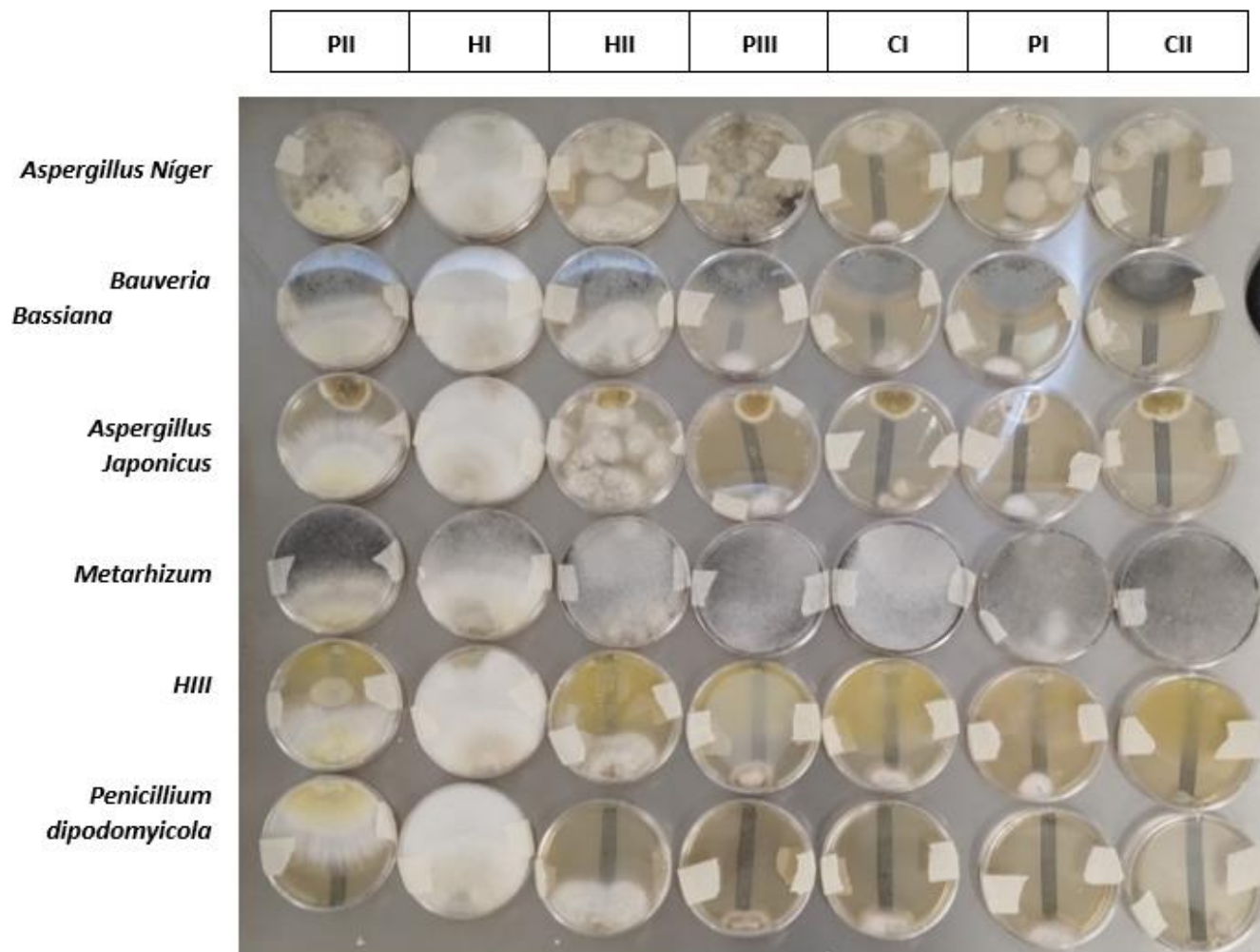


Figura 16. Placas Petri con las confrontaciones, de hongos antagonistas vs. Hongos fitopatógenos.

Tabla 2. Resumen de los resultados obtenidos de los diferentes aislados contra los antagonistas.

ANTAGONISTAS /AISLADOS	<i>PII</i>	<i>HI</i>	<i>HII</i>	<i>PIII</i>	<i>CI</i>	<i>PI</i>	<i>CII</i>
<i>Aspergillus niger</i>	++	++	++	+++	++	+++	+++
<i>Beauveria bassiana</i>	++	+	++	+++	+++	+++	+++
<i>Aspergillus japonicus</i>	+	+	+	++	++	++	+++
<i>Metarhizium anisoplae</i>	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
<i>HIII</i>	++	+	+++	+++	+++	+++	+++
<i>Penicillium dipodomycola</i>	+	+	+	+	+	+	+

Los signos de “+” indican la cantidad subjetiva de crecimiento del hongo antagonista:

+ poco crecimiento,

++ crecimiento regular,

+++ mucho crecimiento.

En estas confrontaciones del hongo antagonista *Aspergillus niger* y los fitopatógenos, se observó un crecimiento favorable para la invasión de los fitopatógenos, excepto con los hongos

HI y **PII** estos son unos resistentes, en la mayoría de las confrontaciones han crecido de manera regular ante los antagonistas.

En esta confrontación del hongo *Beauveria bassiana*, se observó que pudo invadir a los aislados **PII**, **CI**, **P** y **CII** en estos hongos *Beauveria bassiana* puede funcionar como fungicida, solo se ha utilizado como insecticida, podemos optar para utilizarlo para combatir algunas plagas fúngicas del rosal. Con el resto de los aislados **HI** y **HII** crecieron casi a la par.

En estas confrontaciones con *Aspergillus japonicus*, se observa que con los aislados **PII**, **HI** y **HII** no tuvo éxito de inhibición, con los demás si pudo crecer mejor y combatirlos. Este hongo *Aspergillus japonicus* puede utilizarse como fungicida solo para los hongos en los que se observó una buena invasión.

Las confrontaciones del hongo antagonista *Metarhizium anisopliae* contra los aislados, se observó que este hongo antagonista fue de los mejores en poder invadir y controlar a los hongos aislados, se puede tomar como un buen fungicida.

Las confrontaciones con el hongo **CIII** con los fitopatógenos, observamos que con el aislado **HI** y el aislado **PII** no tuvo éxito de combatirlos, con el resto de los aislados si se observó el óptimo crecimiento del hongo verde.

En estas confrontaciones de *Penicillium dipodomycola* y de los hongos aislados, el hongo antagonista no creció, este hongo no funcionaría para combatir a las plagas del rosal.

En la gráfica uno se muestra el crecimiento de los hongos a las 24, 48 y 72 hrs, en la columna azul se representa al hongo antagonista *Metarhizium anisoplae* y en la columna anaranjada el hongo aislado **PIII**, se demuestra que el hongo *Metarhizium* tiene de manera considerable más crecimiento.

Tabla 3. Capacidad antagónica de hongos entomopatógenos frente a posibles fitopatógenos aislados de rosa a las 72 horas de incubación.

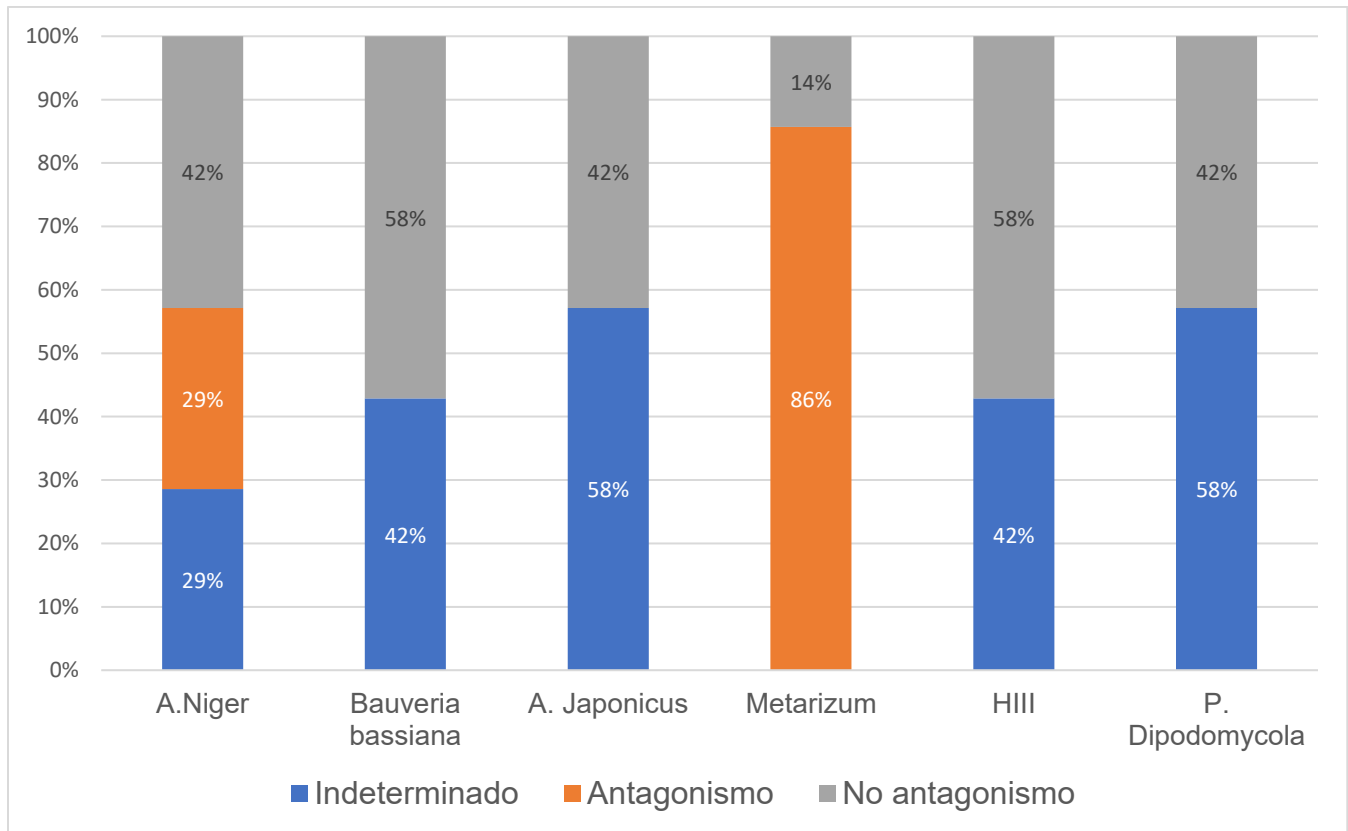
	<i>A.Niger</i>	<i>Beauveria bassiana</i>	<i>A. Japonicus</i>	<i>Metarhizium</i>	HIII	<i>P. Dipodomycola</i>	Total	
Antagonismo	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	P-valor
<i>Indeterminado</i>	2(29)	3(43)	4(57)	0(0.0)	3(43)	4(57)	16(38)	0.007*
<i>Antagonismo</i>	2(29)	0(0.0)	0(0.0)	6(86)	0(0.0)	0(0.0)	8(19)	
<i>No antagonismo</i>	3(42)	4(57)	3(43)	1(14)	4(57)	3(43)	18(43)	
Total	7(100)	7(100)	7(100)	7(100)	7(100)	7(100)	42(100)	

Abreviaturas: %(porcentaje) n(número), *A. Niger* (*Aspergillus Niger*), *A. Japonicus* (*Aspergillus Japonicus*), *P. Dipodomycola* (*Penicillium Dipodomycola*).

* Exacta de Fisher ($p < 0.05$)

En la Tabla 3 se presenta la capacidad antagónica de los hongos entomopatógenos frente a los aislados fitopatógenos después de 72 horas de incubación. Para cada hongo antagonista se muestran las frecuencias y porcentajes correspondientes a los ensayos clasificados como antagonismo, indeterminado y no antagonismo, considerando que cada especie fue evaluada en un total de siete ensayos (100 %). *Metarhizium anisopliae* destacó como el antagonista más eficaz, ya que en seis de los siete enfrentamientos (86 %) inhibió de manera clara el crecimiento del hongo aislado. En contraste, *Beauveria bassiana* y el aislado HIII registraron la mayor proporción de ensayos sin efecto antagónico. La prueba exacta de Fisher mostró una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos ($p = 0.007$), lo que indica que la capacidad antagónica observada difiere de manera real y no atribuible al azar.

Gráfica 1. Capacidad antagónica de los hongos seleccionados.



En la gráfica se presenta el porcentaje de antagonismo observado según el patrón de crecimiento de los hongos enfrentados. El color naranja corresponde a las interacciones clasificadas como antagonismo, en las cuales el hongo entomopatógeno invadió y suprimió el crecimiento del hongo aislado. En este grupo, *Aspergillus niger* y *Metarhizium anisopliae* mostraron los mejores resultados, siendo *Metarhizium* el que exhibió la mayor capacidad antagónica. El color azul representa los casos indeterminados, donde después de 72 horas de incubación no se observó un punto de encuentro entre ambos hongos, lo que impidió establecer el grado de antagonismo. Finalmente, el color gris indica ausencia de antagonismo, situación en la que, pese al contacto entre ambas colonias, el hongo aislado avanzó sobre el hongo antagonista.

Tabla 4. Evaluación del grado de antagonismo de hongos entomopatógenos contra fitopatógenos aislados de *Rosa spp.* a las 72 horas de incubación

	A. Niger	Beauveria bassiana	A. Japonicus	Metarhizium	Hill	P. Dipodomyicola	Total	
Clase	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	P-valor
0	2(29)	3(43)	4(57)	0(0.0)	3(43)	4(58)	16(38)	0.036*
1	1(14)	0(0.0)	0(0.0)	5(72)	0(0.0)	0(0.0)	6(14)	
2	1(14)	0(0.0)	0(0.0)	1(14)	0(0.0)	0(0.0)	2(5)	
3	2(29)	3(43)	0(0.0)	1(14)	3(43)	1(14)	10(24)	
4	0(0.0)	0(0.0)	1(14)	0(0.0)	0(0.0)	1(14)	2(5)	
5	1(14)	1(14)	2(29)	0(0.0)	1(14)	1(14)	6(14)	
Total	7(100)	7(100)	7(100)	7(100)	7(100)	7(100)	42(100)	

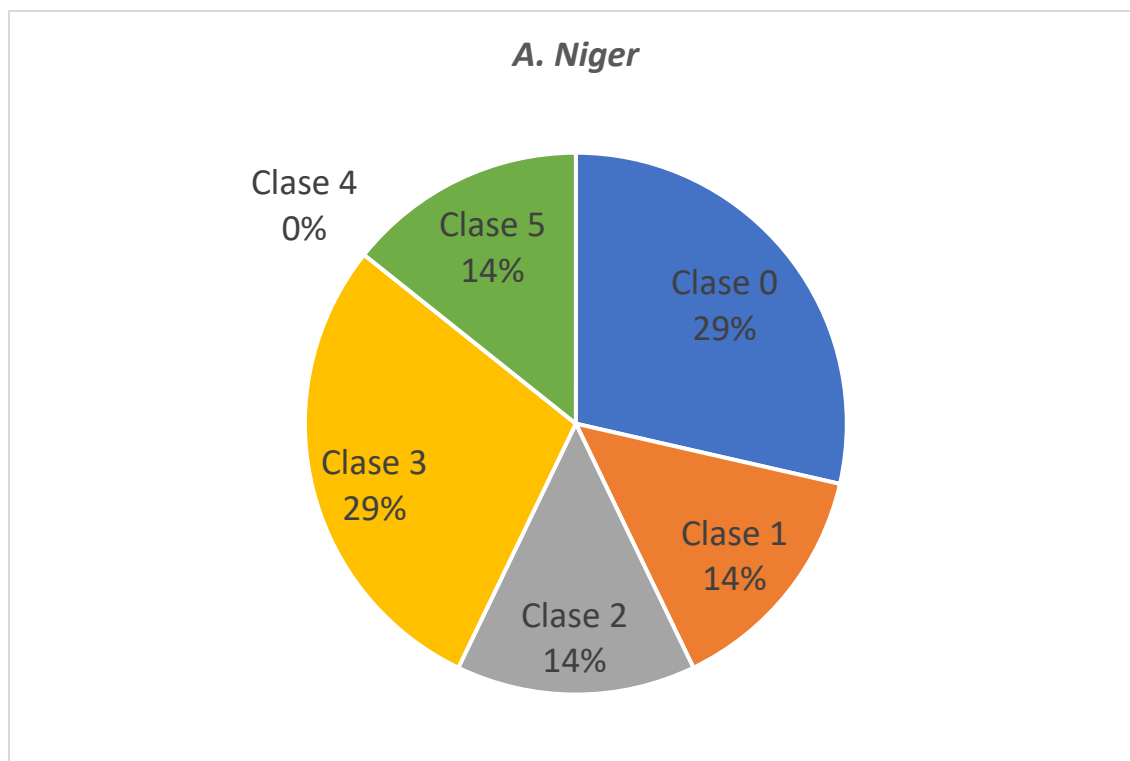
Abreviaturas: %(porcentaje) n(número), *A. Niger* (*Aspergillus Niger*), *A. Japonicus* (*Aspergillus Japonicus*), *P. Dipodomyicola* (*Penicillium Dipodomyicola*).

*Exacta de Fisher (p<0.05).

En la Tabla 4 se presenta el grado de antagonismo alcanzado por los hongos entomopatógenos frente a los fitopatógenos aislados de *Rosa spp.* después de 72 horas de incubación, evaluado conforme a la escala propuesta por Bell et al. (1982) y Askew y Laing (1994). Esta escala clasifica el avance del crecimiento del hongo antagonista sobre el hongo aislado en seis categorías: Clase 0, sin crecimiento suficiente para valoración; Clase 1, invasión completa del antagonista sobre el aislado; Clase 2, invasión de dos tercios de la superficie; Clase 3, invasión del 50 %; Clase 4, colonización de dos tercios por parte del aislado; y Clase 5, colonización completa del aislado.

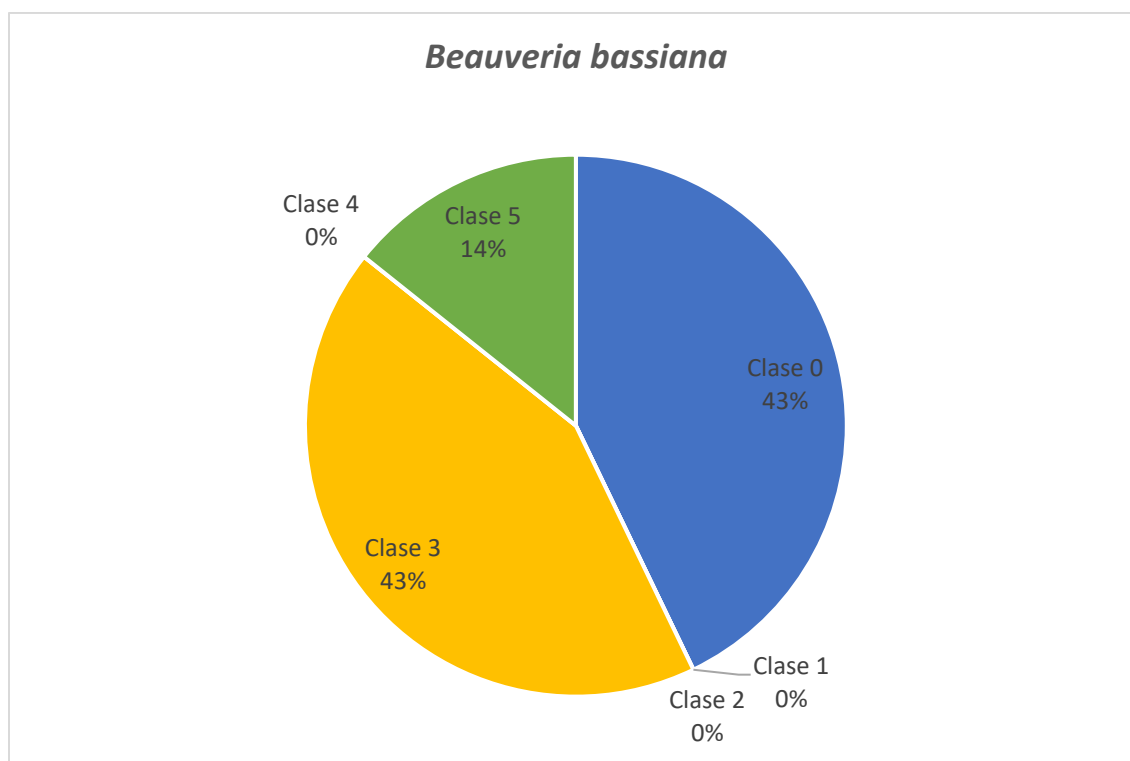
Cada hongo antagonista fue evaluado en siete ensayos (100 %), y sus resultados se expresan en frecuencias y porcentajes. *Metarhizium* mostró el desempeño más sobresaliente, con cinco de los siete ensayos ubicados en la Clase 1, la cual representa el máximo grado de antagonismo, ya que implica el sobrecrecimiento total del antagonista sobre el fitopatógeno. La prueba exacta de Fisher evidenció una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos (p = 0.036), indicando que los grados de antagonismo observados varían de manera real entre las especies evaluadas.

Gráfica 2. Porcentaje en clases de *A. Niger*



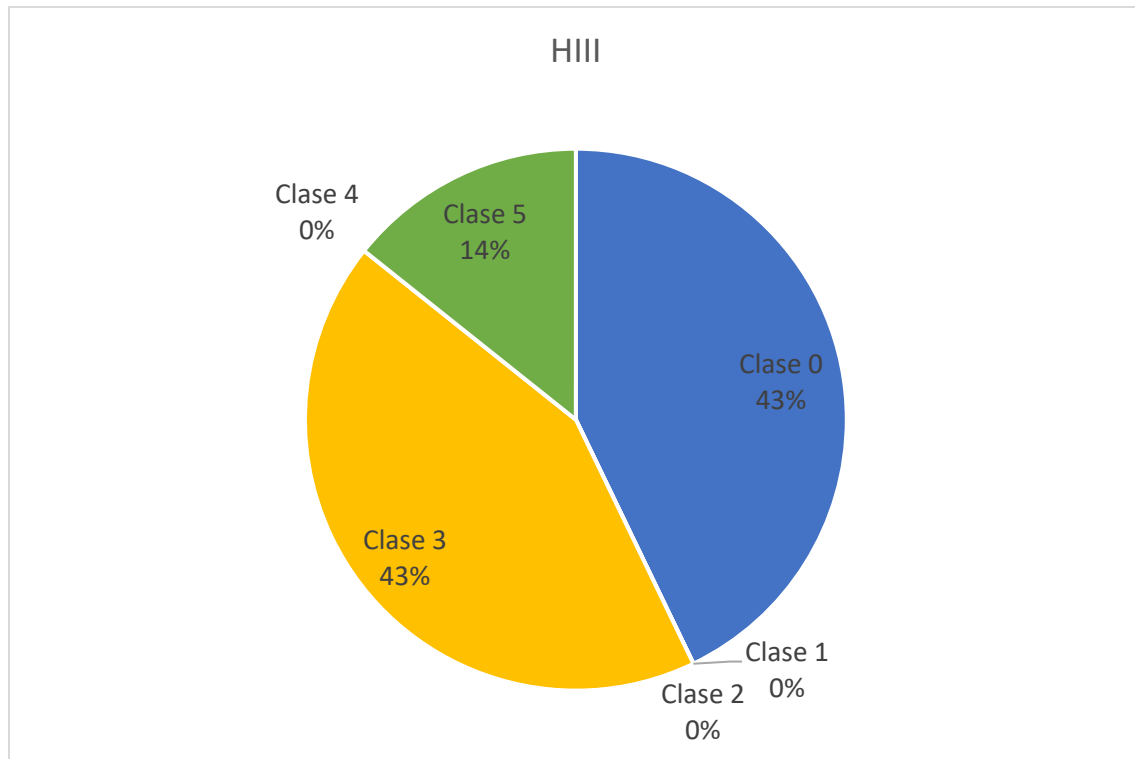
En la Gráfica 2 se representa, mediante un gráfico de pastel, la distribución porcentual del hongo *Aspergillus niger* en cada una de las clases de antagonismo evaluadas. La Clase 0 correspondió al 29 % de los ensayos, en los cuales no se observó crecimiento suficiente para valorar la interacción. La Clase 1 representó el 14 %, indicando invasión completa del antagonista sobre el aislado. De igual manera, el 14 % se ubicó en la Clase 2, donde el antagonista avanzó aproximadamente dos tercios de la superficie de la caja Petri. La Clase 3 concentró el 29 % de los ensayos, caracterizados por un avance del antagonista equivalente al 50 % de la superficie. No se registraron casos en la Clase 4 (0 %), en la que el aislado coloniza dos tercios del medio. Finalmente, el 14 % se clasificó en la Clase 5, categoría que indica la colonización total del aislado sobre la superficie del cultivo.

Gráfica 3. Porcentaje en clases de *Beauveria bassiana*



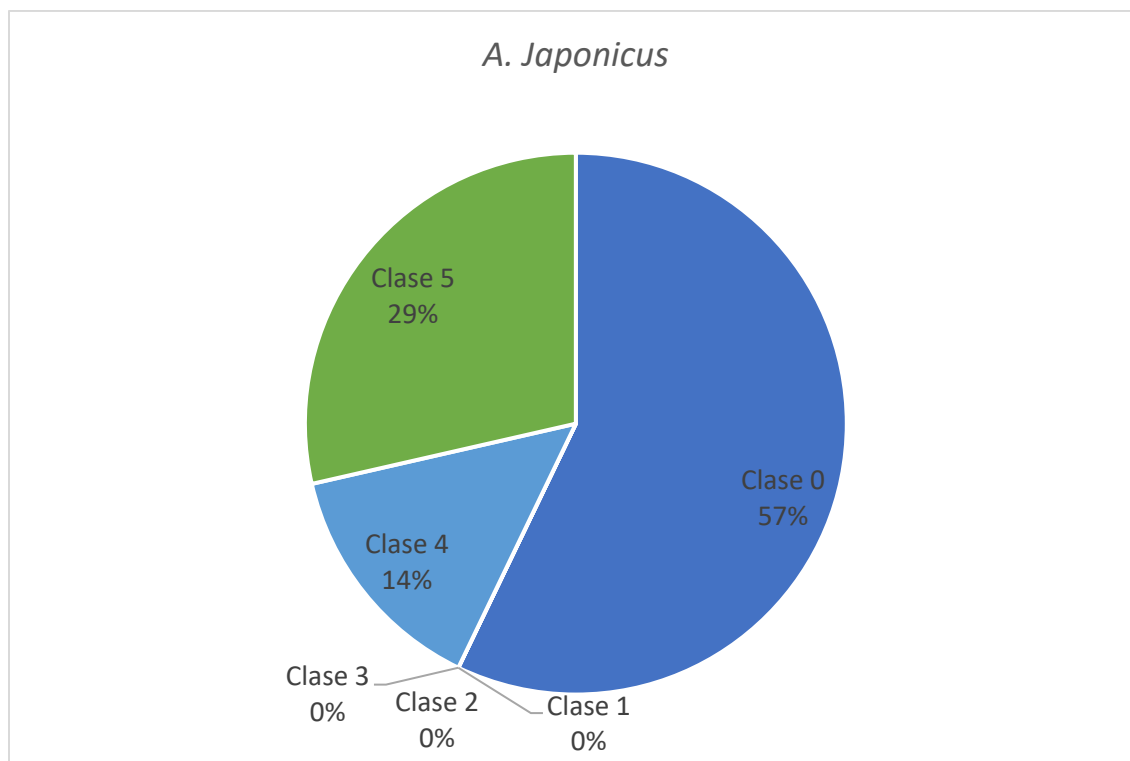
En la Gráfica 3 se muestra, mediante un gráfico de pastel, la distribución porcentual de *Beauveria bassiana* en cada una de las clases de antagonismo evaluadas. La Clase 0 concentró el 43 % de los ensayos, en los cuales no se registró crecimiento suficiente para valorar la interacción. No se observaron casos en las Clases 1 y 2 (0 %), que corresponden a una invasión completa o parcial (dos tercios) del antagonista sobre el aislado. La Clase 3 también representó el 43 %, indicando un avance del antagonista equivalente al 50 % de la superficie de la caja Petri. No se reportaron resultados en la Clase 4 (0 %), en la que el aislado coloniza dos tercios del medio. Finalmente, el 14 % de los ensayos se ubicó en la Clase 5, categoría que indica que el aislado cubrió por completo la superficie del cultivo.

Gráfica 4. Porcentaje en clases de HIII



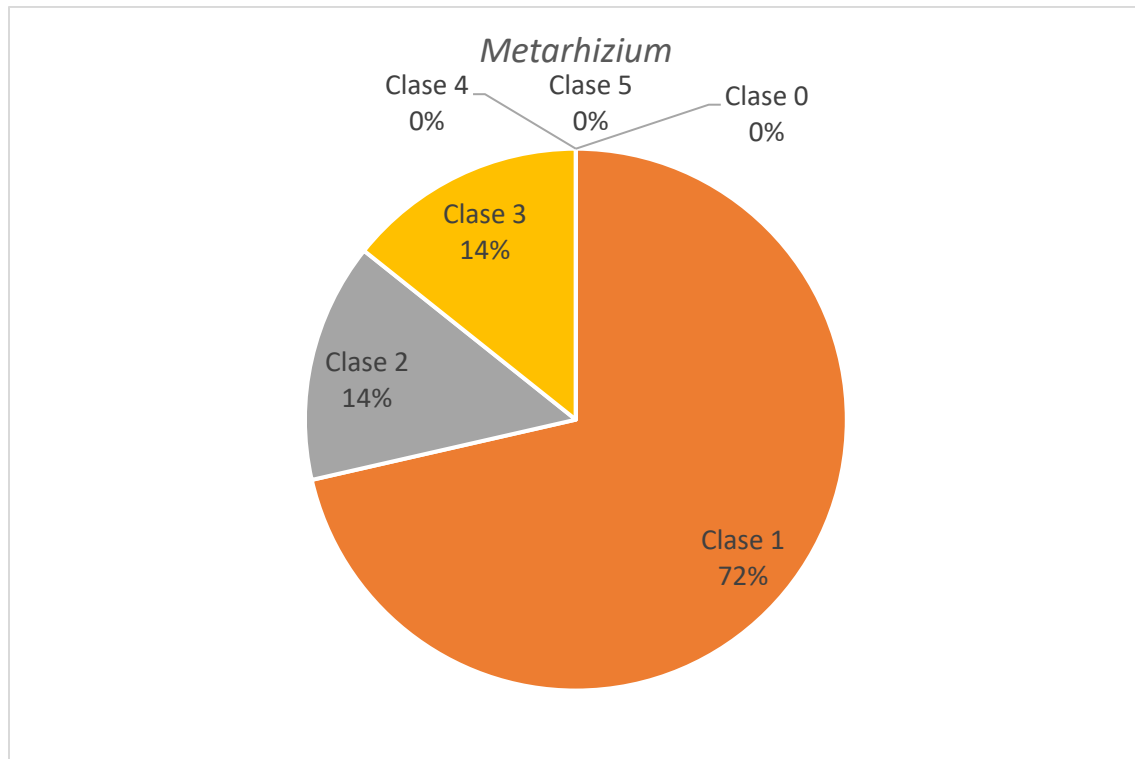
En la Gráfica 4 se muestra, mediante un gráfico de pastel, la distribución porcentual del hongo HIII en cada una de las clases de antagonismo evaluadas. La Clase 0 representó el 43 % de los ensayos, en los cuales no se registró crecimiento suficiente para valorar la interacción. No se obtuvieron resultados en las Clases 1 y 2 (0 %), que corresponden a la invasión completa o parcial (dos tercios) del antagonista sobre el aislado. La Clase 3 también concentró el 43 %, indicando que el antagonista avanzó aproximadamente el 50 % de la superficie de la caja Petri. No se observaron casos en la Clase 4 (0 %), en la que el aislado coloniza dos tercios del medio. Finalmente, el 14 % de los ensayos se ubicó en la Clase 5, categoría que indica la colonización completa del aislado sobre la superficie del cultivo.

Gráfica 5. Porcentaje en clases del hongo *A. japonicus*



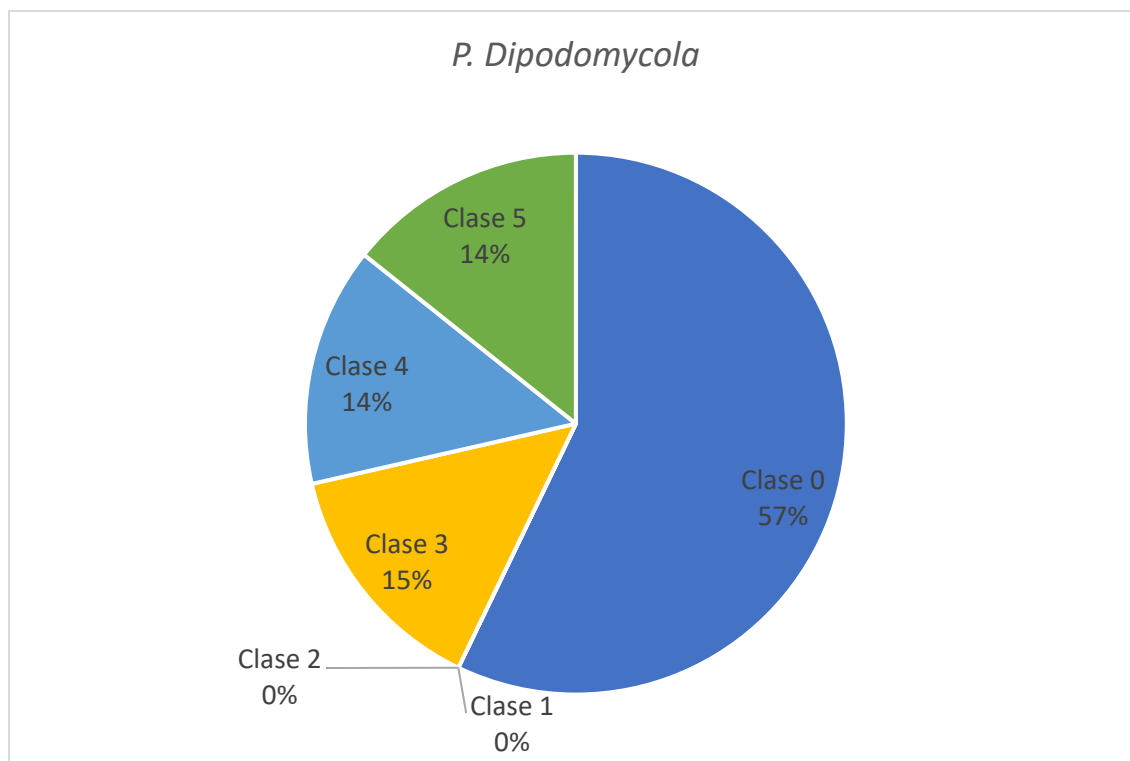
En la Gráfica 5 se presenta, mediante un gráfico de pastel, la distribución porcentual del hongo *Aspergillus japonicus* en cada una de las clases de antagonismo evaluadas. La Clase 0 correspondió al 57 % de los ensayos, en los cuales no se registró crecimiento suficiente para valorar la interacción. No se obtuvieron resultados en las Clases 1, 2 y 3 (0 %), que representan la invasión completa, parcial (dos tercios) o del 50 % del antagonista sobre el aislado. La Clase 4 abarcó el 14 % de los ensayos, indicando que el aislado colonizó aproximadamente dos tercios de la superficie del medio. Finalmente, el 29 % se ubicó en la Clase 5, categoría que corresponde a la colonización total del aislado sobre la superficie de la caja Petri.

Gráfica 6. Porcentaje en clases de *Metarhizium*



En la Gráfica 6 se muestra, mediante un gráfico de pastel, la distribución porcentual del hongo *Metarhizium* en cada una de las clases de antagonismo evaluadas. No se registraron casos en la Clase 0 (0 %), por lo que todos los ensayos presentaron crecimiento suficiente para su valoración. La Clase 1 representó el 72 % de los ensayos, indicando un antagonismo máximo, caracterizado por el sobrecrecimiento completo del antagonista sobre el aislado. La Clase 2 concentró el 14 % de los resultados, donde el antagonista avanzó aproximadamente dos tercios de la superficie del medio, mientras que la Clase 3 también aportó el 14 %, correspondiente a un avance del 50 %. No se observaron casos en las Clases 4 y 5 (0 %), que representan la colonización parcial o total por parte del aislado.

Gráfica 7. Porcentaje en clases de *P. dipodomycola*



En la Gráfica 7 se presenta, mediante un gráfico de pastel, la distribución porcentual del hongo *Penicillium dipodomycola* en cada una de las clases de antagonismo evaluadas. La Clase 0 abarcó el 57 % de los ensayos, en los cuales no se observó crecimiento suficiente para valorar la interacción. No se registraron casos en las Clases 1 y 2 (0 %), que corresponden a la invasión completa o parcial (dos tercios) por parte del antagonista. La Clase 3 representó el 15 % de los ensayos, indicando un avance del antagonista equivalente al 50 % de la superficie de la caja Petri. Por su parte, las Clases 4 y 5 concentraron cada una el 14 %, categorías que reflejan la colonización parcial (dos tercios) o total del aislado sobre el medio de cultivo.

Gráfico 8. Mapa de calor que evalúa del grado de antagonismo de hongos entomopatógenos contra fitopatógenos aislados de *Rosa spp.* a las 72 horas de incubación.

	A.Niger	Bauveria bassiana	A. Japonicus	Metarizum	HIII	P. Dipodomycola	Total	P-valor	
Clase	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	0.036 *	Escala color
0	2(29)	3(43)	4(57)	0(0.0)	3(43)	4(58)	16(38)		0
1	1(14)	0(0.0)	0(0.0)	5(72)	0(0.0)	0(0.0)	6(14)		1
2	1(14)	0(0.0)	0(0.0)	1(14)	0(0.0)	0(0.0)	2(5)		2
3	2(29)	3(43)	0(0.0)	1(14)	3(43)	1(14)	10(24)		3
4	0(0.0)	0(0.0)	1(14)	0(0.0)	0(0.0)	1(14)	2(5)		4
5	1(14)	1(14)	2(29)	0(0.0)	1(14)	1(14)	6(14)		5
Total	7(100)	7(100)	7(100)	7(100)	7(100)	7(100)	42(100)		

En el Gráfico 8 se presenta un mapa de calor (heatmap) que ilustra el grado de antagonismo de los hongos evaluados según la cantidad de ensayos en cada clase. La intensidad del color se interpreta de la siguiente manera: verde muy intenso corresponde a 5 ensayos, verde intenso a 4 ensayos, verde intermedio a 3 ensayos, verde claro a 2 ensayos, verde muy claro a 1 ensayo y blanco indica 0 ensayos. De acuerdo con esta escala, *Metarhizium* fue el único hongo que presentó un verde muy intenso en la Clase 1, lo que evidencia su predominancia en el antagonismo completo. *Aspergillus japonicus* y *Penicillium dipodomycola* mostraron un verde intenso en la Clase 0, indicando una mayor frecuencia de ensayos sin interacción efectiva. *Beauveria bassiana* y el aislado HIII registraron tonos verdes intermedios en las Clases 0 y 3, asociados a niveles bajos y moderados de avance del antagonista. *Aspergillus niger* presentó tonos de verde claro en las Clases 0 y 3, lo que refleja una distribución similar, aunque con menor frecuencia. La marcada intensidad de color observada en *Metarhizium* confirma su mejor desempeño antagónico, dado que su crecimiento limita eficazmente el desarrollo del aislado,

una característica de importancia para su posible uso en programas de control biológico de plagas.

Tabla 5. "Evaluación de la capacidad de resistencia de un fitopatógeno al antagonismo ejercido por un hongo entomopatógeno"

	PII	HI	HII	PIII	CI	PI	CII	Total	
	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	P-valor
Indeterminado	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	3(50)	4(66)	4(66)	5(83)	16(38)	<0.001*
<i>Sensible al antagonismo</i>	1(17)	0(0.0)	1(17)	2(33)	1(17)	2(34)	1(17)	8(19)	
<i>Resistente al antagonismo</i>	5(83)	6(100)	5(83)	1(17)	1(17)	0(0.0)	0(0.0)	18(43)	
Total	6(100)	6(100)	6(100)	6(100)	6(100)	6(100)	6(100)	42(100)	

Abreviaturas: %(porcentaje) n(número), *A. Niger* (*Aspergillus Niger*), *A. Japonicus* (*Aspergillus Japonicus*), *P. Dipodomyicola* (*Penicillium Dipodomyicola*).

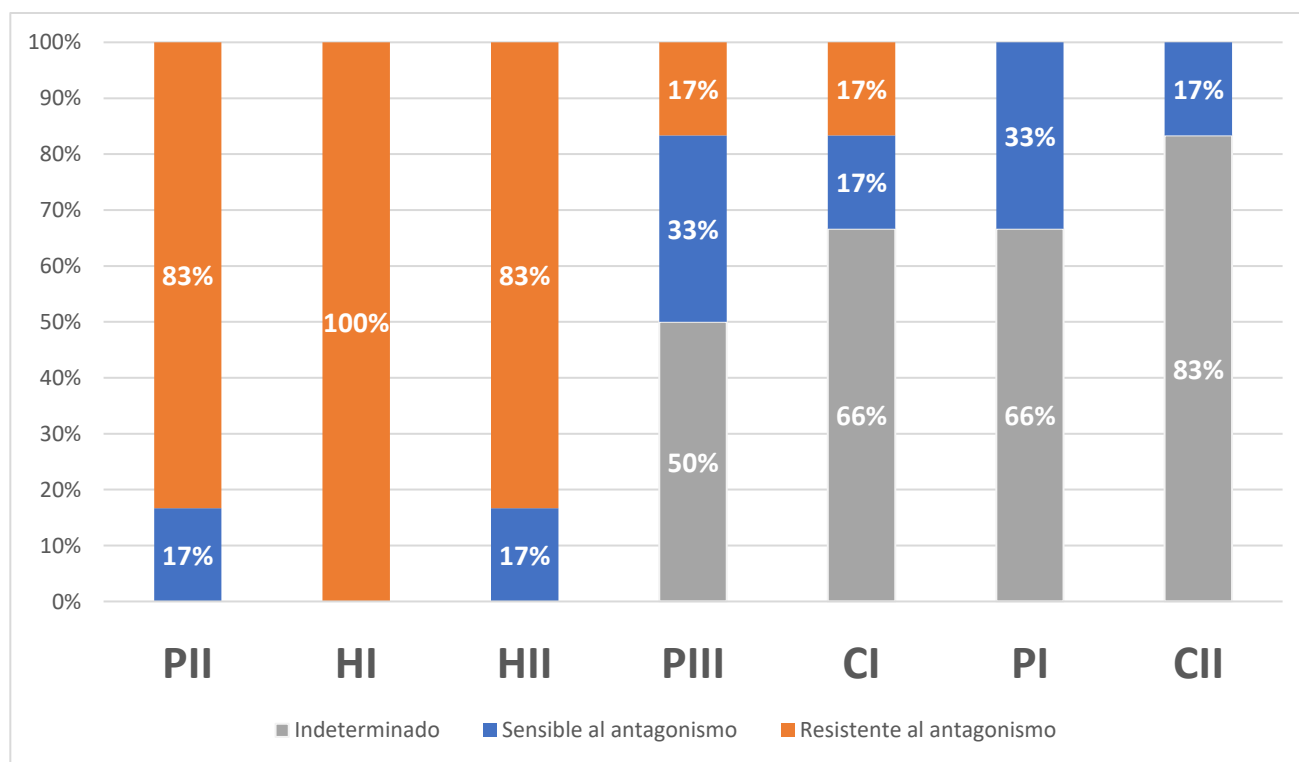
* Exacta de Fisher (p<0.05)

En la Tabla 5 se presenta la evaluación de la capacidad de resistencia de los hongos fitopatógenos frente al antagonismo ejercido por los hongos entomopatógenos, clasificándose los resultados en tres categorías: Indeterminado, Sensible al antagonismo y Resistente al antagonismo. Cada hongo aislado fue evaluado en un total de seis ensayos (100 %).

Los hongos aislados PIII, HI y HII destacaron por mostrar una mayor proporción de ensayos en la categoría de Resistencia al antagonismo, lo que indica que los hongos entomopatógenos presentaron un efecto fungicida limitado frente a estos organismos.

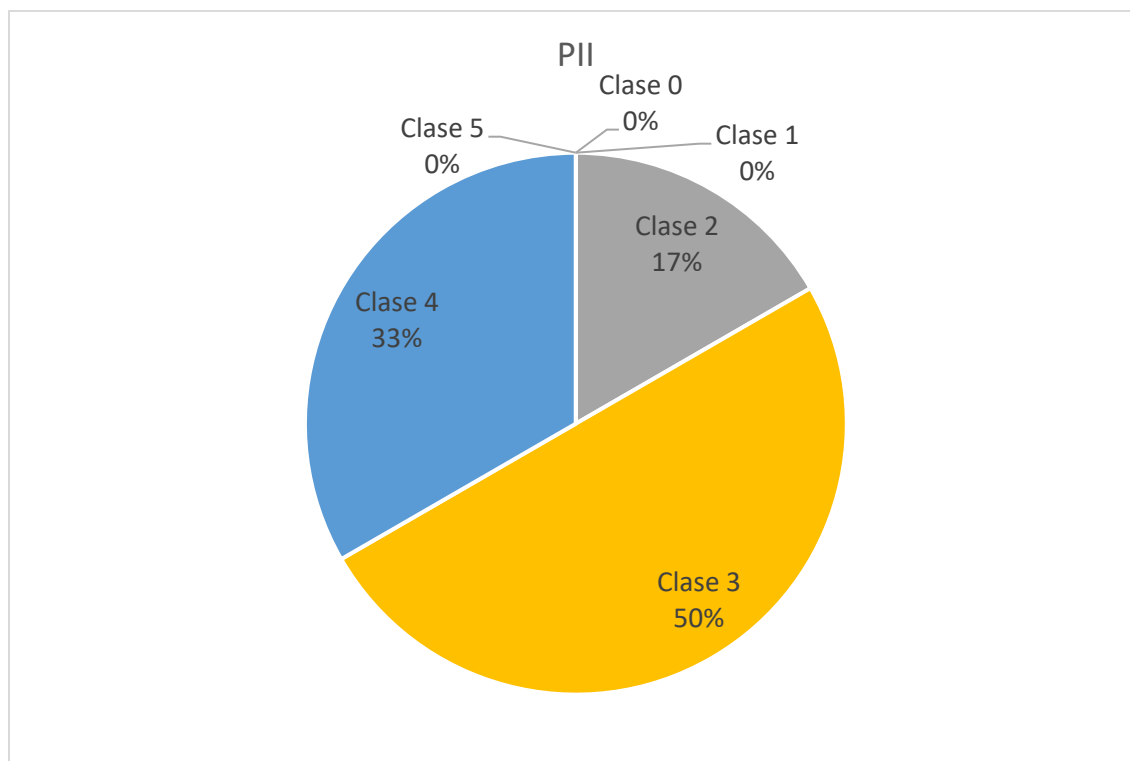
La prueba exacta de Fisher evidenció una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos (p<0.001), lo cual confirma que la capacidad de resistencia difiere de manera consistente entre los aislados evaluados.

Gráfica 9. *Evaluación del grado de resistencia de los hongos aislados.*



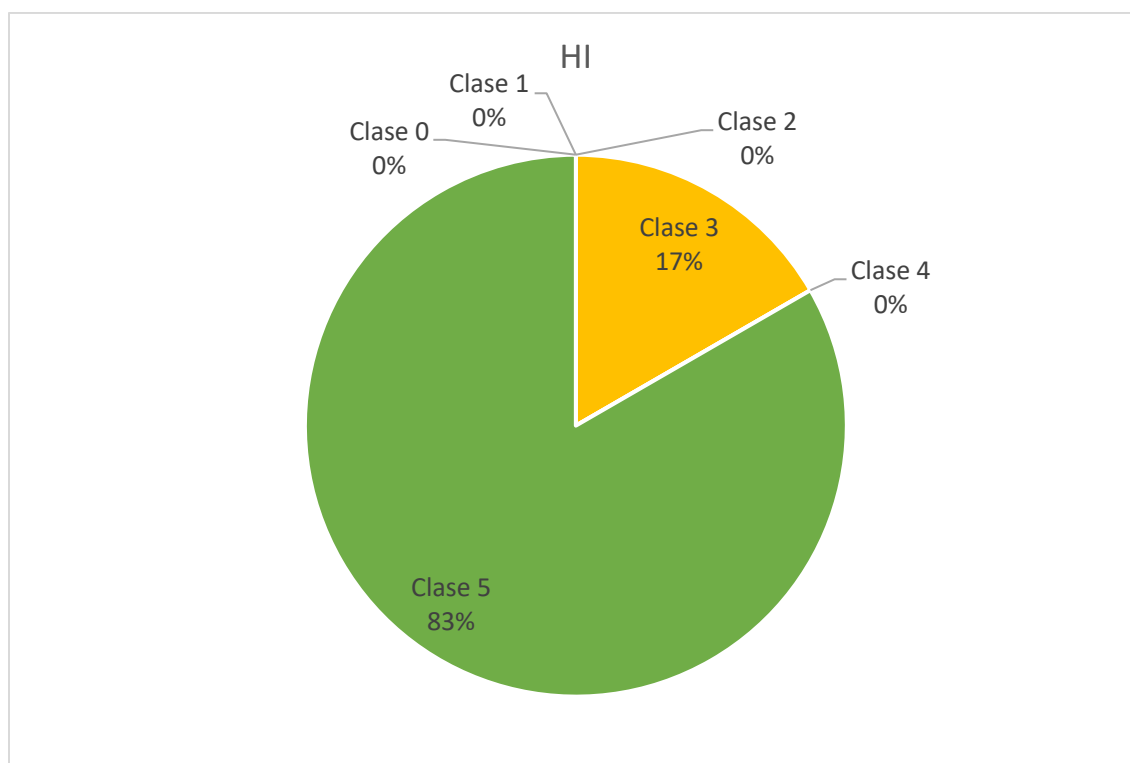
En la Gráfica 9 se muestra la evaluación de la resistencia de los hongos aislados a las 72 horas de incubación. El color gris representa el porcentaje de ensayos clasificados como indeterminados, es decir, aquellos en los que no se observó un punto de encuentro entre el aislado y el hongo antagonista, lo que impidió valorar la interacción. El color azul corresponde al porcentaje de sensibilidad al antagonismo, donde el hongo antagonista logró inhibir parcial o totalmente el crecimiento del aislado. El color naranja indica el porcentaje de resistencia al antagonismo, categoría en la que el aislado superó o no fue afectado por el antagonista. De acuerdo con la distribución mostrada, el aislado HI presentó un 100% de resistencia, lo que significa que ninguno de los hongos entomopatógenos evaluados ejerció efecto fungicida sobre él.

Gráfica 10. Porcentaje en clases del hongo PII



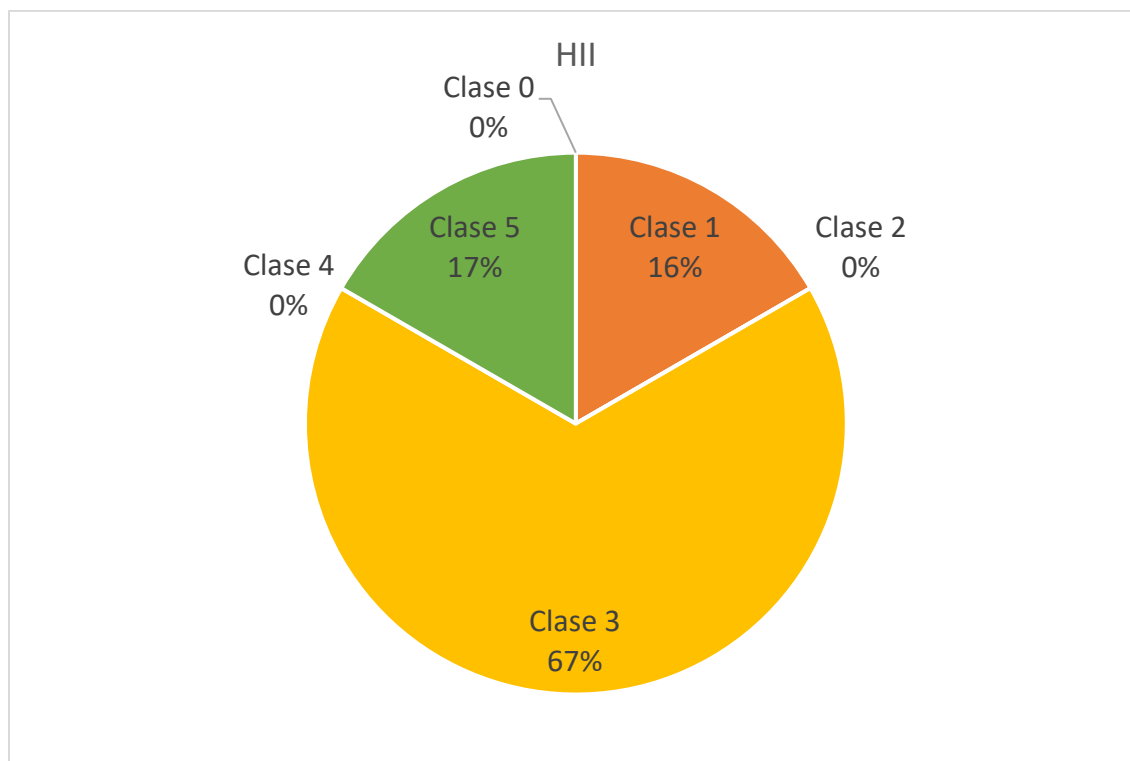
En la Gráfica 10 se presenta, mediante un gráfico de pastel, la distribución porcentual del hongo PII en cada una de las clases de antagonismo evaluadas. No se registraron casos en la Clase 0 (0 %), por lo que todos los ensayos contaron con crecimiento suficiente para su valoración. La Clase 1 también presentó un 0 %, indicando que en ningún ensayo el antagonista logró un sobrecrecimiento completo sobre el aislado. En la Clase 2 se concentró el 17 % de los ensayos, donde el antagonista avanzó aproximadamente dos tercios de la superficie de la caja Petri. La Clase 3 representó el 50 %, indicando que en la mitad de los ensayos el antagonista alcanzó alrededor del 50 % del medio. Finalmente, el 33 % se clasificó en la Clase 4, categoría que corresponde a la colonización de dos tercios del cultivo por parte del aislado, mientras que no se observaron casos en la Clase 5 (0 %), que refleja la colonización total del aislado.

Gráfica 11. Porcentaje en clases del aislado HI



En la Gráfica 11 se presenta, mediante un gráfico de pastel, la distribución porcentual del hongo HI en cada una de las clases de antagonismo evaluadas. No se registraron casos en las Clases 0, 1 y 2 (0 %), lo que indica que en ningún ensayo se observó crecimiento insuficiente para la valoración, ni tampoco se presentó sobrecrecimiento completo o parcial del antagonista sobre el aislado. La Clase 3 representó el 17 % de los ensayos, en los cuales el antagonista avanzó aproximadamente el 50 % de la superficie de la caja Petri. No se observaron casos en la Clase 4 (0 %), correspondiente a la colonización de dos tercios del medio por parte del aislado. Finalmente, el 83 % de los ensayos se ubicó en la Clase 5, categoría que indica la colonización total del aislado, lo que refleja una marcada resistencia al antagonismo.

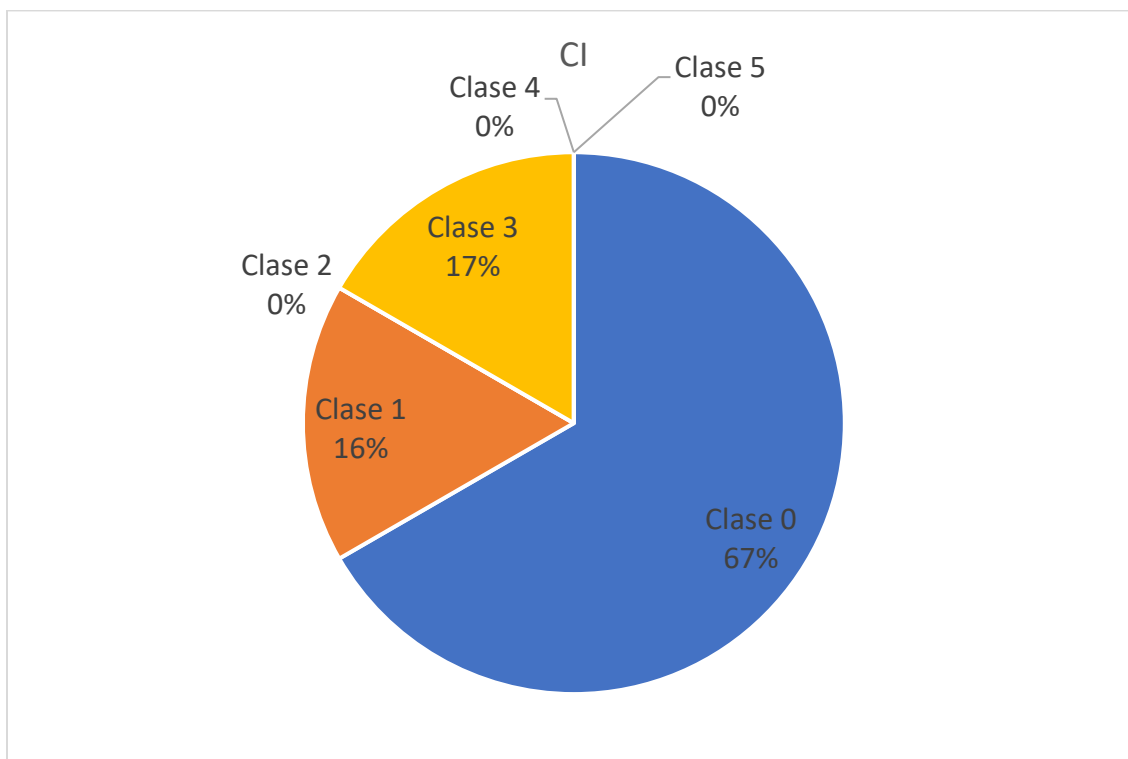
Gráfica 12. Porcentaje en clases del aislado HII



En la Gráfica 12 se presenta, mediante un gráfico de pastel, la distribución porcentual del hongo HII en cada una de las clases de antagonismo evaluadas. No se registraron casos en la Clase 0 (0 %), por lo que todos los ensayos mostraron crecimiento suficiente para su valoración. La Clase 1 representó el 16 % de los ensayos, indicando que en esta proporción el antagonista logró un sobrecrecimiento completo sobre el aislado. No se observaron resultados en la Clase 2 (0 %), correspondiente a la invasión de dos tercios por parte del antagonista. La Clase 3 concentró el 67 % de los ensayos, donde el antagonista avanzó aproximadamente la mitad de la superficie de la caja Petri. No se presentaron casos en la Clase 4 (0 %), que indica colonización de dos tercios por parte del aislado. Finalmente, el 17 % de los ensayos se ubicó

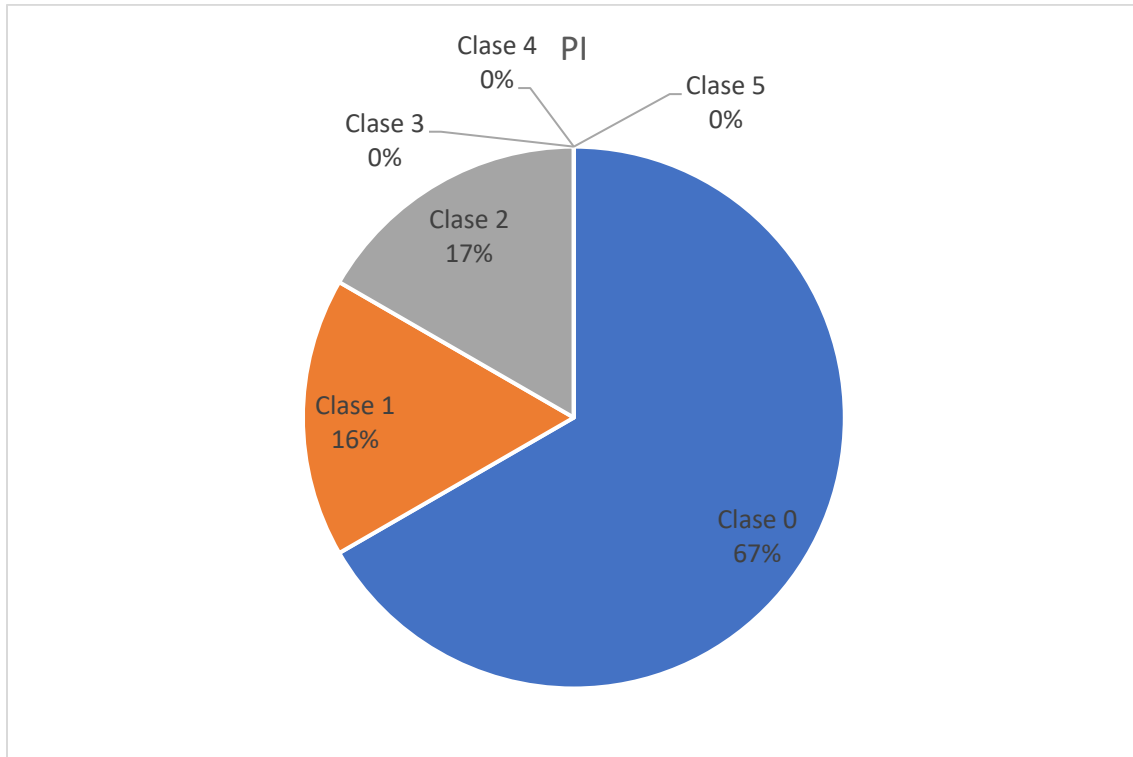
en la Clase 5, categoría que corresponde a la colonización total del aislado sobre el medio de cultivo.

Gráfica 13. *Porcentaje en clases del hongo aislado CI*



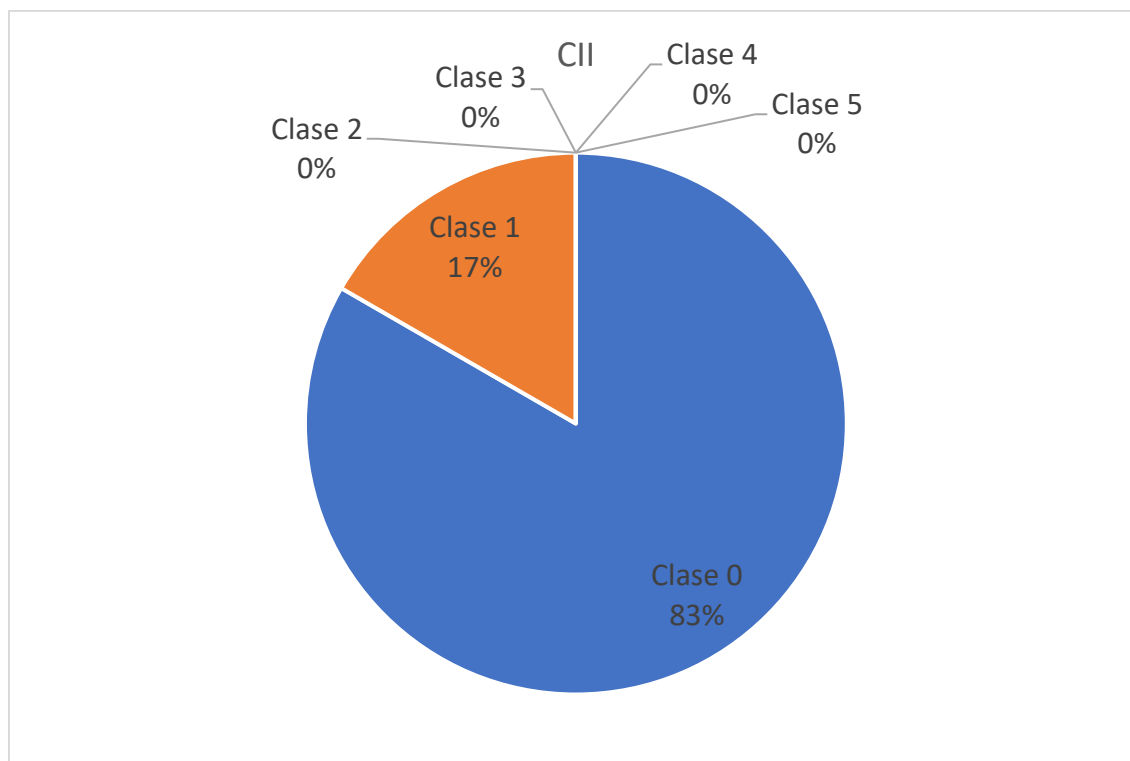
En la Gráfica 13 se presenta, mediante un gráfico de pastel, la distribución porcentual del hongo CI en cada una de las clases de antagonismo evaluadas. La Clase 0 representó el 67 % de los ensayos, en los cuales no se registró crecimiento suficiente para valorar la interacción. La Clase 1 concentró el 16 % de los resultados, indicando que en esta proporción el antagonista logró un sobrecrecimiento completo sobre el aislado. No se obtuvieron casos en la Clase 2 (0 %), correspondiente a la invasión de dos tercios por parte del antagonista. La Clase 3 abarcó el 17% de los ensayos, donde el antagonista avanzó aproximadamente la mitad de la superficie del medio. No se registraron resultados en las Clases 4 y 5 (0 %), que representan la colonización parcial o total del aislado, respectivamente.

Gráfica 14. Porcentaje en clases del aislado PI



En la Gráfica 14 se presenta, mediante un gráfico de pastel, la distribución porcentual del hongo PI en cada una de las clases de antagonismo evaluadas. La Clase 0 concentró el 67 % de los ensayos, en los cuales no se registró crecimiento suficiente para valorar la interacción. La Clase 1 representó el 16 % de los resultados, indicando que en esta proporción el antagonista logró un sobrecrecimiento completo sobre el aislado. En la Clase 2 se ubicó el 17 % de los ensayos, donde el antagonista avanzó aproximadamente dos tercios de la superficie del medio. No se observaron casos en las Clases 3, 4 y 5 (0 %), que corresponden a la invasión del 50 % por parte del antagonista, así como a la colonización parcial o total por parte del aislado.

Gráfica 15. Porcentaje en clases del aislado CII



En la Gráfica 15 se presenta, mediante un gráfico de pastel, la distribución porcentual del hongo *Metarhizium* en cada una de las clases de antagonismo evaluadas. La Clase 0 representó el 83 % de los ensayos, en los cuales no se observó crecimiento suficiente para valorar la interacción. La Clase 1 concentró el 17 % de los resultados, indicando que en esta proporción el antagonista logró un sobrecrecimiento completo sobre el aislado. No se registraron casos en las Clases 2, 3, 4 y 5 (0 %), correspondientes a grados de invasión parcial del antagonista o a colonización del medio por parte del aislado.

Tabla 6. Determinación del grado de resistencia de fitopatógeno al antagonismo ejercido por un hongo entomopatógeno

	PII	HI	HII	PIII	CI	PI	CII	Total	
Clase	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	P-valor
0	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	3(50)	4(66)	4(66)	5(83)	16(38)	<0.001*
1	0(0.0)	0(0.0)	1(17)	2(33)	1(17)	1(17)	1(17)	6(14)	
2	1(17)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	1(17)	0(0.0)	2(5)	
3	3(50)	1(17)	4(66)	1(17)	1(17)	0(0.0)	0(0.0)	10(24)	
4	2(33)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	2(5)	
5	0(0.0)	5(83)	1(17)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	6(14)	
Total	6(100)	6(100)	6(100)	6(100)	6(100)	6(100)	6(100)	42(100)	

Abreviaturas: %(porcentaje) n(número), A. Niger (Aspergillus Niger), A. Japonicus (Aspergillus Japonicus), P. Dipodomycola (Penicillium Dipodomycola).

* Exacta de Fisher (p<0.05).

En la Tabla 6 se presenta el grado de antagonismo evaluado de acuerdo con la escala propuesta por Bell et al. (1982) y Askew y Laing (1994), la cual clasifica el avance del crecimiento de los hongos en seis categorías. La Clase 0 corresponde a ensayos sin crecimiento suficiente para ser evaluados, sin invasión de uno u otro hongo. La Clase 1 indica un antagonismo máximo, en el que el hongo antagonista sobrecrece por completo al aislado y cubre la superficie de la caja Petri. La Clase 2 representa una invasión de aproximadamente dos tercios del medio por parte del antagonista, mientras que la Clase 3 señala un avance cercano al 50 %. Las Clases 4 y 5 corresponden a la colonización por parte del hongo aislado, ya sea de dos tercios (Clase 4) o de la totalidad del medio de cultivo (Clase 5).

La prueba exacta de Fisher mostró una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos, lo que confirma variaciones reales en el grado de antagonismo entre los hongos evaluados. Con base en estos resultados, el aislado HI destacó por presentar la mayor

resistencia a los hongos antagonistas, ya que en cinco de los ensayos (83 %) alcanzó un crecimiento rápido que le permitió colonizar completamente el medio de cultivo.

Gráfico 16. *Determinación del grado de resistencia de fitopatógeno al antagonismo ejercido por un hongo entomopatógeno.*

	PII	HI	HII	PIII	CI	PI	CII	Total		
Clase	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	P-valor	Escala color
0	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	3(50)	4(66)	4(66)	5(83)	16(38)	<0.001*	0
1	0(0.0)	0(0.0)	1(17)	2(33)	1(17)	1(17)	1(17)	6(14)		1
2	1(17)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	1(17)	0(0.0)	2(5)		2
3	3(50)	1(17)	4(66)	1(17)	1(17)	0(0.0)	0(0.0)	10(24)		3
4	2(33)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	2(5)		4
5	0(0.0)	5(83)	1(17)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	6(14)		5
Total	6(100)	6(100)	6(100)	6(100)	6(100)	6(100)	6(100)	42(100)		

* Exacta de Fisher (p<0.05)

En el Gráfico 16 se presenta un mapa de calor (heatmap) que muestra el grado de resistencia de los hongos fitopatógenos frente al antagonismo ejercido por los hongos entomopatógenos, de acuerdo con la cantidad de ensayos registrados en cada clase. La intensidad del color se interpreta de la siguiente manera: verde muy intenso corresponde a 5 ensayos, verde intenso a 4 ensayos, verde intermedio a 3 ensayos, verde claro a 2 ensayos, verde muy claro a 1 ensayo y blanco indica 0 ensayos. El aislado HI destaca con un verde muy intenso en la Clase 5, lo que confirma que presentó la mayor resistencia al antagonismo. El aislado CII muestra un verde muy intenso en la Clase 0, indicando ausencia de crecimiento suficiente para evaluar la interacción. Los aislados CI y PI exhiben tonos de verde intenso en la Clase 0, reflejando una tendencia similar. Por su parte, HII presenta un verde intenso en la Clase 3, lo que indica un nivel intermedio de resistencia. El resto de los aislados muestran colores que varían entre verde intermedio y blanco, lo que evidencia una menor resistencia relativa. La prueba exacta de Fisher arrojó un resultado estadísticamente significativo ($p < 0.001$), lo que confirma diferencias reales entre los patrones de resistencia observados.

8. Discusión de resultados

8.1 Aislamientos

El aislamiento de los hongos se realizó mediante la siembra directa de tejido vegetal en un medio de cultivo. Para ello, se seleccionaron pequeños fragmentos provenientes de las zonas con lesiones visibles y se colocaron sobre el agar, con el fin de favorecer el desarrollo de los microorganismos asociados al daño. Si bien existen otras técnicas de aislamiento de fitopatógenos, como la cámara húmeda —la cual proporciona condiciones controladas de temperatura y humedad que inducen el crecimiento y manifestación de signos fúngicos presentes en las muestras, permitiendo posteriormente su aislamiento, caracterización, preservación e identificación— (Muñoz, Cisterna, & France, 2020), en este estudio se optó por la siembra directa del tejido vegetal afectado. Esta decisión respondió a las condiciones específicas del laboratorio donde se desarrolló la investigación, y permitió obtener de manera eficiente los hongos asociados al material vegetal enfermo..

8.2 Microcultivos

Los microcultivos realizados con los hongos aislados tuvieron como objetivo favorecer el desarrollo de estructuras vegetativas y reproductivas que permitieran su identificación morfológica. Para ello se empleó la técnica de microcultivo con tinción de azul de lactofenol. Sin embargo, la identificación no fue posible debido al rápido crecimiento de los hongos, lo que generó una aglomeración de micelio que dificultó la observación de estructuras diagnósticas. Adicionalmente, la saturación del colorante impidió distinguir con claridad las características reproductivas necesarias para una identificación taxonómica confiable.

Es importante señalar que la dificultad para identificar los aislados se reflejó posteriormente en los patrones de antagonismo y resistencia observados en este estudio. Por ejemplo, aislados como HI y HII mostraron un comportamiento diferencial en los ensayos de confrontación: HI presentó 83 % de colonización total (Clase 5), lo que lo posiciona como el aislado con mayor resistencia frente a los hongos entomopatógenos (Tabla 6; Gráfico 11). HII, por su parte, mostró un predominio en la Clase 3 (67 %), indicando niveles intermedios de resistencia. En contraste, aislados como CII y CI registraron altos porcentajes en Clase 0 (67 % y 67 %, respectivamente), lo que refleja un crecimiento insuficiente para valorar el antagonismo (Gráficos 12 y 13).

Dado que las limitaciones técnicas en el laboratorio no permitieron la aplicación de metodologías más avanzadas, no fue posible complementar esta aproximación con técnicas moleculares de identificación, como la secuenciación de la región ITS (Internal Transcribed Spacer), ampliamente utilizada para la identificación fúngica por su ubicación entre los genes 18S rRNA, 5.8S rRNA y 28S rRNA (Maldonado Bonilla, Sánchez Espinosa, & Villarruel Ordaz, 2024). Esta técnica permite realizar comparaciones en bases de datos especializadas para determinar el porcentaje de identidad y asignar género y especie con precisión, pero su implementación requiere equipo y materiales que no se encontraban disponibles.

Debido a estas limitaciones, en este trabajo los hongos se describen operacionalmente como “aislados”, ya que no es posible confirmar su carácter fitopatógeno únicamente con base en su morfología macroscópica. No obstante, algunas características visibles sugieren posibles afinidades taxonómicas. Por ejemplo, uno de los aislados (HIII) presentó un patrón de crecimiento y pigmentación compatible con *Trichoderma spp.*, aunque esta asignación no puede considerarse definitiva sin evidencia molecular.

8.3 Confrontación con *Trichoderma spp*

Trichoderma spp. es un hongo ampliamente reconocido por su capacidad fungicida y su eficacia como agente de control biológico en diversos cultivos agrícolas. Aunque su interacción con patógenos asociados al rosal ha sido poco estudiada, en esta investigación se incluyó para evaluar su comportamiento frente a los hongos aislados obtenidos del tejido vegetal afectado.

Los ensayos de confrontación mostraron que *Trichoderma spp.* presentó un crecimiento rápido y consistente, logrando invadir de manera temprana la superficie del medio y limitando de forma clara el desarrollo de los aislados. En varios casos, su avance fue lo suficientemente marcado como para impedir la valoración completa del antagonismo con otros hongos, pero sí permitió confirmar su capacidad competitiva inicial. Este comportamiento es congruente con los mecanismos previamente descritos para el género, los cuales incluyen antibiosis, competencia por nutrientes y espacio, así como micoparasitismo directo (Cortés Hernández, Alvarado Castillo, & Sánchez Viveros, 2023).

Aunque *Trichoderma* no fue incluido de manera cuantitativa en el análisis estadístico junto con los hongos entomopatógenos —cuyos resultados sí se representaron en las Tablas 3 a 6 y en los diversos gráficos—, la observación cualitativa de su interacción reveló que fue uno de los antagonistas más eficientes en desplazar el crecimiento de los aislados. Esto coincide con la dinámica observada en hongos entomopatógenos como *Metarhizium*, que alcanzó una alta proporción de ensayos en la Clase 1 (72 %), indicando sobrecrecimiento completo del aislado (Gráfico 6).

La inclusión de *Trichoderma spp.* en esta etapa inicial permitió establecer una línea base de antagonismo, demostrando que los aislados derivados del rosal presentan distintos grados de

susceptibilidad y resistencia. Por ello, este hongo fungicida se consideró un punto de referencia útil para contextualizar los resultados obtenidos posteriormente con los demás antagonistas.

La razón principal para trabajar con este género fue, por tanto, evaluar su desempeño frente a los aislados obtenidos y determinar si estos mostraban patrones de resistencia similares o distintos a los observados con hongos entomopatógenos. Los resultados confirman que *Trichoderma spp.* es un antagonista altamente competitivo, lo que refuerza su potencial para futuras investigaciones aplicadas al control biológico de patógenos en rosales.

8.4 Confrontación con los demás antagonistas

Los hongos entomopatógenos evaluados mostraron comportamientos diferenciados frente a los aislados obtenidos del rosal, reflejando niveles variables de antagonismo y resistencia. Entre ellos, *Metarhizium anisopliae* destacó como el antagonista más eficaz, de acuerdo con los resultados presentados en las Tablas 3 y 4 y en los gráficos correspondientes. Este hongo registró el mayor número de ensayos en la Clase 1 (72 %), que representa el sobrecrecimiento completo del antagonista sobre el aislado (Gráfico 6), y concentró 86 % de antagonismo en los ensayos analizados (Tabla 3). Su desempeño quedó reforzado por la significancia estadística obtenida en las pruebas exactas de Fisher ($p < 0.05$), lo que confirma diferencias reales en la capacidad antagónica entre los hongos evaluados.

El mecanismo de acción de *Metarhizium anisopliae* es complejo y multifactorial. Además de su rápido crecimiento en medio de cultivo —claramente observado al desplazar a la mayoría de los aislados—, este hongo produce una amplia variedad de metabolitos secundarios bioactivos, entre los que se encuentran destruxinas, serinociclinas, metachelinas, fericrocina, metacridamidas, aurovertinas, cytochalasinas, swainsonina y viridoxinas, entre otros (Pavone,

2021). Estas moléculas poseen actividades diversas, incluyendo efectos citotóxicos, inhibición de enzimas como ATPasa, inmunosupresión y marcada acción insecticida, lo que ha consolidado a este organismo como un agente ampliamente utilizado en el control biológico de plagas agrícolas.

La fuerte actividad antagónica observada en este estudio frente a los aislados del rosal es congruente con el perfil bioquímico y ecológico de *M. anisopliae*, respaldando su capacidad para inhibir el crecimiento de otros hongos mediante competencia directa, antibiosis o ambos mecanismos simultáneamente. Esto se refleja visualmente en el mapa de calor del Gráfico 8, donde *Metarhizium* fue el único antagonista en presentar un verde muy intenso en la Clase 1, lo que confirma su predominio frente a los demás hongos evaluados.

En contraste, otros antagonistas mostraron un desempeño más limitado. *Beauveria bassiana* y el aislado HIII exhibieron valores predominantes en Clases 0 y 3, indicando antagonismo bajo o moderado (Gráficos 3 y 4), mientras que *Aspergillus japonicus* y *Penicillium dipodomycola* concentraron sus resultados principalmente en la Clase 0, lo cual señala que en una gran proporción de ensayos no hubo crecimiento suficiente para que el antagonismo fuera evaluado (Gráficos 5 y 7). *Aspergillus niger*, aunque mostró cierto nivel de antagonismo, distribuyó sus ensayos entre las Clases 0, 3 y 5 (Gráfico 2), lo que refleja una actividad menos consistente que la mostrada por *Metarhizium*.

En conjunto, los resultados confirman que *Metarhizium anisopliae* sobresale como el antagonista más efectivo, tanto por su capacidad para inhibir el crecimiento de los aislados del rosal como por el respaldo bioquímico de sus metabolitos. Esto lo posiciona como un hongo con un potencial considerable para futuras aplicaciones en programas de control biológico en rosales y otros cultivos de importancia agrícola.

8.5 Aislado HIII

El aislado HIII fue seleccionado para realizar confrontaciones con los demás hongos aislados debido a sus características macroscópicas, las cuales sugirieron su posible identidad como un *Trichoderma spp.*. Esta clasificación se plantea únicamente como una hipótesis, ya que no se contó con pruebas moleculares que permitieran confirmar su taxonomía. No obstante, su comportamiento en cultivo y su morfología coinciden con rasgos típicos del género.

En las placas de aislamiento, HIII mostró un crecimiento acelerado, con micelio abundante, de textura algodonosa y la aparición progresiva de tonalidades verde-oliva, características comúnmente asociadas a especies de *Trichoderma*. Asimismo, el medio de cultivo adquirió una coloración verdosa similar a la observada con los productos comerciales de *Trichoderma spp.* disponibles previamente en el laboratorio, lo que fortaleció su selección como candidato para la confrontación.

Los resultados obtenidos en los ensayos de antagonismo respaldan esta elección. De acuerdo con los gráficos correspondientes (Gráfico 4), HIII presentó una distribución notable de ensayos en las Clases 0 y 3, lo cual indica un comportamiento consistente con hongos de crecimiento rápido que, aunque dinámicos, no siempre ejercen antagonismo completo. En el análisis comparativo (Gráfico 8), HIII mostró tonalidades verdes intermedias, especialmente en las clases 0 y 3, comportamiento que sugiere capacidad antagónica moderada frente a los aislados, alineándose parcialmente con lo observado para *Trichoderma spp.* en otros estudios.

Aunque no se logró confirmar su identidad mediante técnicas moleculares —debido a limitaciones de infraestructura— su patrón de crecimiento, coloración y respuesta en

confrontación justifican su inclusión en el estudio como un posible *Trichoderma spp.* y permiten discutir su papel en la dinámica antagónica observada.

9. Conclusiones

En este estudio se logró aislar ocho hongos distintos a partir de tejido de *Rosa spp.* que presentaba signos visibles de daño asociado a actividad microbiana. Estos aislados representan posibles fitopatógenos, dado que su presencia coincidió con lesiones compatibles con procesos de deterioro vegetal. La metodología de aislamiento directo en medio de cultivo permitió obtener organismos viables para su posterior evaluación, demostrando la eficacia del protocolo empleado para el estudio inicial de fitopatógenos en sistemas agrícolas.

La evaluación del antagonismo mediante confrontaciones directas mostró que los hongos entomopatógenos empleados poseen potencial biotecnológico significativo como agentes de control biológico. En particular, las confrontaciones con *Trichoderma spp.* (incluyendo el aislado HIII, con características compatibles con este género) evidenciaron que este organismo fue capaz de limitar el crecimiento de varios de los aislados, reafirmando su utilidad ampliamente reconocida en el manejo de enfermedades vegetales. Los resultados macroscópicos observados en las placas indican que *Trichoderma spp.* mantiene un crecimiento rápido y competitivo, lo que sugiere su pertinencia para estudios aplicados en rosales afectados por hongos.

Entre todos los antagonistas evaluados, *Metarhizium anisopliae* destacó como el hongo con mejor capacidad antifúngica, logrando inhibir de manera efectiva a la mayoría de los aislados. Este resultado se sustenta en los hallazgos cuantitativos presentados: *M. anisopliae* registró 86% de antagonismo (Tabla 3) y una predominancia en la Clase 1 (72 %) del antagonismo

según la escala de Bell y Askew (Gráfico 6), con significancia estadística confirmada mediante la prueba exacta de Fisher ($p < 0.05$). La marcada intensidad observada en el mapa de calor (Gráfico 8) refuerza su superioridad respecto a otros hongos antagonistas.

Por otro lado, se identificó que algunos de los hongos aislados mostraron resistencia a múltiples antagonistas, como se evidencia en la Tabla 5 y en el mapa de calor del Gráfico 16. Destacan especialmente los aislados HI, HII y PI, que presentaron porcentajes elevados de crecimiento en las Clases 3, 4 y 5, e incluso resistencia absoluta en el caso de HI (100 % en Clase 5). Estos resultados (respaldados por la significancia estadística de la prueba de Fisher ($p < 0.00001$)) son fundamentales, ya que evidencian que ciertos aislados poseen mecanismos de resistencia que podrían dificultar su manejo en campo, subrayando la necesidad de estudios adicionales para su identificación taxonómica y su papel como fitopatógenos.

En conjunto, este protocolo experimental demuestra ser válido, reproducible y altamente relevante en el área de la biotecnología, ya que permite:

- Identificar hongos potencialmente fitopatógenos presentes en rosales.
- Evaluar el desempeño de antagonistas fúngicos con aplicación potencial en control biológico.
- Detectar perfiles de resistencia que pueden orientar futuras estrategias de manejo integral de enfermedades.
- Generar evidencia experimental para seleccionar candidatos viables (como *Metarhizium anisopliae* y *Trichoderma spp.*) con aplicaciones agrícolas sustentables.

Estos hallazgos sientan las bases para estudios posteriores orientados a la caracterización molecular de los aislados resistentes, la validación en condiciones de campo y el diseño de

estrategias biotecnológicas que integren el uso de hongos entomopatógenos como herramientas efectivas y ecológicamente responsables para la protección de cultivos ornamentales como el rosal.

Perspectivas

Los resultados obtenidos en este estudio abren diversas líneas de investigación que pueden fortalecer el entendimiento de las interacciones entre hongos fitopatógenos y antagonistas, así como su aplicación en biotecnología agrícola.

Una prioridad inmediata es la identificación molecular de los aislados, mediante el análisis de la región ITS u otros marcadores genéticos, con el fin de confirmar su taxonomía y establecer con precisión si se trata de hongos fitopatógenos asociados al deterioro en *Rosa spp.* Este paso es fundamental para correlacionar los patrones de antagonismo, sensibilidad y resistencia observados —particularmente en aislados como HI, HII y PI— con especies de relevancia agronómica.

Asimismo, los datos obtenidos sugieren la necesidad de llevar a cabo estudios orientados a elucidar los mecanismos de inhibición involucrados en la interacción entre los hongos entomopatógenos y los aislados. Los resultados de las confrontaciones, especialmente aquellos donde *Metarhizium anisopliae* mostró inhibición significativa ($p < 0.05$) y sobrecrecimiento categorizado en la Clase 1, indican que intervienen procesos como competencia por nutrientes, antibiosis y posiblemente micoparasitismo. Explorar experimentalmente estos mecanismos permitirá comprender con mayor precisión la base biológica del antagonismo observado.

Otra posible línea de investigación consiste en la identificación de las moléculas bioactivas responsables de la inhibición del crecimiento fúngico, tanto en *Metarhizium anisopliae* como en posibles *Trichoderma spp.* (incluyendo el aislado HIII). La literatura reporta la presencia de metabolitos como destruxinas, metacridamidas, swainsonina, cytochalasinas y viridoxinas, pero el perfil específico de metabolitos activos contra los hongos aislados del rosal no ha sido caracterizado. El análisis químico mediante técnicas como LC-MS/MS o HPLC permitiría identificar compuestos con potencial antifúngico de interés biotecnológico.

Propuestas de Aplicaciones Biotecnológicas

Con base en los hallazgos experimentales, este protocolo de confrontación fúngica se proyecta como una herramienta valiosa en el desarrollo de tecnologías sustentables para el manejo de enfermedades en cultivos ornamentales y agrícolas.

Algunas aplicaciones potenciales incluyen:

1. Desarrollo de biofungicidas a partir de *Metarhizium anisopliae*
 - a. Su desempeño sobresaliente en los ensayos, con 86 % de antagonismo y un predominio notable en la Clase 1, lo posiciona como un candidato sólido para generar formulaciones dirigidas al control de hongos que afectan a rosales.
 - b. La caracterización de sus metabolitos podría conducir a productos con actividad antifúngica específica.
2. Formulación de consorcios microbianos

- a. Al integrar hongos con distintos mecanismos de acción (e.g., *Metarhizium* + *Trichoderma*) podría diseñarse un sistema de control biológico más robusto y menos susceptible a la resistencia de ciertos aislados.
- 3. Desarrollo de kits de diagnóstico rápido para viveros y productores
 - a. Basados en la estandarización de técnicas de aislamiento y confrontación utilizadas en este estudio, permitiendo identificar la presencia de aislados resistentes como HI o PI antes de que se produzcan daños severos.
- 4. Optimización de protocolos de manejo integrado en rosales
 - a. La información generada sobre sensibilidad y resistencia fúngica puede incorporarse en estrategias de manejo integrado, reduciendo el uso de fungicidas químicos y favoreciendo alternativas ecológicas.
- 5. Uso del protocolo como modelo de enseñanza e investigación
 - a. La metodología desarrollada combina elementos de microbiología, micología, ecología microbiana y biotecnología, por lo que puede emplearse como plataforma formativa para estudiantes e investigadores.

Este protocolo permitió identificar hongos potencialmente fitopatógenos en rosales y evaluar de forma efectiva la capacidad antagonista de hongos entomopatógenos con relevancia biotecnológica. La metodología empleada demuestra ser útil para seleccionar candidatos con alto potencial, como *Metarhizium anisopliae* y *Trichoderma spp.*, para el desarrollo de biofungicidas. Además, posibilita detectar aislados resistentes y orientar estrategias futuras de control biológico más precisas, sustentables y aplicables en la agricultura ornamental.

10. Referencias

- Acosta, M., Pichardo, T., Roque, B., Cruz, M., Mena, E., Leiva, M., . . . Alvarado., Y. (2013). Antagonismo in vitro de *Trichoderma harzianum* Rifai contra *Mycosphaerella fijiensis* Morelet. *Biotecnología Vegetal* .
- Aragón, S. M., & Beltrán-Acosta, C. (2018). Los hongos endófitos en el control, Cap 19. En A. Marina-Cotes, *Control biológico de fitopatógenos, insectos y ácaros* (págs. 850-877). Colombia : AGROSAVIA.
- Arzate, A. M. (2014). *Técnicas tradicionales y biotecnológicas en el mejoramiento genético del rosal (Rosa spp.)*. México: ISBN: 978-607-422-547-1.
- Bernaola, L., & R. Holt, J. (2021). Incorporating Sustainable and Technological Approaches in Pest Management of Invasive Arthropod Species. *Annals of the Entomological Society of America*, 673–685.
- Beys-da-Silva, W. O., Santi, L., Berger, M., Calzolari, D., Passos, D. O., Guimarães, J. A., . . . Yates., J. R. (2014). Secretome of the Biocontrol Agent *Metarhizium anisopliae* Induced by the Cuticle of the Cotton Pest *Dysdercus peruvianus* Reveals New Insights into Infection. *Journal of Proteome Research*.
- Bihal, R., Al-Khayri, J., Banu, A. N., Kudesia, N., Ahmed, F. k., Sarkar, R., . . . Abd-Elsalam., K. A. (2023). Entomopathogenic Fungi: An Eco-Friendly Synthesis of Sustainable Nanoparticles and Their Nanopesticide Properties . *Microorganisms*.

- Bruggen, & Finckh. (2016). Plant Diseases and Management Approaches in Organic Farming Systems. *Annual Review of Phytopathology*, 25-54.
- Cortés Hernández, F. d., Alvarado Castillo, G., & Sánchez Viveros, G. (2023). Trichoderma spp., an alternative for sustainable agriculture: a review. *Revista Colombiana de Biotecnología* , 73-87.
- Cuervo, Y., Espadas, M., & Zita, G. d. (SF). *FITOPATOLOGÍA (Manual de Prácticas de Ingeniería Agrícola)*. CDMX: Ediciones UNAM.
- De Dios Avila, N. R.-V. (2020). Identification and antagonic activity in vitro isolation of bacteria against fungi of agricultural important . *REVISTA BIO CIENCIAS*, 1-12.
- Dominguez, D., García, R., Mora, M., Salgado, M., & Gonzalez, J. (2016). LA CENICILLA DEL ROSAL (*Podosphaera pannosa*). *Agrociencia*, 901-917.
- Espino, Á., Morales, J. L., Pedraza, M., & Morales, K. (2017). PRUEBAS DE ANTAGONISMO CON HONGOS ASOCIADOS AL SÍNTOMA DE MARCHITEZ DE ÁRBOLES DE AGUACATE EN MICHOACÁN, MÉXICO. *Memorias del V Congreso Latinoamericano del Aguacate.*, 173-180.
- Estrada Salazar, G. I., & Ramírez Galeano, M. C. (2019). *MICOLOGÍA GENERAL*. Caldas. Colombia: Centro Editorial Universidad Católica de Manizales.
- Fertilab*. (s.f.). Obtenido de fertilab.com.mx
- Filder, H., Beale, T., Jeger, M. J., Oliver, G., Parnell, E., Syniszewska, A. M., . . . Cuniffe., N. J. (2022). A Synoptic Review Of Plant Disease Epidemics and Outbreaks Published in 2022. *APS Online Publications*.
- Gómez, A. (2015). *Producción y comercialización de rosa en México*. México : ECORFAN.

- Gomez, H., Soberanis, W., Tenorio, M., & Torres, E. (2013). *Manual de producción y uso de hongos antagonistas* . Perú .
- González, E., Ortega, M. A., Bautista, E., Delgado, P., & Jiménez, J. F. (2022). The entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* enhances *Arabidopsis*, tomato, and maize plant growth. *Plant Physiology and Biochemistry*, 34-43.
- Gouba, N., Raoult, D., & Drancourt, M. (2013). Plant and fungal diversity in gut microbiota as revealed by molecular and culture investigations. *PLOS ONE*.
- Guzman Hernandez, A. M., Chan Arjona, A. D., Ruiz Santiago, R. R., & Ruiz Sánchez, E. (2024). Uso de bacterias y hongos entomopatógenos para el control de insectos de plaga en la agricultura a pequeña escala. *Bioagrobiencias* , 142-148.
- Guzman, P., Kumar, A., Santos, S. d., Parra, F., Orozco, M. d., Fadji, A. E., . . . Santoyo, O. O. (2023). Trichoderma Species: Our Best Fungal Allies in the Biocontrol Of Plant Diseases- A Review. *Plants*.
- Hanxiang, L., Jieyi, J., Zhaoming, L., Shaoe, L., Guoping, X., Xuekui, X., . . . Zhigang, S. (2013). Peniphenones A–D from the Mangrove Fungus *Penicillium dipodomyicola* HN4-3A as Inhibitors of *Mycobacterium tuberculosis* Phosphatase MptpB. *Journal of Natural Products*.
- Hilda, G., Zapata, A., Torres, E., & Tenorio, M. (2014). *Manual de producción y uso de hongos entomopatógenos*. Peru.
- Ismail, Muhammad, H., Anwar, H., Amjad, I., Sumera, A. K., & In-Jung, L. (2018). Endophytic Fungus *Aspergillus japonicus* Mediates Host Plant Growth under Normal and Heat Stress Conditions. *BioMed Research International*.

- Jaiswal, P., Khadka, R. B., Bhat, A. H., Baidya, S., & Keshari., A. K. (2025). Morphological and Molecular Characterization of Trichoderma Isolates from Vegetable Crop Rhizospheres in Nepal.
- Jiménez, J. S., Pedraza, D. D., Poveda, D. R., Díaz, D. S., Coy, J. S., & Yepes., D. F. (2017). Diagnóstico de enfermedades en el cultivo de rosa spray (*Rosa* spp) de la comercializadora Tucán Flowers S.A en el municipio de Cogua, Cundinamarca . *Revista de la Facultad de las Ciencias Agropecuarias* .
- Kobmoo, N., Mongkolsamrit, S., Khonsanit, A., Cedeño-Sanchez, M., Arnamnart, N., Noisripoom, W., . . . Je., J. (2024). Integrative taxonomy of *Metarhizium anisopliae* species complex, based on phylogenomics combined with morphometrics, metabolomics, and virulence data. *IMA Fungus*.
- López, C. J., & Melero, J. M. (2020). Control de enfermedades causadas por hongos y oomicetos en cultivos agrícolas. *Sociedad Española de Fitopatología* , 20-27.
- Lugtenberg, B. J., Caradus, J. R., & Johnson, L. J. (2016). Fungal endophytes for sustainable crop production. *FEMS Microbiology Ecology*, 1-17.
- Maldonado Bonilla, L. D., Sánchez Espinosa, A. C., & Villarruel Ordaz, J. L. (2024). Identificación de hongos mediante códigos de barras de ADN. *CIENCIA ergo-sum*, 1-7.
- Mantzoukas, S., Kitsiou, F., & Dimitrios, N. y. (2022). Entomopathogenic Fungi: Interactions and Applications. *Encyclopedia*.
- Martínez, B., Infante, D., & Reyes, Y. (2013). Trichoderma spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. *Protección Vegetal*, 1-11.

- Meyling, N. V., Eilenberg, & Jørgen. (2007). Ecology of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in temperate agroecosystems: Potential for conservation biological control. *Biological Control*, 145-155.
- Micología*. (2017). Obtenido de Microbiología ambiental : fcn.unp.edu.ar
- Muñoz, V., Cisterna, V., & France, A. (2020). Aislamiento de microorganismos fitopatógenos. *INIA*, 77-91.
- Olmedo, V., Vargas, F., Romero, Y., Gómez, S., & Macías, J. I. (2019). ANÁLISIS FUNCIONAL DE LOS EFECTORES LysM DE *Trichoderma atroviride* DURANTE SU INTERACCIÓN CON PLANTAS Y FITOPATÓGENOS. *Revista Mexicana de Fitopatología* , 11.
- Parenicová, L., Skouboe, P., Frisvad, J., Samson, R. A., Rossen, L., Hoor-Suykerbuky, M. t., & Visser., J. (2001). Combined Molecular and Biochemical Approach Identifies *Aspergillus japonicus* and *Aspergillus aculeatus* as Two Species. *Applied and Environmental Microbiology* .
- Pavone, D. (2021). *Metarhizium* spp. *Tecno Vita*.
- Rodríguez, I. C., & Flores, J. (2018). Capacidad antagonica in vitro de *Trichoderma* spp. frente a *Rhizoctonia solani* Kuhn y *Fusarium verticillioides* Nirenberg. *Bioagro*, 49-58.
- Rosas García, N. M., Mireles Martínez, M., & Villegas Mendoza, J. M. (2020). Detección de bassianolida y beauvericina en cepas de *Beauveria bassiana* . *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud*, 93-99.
- Rural, S. d. (10 de 06 de 2025). *gob.mx*. Obtenido de *gob.mx*: <http://www.gob.mx/agricultura>

- Saburo Shimada, B., Vinícius Simon, M., & do Socorro Cunha, L. (2021). Cultural Control: A Sustainable Method of Pest and Disease Control . *Journal of Experimental Agriculture International* , 19-26.
- Sánchez-Fernández, R. E., Sánchez-Ortiz, B. L., Sandoval-Espinosa, Y. K., Ulloa-Benítez, Á., Armendáriz-Guillén, B., García-Méndez, M. C., & Macías-Rubalcava., M. L. (2013). Hongos endófitos: fuente potencial de metabolitos secundarios bioactivos con utilidad en agricultura y medicina. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*.
- Silva, P. F., Santos, M. S., Araújo, B. d., Kerber, B. D., Oliveira, H. A., Guedes, J. V., . . . Zabot., G. L. (2025). Co-Cultivations of *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, and *Trichoderma harzianum* to Produce Bioactive Compounds for Application in Agriculture. *Fermentation* .
- Vivekanandhan, P., Alford, L., & Krutmuang, P. (2024). Editorial: Role of entomopathogenic fungi in sustainable agriculture. *Frontiers in Microbiology* .
- W. Crous, P., Y. Rossman, A., Aime, M. C., Allen, W. C., & Burgess, T. (2021). Names of Phytopathogenic Fungi: A Practical Guide. *PHYTOPATHOLOGY*.
- Wang, H., Peng, H., Li, W., Cheng, P., & Gong., M. (2021). The Toxins of *Beauveria Bassiana* and the Strategies to Improve Their Virulence to Insects. *Frontiers in Microbiology*.
- Waqar, S., Bhat, A. a., & Khan, A. A. (2024). Endophytic fungi: Unravelling plant-endophyte interaction and the multifaceted role of fungal endophytes in stress amelioration. *Plant Physiology and Biochemistry* .
- Yong, A. (2004). EL CULTIVO DEL ROSAL Y SU PROPAGACIÓN. *Cultivos Tropicales* , 53-67.

Yu, L., Wang, T., Wang, B., & Pan, L. (2024). The mechanism of short hypha formation and high protein production system mediated by cell wall integrity signaling pathway in *Aspergillus niger*.

International Journal of Biological Macromolecules .