

Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco

División de ciencias biológicas y de la salud

Proyecto de investigación de servicio social

Efecto antibacteriano de los metabolitos de *Fusarium oxysporum*
AB2 sobre *Salmonella typhimurium* ATCC 14028

Alumno:

Vega Escutia Percy Onan

Matricula:

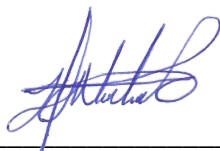
2202033683

Fecha de inicio: 4 de Diciembre de 2023

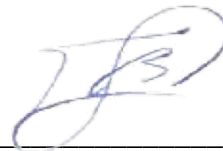
Fecha de termino: 16 de Julio de 2024

Lugar donde se realizo el Servicio Social: Laboratorio 104
Edificio N Departamento de Sistemas Biológicos

Asesores internos:



Dr. Vásquez Bonilla José Norberto
45310



Dr. Barranco Florido Juan Esteban
24927

Marzo 2025

INDICE

1. Introducción	4
2. Justificación y planteamiento del problema	4
3. Objetivo	5
3.1 Objetivo general	5
3.2 Objetivos específicos	5
4. Antecedentes	5
4.1 Hongos fitopatógenos y saprófitos	5
4.2 <i>Fusarium oxysporum</i>	6
4.2.1 Ciclo de vida de <i>Fusarium Oxysporum</i>	6
4.2.2 Patogenicidad	7
4.2.3 Medios de cultivos	7
4.2.4 Metabolitos secundarios de <i>Fusarium Oxysporum</i>	8
4.2.5 Depsipeptidos Cíclicos	9
4.3 <i>Salmonella typhimurium</i>	9
4.3.1 Mecanismo de infección	10
4.4 Resistencia a antibióticos	10
4.4.1 Interacción de metabolitos de hongos con antibioticos	10
4.5 Ciprofloxacino	11
5. Materiales y métodos	11
5.1 Obtención de cultivos monospóricos	11
5.2 Conteo de Conidios	12
5.3 Fermentación en estado líquido	12
5.4 Fermentación en estado sólido	12
5.5 Cepas bacterianas	13
5.6 Extracción y purificación de metabolitos	14
5.7 Determinación de la Concentración mínima inhibitoria	14
5.8 Antibiograma en pozo	15
6. Resultados y Discusión	15

<i>6.1 Producción de biomasa en sistemas SmF y SSF en diferentes condiciones</i>	<i>15</i>
<i>6.2 Interacción entre metabolitos de Fusarium Oxysporum AB2 y ciprofloxacino</i>	<i>17</i>
7. Conclusión	21
8. Referencias bibliograficas	22

1. Introducción

El reino fungi está constituido por microorganismos eucarióticos que se han establecido en todos los tipos de medio ambiente y que tienen un rol fundamental sobre el balance de este. Los hongos han sido considerados como una de las reservas más ricas de metabolitos secundarios con características estructurales y biodiversas únicas que desempeñan un papel destacado en el desarrollo de nuevos fármacos (Shankar & Sharma, 2022). Sobre este contexto, las especies del género *Fusarium* son fitopatógenos que se encuentran en regiones templadas y semitropicales que tienen la capacidad de producir diversos metabolitos para subsistir entre dentro de las plantas (Ibrahim *et al.*, 2021).

Este complejo de especies está constituido por hongos transmitidos por el suelo que se encuentran en suelos cultivados y no cultivados, sus cepas patógenas son morfológicamente indistinguibles de las no patógenas. La especie *Fusarium oxysporum* muestra una alta diversidad funcional y genética (Edel-Hermann & Lecomte, 2018). Ya que, existe varias fuentes científicas ha demostrado que la mayoría de estas especies poseen una capacidad potencial para producir metabolitos secundarios con actividades microbianas significativas, como antimicrobianas (Wei & Wu, 2020).

La *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 es un importante patógeno, transmitido por alimentos en todas las regiones del mundo. Lo grave de esta bacteria en la salud pública se ve exacerbado por la resistencia a los antimicrobianos. En estas últimas dos décadas se ha visto una rápida aparición mundial de un nuevo serotipo de *Salmonella* (Sun & Wan, 2019).

La producción de metabolitos secundarios fúngicos no solo tiene funciones individuales, sino que también puede actuar de manera sinérgica, potenciando su actividad biológica. Este efecto sinérgico ha motivado investigaciones que exploran su combinación con antibióticos para combatir la resistencia antimicrobiana, ofreciendo una estrategia prometedora contra patógenos multirresistentes (Sun & Chen, 2022).

En el presente trabajo tiene como objetivo determinar la actividad antibacteriana de los metabolitos de *Fusarium oxysporum* AB2 en *Salmonella typhimurium* ATCC 14028.

2. Justificación y planteamiento del problema

La resistencia a los antimicrobianos (RAM) representa un problema de salud pública universal que afecta significativamente la eficacia de los antibióticos. El uso extendido de antibióticos, dosis inadecuadas y factores genéticos han contribuido a la propagación de la resistencia a múltiples fármacos entre las bacterias patógenas, dificultando cada vez más el tratamiento de las infecciones (Mobarki *et al.*, 2019). Se ha observado una amplia propagación de la resistencia bacteriana en el entorno natural, y este interés es debido al rápido aumento de las bacterias resistentes a los antibióticos, incluyendo la resistencia a una nueva generación de antibióticos y fármacos de último recurso (Serwecińska, 2020). La corporación RAND (Research And Development) relata en su investigación que, si no se aborda la RAM, la población mundial en 2050 será entre 11 y 444 millones más baja de lo que sería sin la RAM (Ahmad & Khan, 2019).

La búsqueda de nuevas moléculas antimicrobianas es crucial para ampliar las opciones terapéuticas disponibles, especialmente frente al creciente problema de la resistencia a los medicamentos en microorganismos. En este contexto, los hongos destacan por su notable capacidad biosintética y su potencial como fuente de compuestos biológicamente activos con estructuras químicas diversas (Lysakova *et al.*, 2024). Estos son reconocidos por la producción de una amplia variedad de metabolitos secundarios, tales como pigmentos, antibióticos, vitaminas, aminoácidos y compuestos orgánicos, que exhiben diversas actividades biológicas beneficiosas, como antifúngicas,

antiinflamatorias, antioxidantes, antimicrobianas y anticancerígenas. Estos compuestos también poseen aplicaciones biotecnológicas significativas en industrias como la alimentaria, farmacéutica y cosmética, así como en la agricultura (Devi *et al.*, 2020).

Una de las estrategias actuales para abordar el problema de la RAM es la combinación de antibióticos entre sí, o de antibióticos con metabolitos secundarios de plantas u hongos. Estos enfoques han arrojado resultados prometedores, revelando nuevos descubrimientos sobre las interacciones sinérgicas que se producen entre estos compuestos y su potencial para superar la resistencia bacteriana (Wang & Luo 2022).

3. Objetivo

3.1 Objetivo general

Determinar el efecto antibacteriano de los metabolitos de *Fusarium oxysporum* AB2 sobre *Salmonella typhimurium* ATCC 14028.

3.2 Objetivos específicos

Obtener cultivos monospóricos de *Fusarium oxysporum* AB2.

Identificar morfológicamente las especies *Fusarium oxysporum* y *Salmonella typhimurium*.

Obtener y purificar metabolitos de *Fusarium oxysporum* AB2 a partir de las fermentaciones en estado sólido y líquida.

Determinar el efecto antibacteriano de los metabolitos obtenidos de *Fusarium oxysporum* AB2 sobre el crecimiento de *Salmonella typhimurium* ATCC 14028.

Determinar el tipo de interacción que se da entre la mezcla de metabolitos de *Fusarium oxysporum* AB2 con Ciprofloxacino sobre el crecimiento de *Salmonella typhimurium* ATCC 14028.

4. Antecedentes

4.1 Hongos fitopatógenos y saprófitos

Un hongo fitopatógeno es un organismo microscópico que infecta plantas, causando enfermedades que afectan su desarrollo, productividad y, en muchos casos, su supervivencia. Estos hongos tienen la capacidad de invadir tejidos vegetales vivos y producir metabolitos que interfieren con las funciones fisiológicas de la planta. Además, suelen interactuar con factores ambientales, el tipo de planta huésped y el microbiota del suelo, lo que influye en la severidad de la enfermedad (Jo *et al.*, 2023). Los metabolitos de estos hongos presentan actividad contra protozoarios, pueden ser útiles en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas, poseen actividad citotóxica y antiinflamatoria, y contribuyen al control de la hiperglucemia (Delgado *et al.*, 2021; Peteira, 2021).

El mayor número de trabajos de investigación se ha realizado sobre los géneros *Phytophthora*, *Fusarium*, *Fíhizoctonia*, *Pythium* y *Phymatotrichum*, debido hay amplio rango de plantas hospedantes que atacan, a su distribución cosmopolita y a los elevados daños económicos que provocan en cultivos de importancia económica (Jo *et al.*, 2023). Los hongos saprófitos son organismos fundamentales en

los ecosistemas, ya que obtienen nutrientes al descomponer materia orgánica muerta, como restos de plantas y animales. Este proceso contribuye al reciclaje de nutrientes esenciales, como nitrógeno, fósforo y potasio, que son cruciales para la fertilidad del suelo y la salud de los ecosistemas (Saha *et al.*, 2023).

Los metabolitos secundarios producidos por los hongos tienen un gran potencial para su aplicación en diversos productos farmacéuticos, ya que pueden tener propiedades anticancerígenas, antimicrobianas, insecticidas, antivirales, antioxidantes e inmunomoduladoras (Arce-Torres *et al.*, 2020). Por lo que son una excelente alternativa para el desarrollo de nuevos antibióticos o coadyuvantes que puedan potenciar los antibióticos actuales para combatir la problemática mundial sobre la resistencia antimicrobiana.

4.2 *Fusarium oxysporum*

Fusarium oxysporum (*F. oxysporum*), es un hongo filamentoso importante y ubicuo en el suelo, reconocido por su diversidad filogenética. Las cepas de *F. oxysporum* son saprofitas o fitopatógenas. Sin embargo, las cepas fitopatógenas provocan una destructiva enfermedad vascular por marchitez y a menudo limitan la producción de cultivos económicamente importantes. La especie de *F. oxysporum* causa la enfermedad de la marchitez en más de 150 hospederos y varía con formas especiales específicas. Se informó que *F. oxysporum* provoca la marchitez vascular en tomate y reduce el rendimiento máximo (Srinivas *et al.*, 2019).

Los hongos filamentosos son importantes en la creación de nuevos fármacos, dada a su diversidad genética y metabólica única. La especie *F. oxysporum* ha sido considerada una gran fuente proliférica de metabolitos secundarios, con diversas estructuras químicas y un amplio espectro de propiedades biológicas (Li & Yu, 2020). No obstante, se ha encontrado muy poca información sobre sus metabolitos derivados a su actividad antimicrobiana. Durante una extensa búsqueda literaria y análisis de los datos, a finales del 2022 se habían descubierto 185 productos naturales antimicrobianos como metabolito secundario a partir de la sepa *Fusarium* (Xu & Huang, 2023).

4.2.1 Ciclo de vida de *Fusarium Oxysporum*

El ciclo de vida de *F. oxysporum* inicia con un inóculo primario que reside en los restos vegetales y en el suelo, comenzando la infección en las primeras etapas del cultivo. Aunque la pudrición de las raíces se inicia durante las fases vegetativas, generalmente no es detectada hasta que los fotosintatos comienzan a desplazarse desde la base de los tallos hacia las espigas, lo que provoca un debilitamiento visible de las plantas. Dado que la mayoría de los patógenos responsables son habitantes del suelo, la enfermedad es considerada monocíclica, ya que las pérdidas están determinadas principalmente por el inóculo presente en el terreno al momento de la siembra, aunque puedan ocurrir infecciones secundarias (Fauba, 2020).

Cuando las raíces están presentes, las clamidosporas o conidios del hongo germinan e invaden plantas susceptibles. El patógeno penetra en la xilema y se desplaza hacia arriba, bloqueando el tejido y limitando el flujo de agua. Además, se producen toxinas que provocan el amarillamiento del follaje (Koike *et al.*, 2019).

Después de la plasmogamia y la cariogamia, el peritecio genera esporas meióticas recombinantes y esporas clonales, respectivamente. Estas esporas forman micelio haploide (HM), que a su vez produce tres tipos de esporas mitóticas. Mientras que las conidias (ya sean micro o macroconidias) pueden colonizar al huésped, las clamidosporas, además de poder invadir directamente el cultivo, tienen la

capacidad de sobrevivir durante el invierno y transformarse en peritecio para reiniciar el ciclo cuando las condiciones son favorables (Dweba *et al.*, 2016).

4.2.2 Patogenicidad

Los hongos fitopatógenos dependen de las plantas para obtener nutrientes y han desarrollado mecanismos que les permiten ingresar a ellas. El hongo *F. oxysporum* se presenta como un patógeno parasitario que establece interacciones con las plantas huésped, dando lugar al desarrollo de la enfermedad de la marchitez por *Fusarium*. Algunos de los mecanismos de penetración estudiados e identificados por científicos incluyen ajustes en la morfología estructural, como el desarrollo de hifas. Otro medio implica cambios fisiológicos que involucran la producción de enzimas para facilitar la penetración (Joshi, 2018).

Su mecanismo de infección implica interacciones complejas con el sistema vascular de la planta hospedadora, lo que lleva a síntomas como podredumbre de la raíz, crecimiento atrofiado, marchitez y, finalmente, la muerte de la planta. (Jackson *et al.*, 2024). Un aspecto clave de la infección es la secreción de toxinas y proteínas efectoras, las cuales permiten al patógeno suprimir el sistema inmunológico de la planta y facilitar su colonización. El hongo invade las raíces, entra en la xilema y bloquea el transporte de agua, lo que causa marchitez (Jackson *et al.*, 2024). Además del bloqueo físico, *F. oxysporum* libera enzimas que degradan las paredes celulares de las plantas, contribuyendo a la progresión de la enfermedad. La producción de micotoxinas, como las fumonisinas, y otros metabolitos también desempeña un papel crucial en el daño a las células vegetales y en la propagación del patógeno (Mendes *et al.*, 2023).

Una distinción clave entre cepas patógenas y no patógenas es la cantidad de biomasa fúngica que se desarrolla en la raíz. En las primeras etapas, las cepas endofíticas de *F. oxysporum* colonizan con menor eficacia que las patógenas. En un experimento con tomate, se observó que, tras dos semanas de inoculación, la biomasa del patógeno era 10 veces mayor (Wojtasik *et al.*, 2024). Otra diferencia importante es la forma en que colonizan. Las cepas no patógenas, se limitan a colonizar la superficie de la raíz y las capas exteriores del córtex, mientras que las cepas patógenas penetran en los tejidos más profundos de la raíz, llegando finalmente a los vasos (De Lamo & Takken, 2020; Wojtasik *et al.*, 2024).

4.2.3 Medios de cultivos

4.2.3.1 Uso de células muertas como inductor de producción metabolitos secundarios

Muchos hongos son saprófitos, lo que significa que juegan un papel esencial en el ecosistema como descomponedores de material orgánico muerto. Son cruciales para la conversión y mineralización de este material, ya que han desarrollado mecanismos eficaces para degradar biomasa. Para obtener nutrientes de materiales complejos, secretan enzimas que descomponen las paredes celulares de las plantas. Los hongos también se han destacado como fábricas celulares industriales, capaces de producir una amplia gama de productos debido a su rápido crecimiento y su capacidad para convertir sustratos complejos en azúcares fermentables (Lübeck *et al.*, 2022).

Se ha investigado el uso de células muertas o biomasa inactiva como parte de procesos de biorremediación, donde los hongos degradan material orgánico muerto. Un ejemplo de esto incluye la capacidad de algunos hongos filamentosos para degradar biomasa y utilizar compuestos complejos como carbono, aprovechando células muertas en procesos de fermentación sólida o líquida. Este tipo de cultivos puede ser útil en aplicaciones industriales y medioambientales (Lübeck *et al.*, 2022).

4.2.3.2 Fermentación en estado solido

Los hongos filamentosos son microorganismos ideales para desarrollar procesos de bioconversión mediante fermentación en estado solido (SSF) gracias a su capacidad para crecer en sustratos con bajo contenido de agua. A través del SSF, se pueden obtener una amplia gama de productos industriales, como enzimas, ácidos orgánicos, biocombustibles y diversos compuestos activos y metabolitos, entre los que destacan antibióticos, pigmentos y agentes de control biológico. Estos productos tienen aplicaciones en sectores como alimentos, piensos, farmacéutica, cosmética, biocombustibles y agricultura. (Cebrián & Ibarruri, 2023). La investigación sobre el uso de espumas de poliuretano (PUF) como soportes para el cultivo de hongos en SSF ha crecido en los últimos años, revelando ventajas significativas. La PUF ofrecen una estructura altamente porosa que permite a los hongos crecer tanto en la superficie como dentro de la matriz. Esto facilita la formación de biopelículas y mejora el acceso a nutrientes, lo que es especialmente beneficioso en los procesos de fermentación en estado sólido. La naturaleza hidrofóbica de la espuma y su estabilidad bajo diversas condiciones ambientales la convierten en un excelente soporte para inmovilizar biomasa fúngica (Meyer *et al.*, 2020).

Hongos como *Aspergillus niger* y *Trichoderma reesei* han sido cultivados con éxito en matrices de PUF, con hongos inmovilizados que muestran altos rendimientos de enzimas utilizadas para aplicaciones industriales, como celulasas y amilasas. Además, los soportes de PUF permiten un intercambio eficiente de gases, lo que contribuye a un mejor crecimiento fúngico y producción de metabolitos. Su reutilización y bajo costo ofrecen ventajas adicionales en los bioprocesos a gran escala (Tiwari *et al.*, 2024).

4.2.4 Metabolitos secundarios de *Fusarium Oxysporum*

Los metabolitos secundarios (M.S), también conocidos como productos naturales, son biomoléculas de bajo peso molecular que, aunque no son esenciales para el desarrollo de su productor, pueden aumentar su tolerancia a diferentes tipos de estrés ambiental y condiciones hostiles, y, en consecuencia, mejorar su tasa de supervivencia (Conrado *et al.*, 2022). *F. oxysporum* posee una capacidad misteriosa para producir una amplia variedad de metabolitos con un espectro amplio de bioactividades, tales como alcaloides, jasmonatos, antrenilatos, péptidos cíclicos, depsipéptidos cíclicos, xantonas, quinonas y terpenoides. Se informaron 180 metabolitos de *F. oxysporum* en el periodo comprendido entre 1967 y 2021 (Ibrahim *et al.*, 2021).

A pesar de la gran cantidad de metabolitos informados, pocos de ellos han sido evaluados en cuanto a sus bioactividades. Las actividades evaluadas de estos metabolitos incluyen propiedades antimicrobianas, citotóxicas, nematocidas, antivirales, leishmanicidas y antioxidantes. Además, existe una falta de estudios farmacológicos que se centren en explorar los posibles mecanismos de acción de los metabolitos activos. Asimismo, se sugiere llevar a cabo investigaciones adicionales sobre los metabolitos no probados para explorar sus posibles bioactividades (Ibrahim *et al.*, 2021).

4.2.4.1 Antrenilatos

Los antrenilatos son derivados del ácido antranílico que constituyen una parte importante de diversos biometabolitos y sirven como estructura base para el desarrollo de destacados productos farmacéuticos para el manejo de la patogénesis y fisiopatología de diversos trastornos. Poseen notables bioactividades, tales como propiedades antivirales, antimicrobianas, insecticidas, antiinflamatorias, antidiabéticas y anticancerígenas (Prasher & Sharma, 2021).

4.2.4.2 Fumonisin

Las fumonisin son micotoxinas clasificadas dentro de los poliquétidos fúngicos. Se componen de dos cadenas de ácido propano-1,2,3-tricarboxílico esterificadas a un esqueleto aminopolio. Estas micotoxinas inhiben la ceramida sintasa, la enzima clave en la vía de biosíntesis de esfingolípidos, lo que resulta en graves micotoxicosis (Wellington, 2022).

4.2.4.3 Jasmonatos

Los jasmonatos son metabolitos basados en lípidos que contienen un marco de ácido jasmónico (ácido 3-oxo-2-(pent-2-enil) ciclopentanoacético), y se encuentran en hongos, bacterias y plantas. Además, se han reportado ácidos jasmónicos hidroxilados, insaturados o saturados, y derivados de cadena lateral alargada en configuración *cis* o *trans* en hongos. Asimismo, tienen la capacidad de establecer conjugados con aminoácidos, como es el caso de la isoleucina (Omar, 2021).

4.2.5 Depsipéptidos Cíclicos

Los depsipéptidos cíclicos son péptidos cíclicos en los que algunos grupos amida son reemplazados por enlaces lactónicos, debido a la presencia de ácidos hidroxicarboxílicos en su estructura, que permiten la ciclización hacia los grupos hidroxilo de cadenas laterales como las de serina o treonina. Un ejemplo destacado son las papuamidas A y B. Son depsipéptidos cíclicos aislados de esponjas en simbiosis con bacterias, como *Theonella mirabilis* y *Theonella swinhoei*. Estos compuestos exhiben un aumento dependiente de la concentración en la viabilidad celular de linfoblastoides T humanos, indicando una inhibición de la infección. Este tipo de metabolitos ilustra el potencial de los depsipéptidos cíclicos como moléculas bioactivas con aplicaciones prometedoras en el ámbito farmacéutico (Ribeiro *et al.*, 2022).

4.3 *Salmonella typhimurium*

La *Salmonella* se clasifica como "tifoidal" o "no tifoidal" según su serotipo, *es* género de la familia *Enterobacteriaceae*. Se trata de un bacilo Gramnegativo, móvil y no fermentador de lactosa. Este género se puede dividir en dos especies (*S. enterica* y *S. bongori*) según su perfil fenotípico. Causa gastroenteritis aguda y, cuando la infección por *Salmonella* se vuelve invasiva, puede afectar al torrente sanguíneo (bacteriemia), huesos (osteomielitis), articulaciones (artritis séptica), cerebro o "meningitis" del sistema nervioso. (Wang, 2022).

Los anaerobios aeróbicos y facultativos crecen radialmente en medios simples en el rango de pH 6-8 y temperatura (óptimamente 37°C). Las colonias son grandes, redondas, de 2 a 3 mm de diámetro, ligeramente convexas, lisas y más translúcidas que las colonias de *Escherichia coli*. En agar nutritivo y agar sangre, después de 24 horas a 37°C, las colonias de la mayoría de las cepas de *Salmonella* son de tamaño mediano, de 2 a 3 mm de diámetro, blanquecino, húmedo, con superficies lisas convexas y márgenes completos (Wang, 2022).

La Colección Americana de Cultivos Tipo (ATCC) ofrece cepas microbianas de referencia utilizadas a nivel mundial en investigación, diagnóstico y control de calidad. Estas cepas se destacan por su estabilidad genética y fenotípica, lo que resulta esencial para garantizar la reproducibilidad en los experimentos científicos. Además, el Portal de Genomas de ATCC proporciona secuencias genómicas de alta calidad para cepas bacterianas, incluyendo más de 700 cepas tipo, fundamentales para la investigación (*Bacterial Type Strains*, s. f., 2022). *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 es

una cepa de referencia estándar utilizada para estudiar la patogenicidad, la resistencia antimicrobiana y la seguridad alimentaria. Se emplea ampliamente en investigaciones microbiológicas y farmacéuticas debido a sus propiedades bien documentadas y consistentes (Guo *et al.*, 2020; Arslan, 2022).

4.3.1 Mecanismo de infección

Las salmonelas no tifoideas, como *Salmonella typhimurium*, (*S. typhimurium*) se adquieren con mayor frecuencia a través del consumo de alimentos o agua contaminados. Aunque la acidez del estómago constituye una barrera efectiva contra este patógeno, el consumo de un inóculo lo suficientemente grande o alimentos contaminados con capacidad buffer puede dar lugar a una infección productiva que conduce a una enfermedad manifiesta. Después de su adquisición oral, *S. typhimurium* viaja por el tracto intestinal, llegando al intestino grueso, donde se cree que ocurre la mayor parte de su replicación. Gran parte de lo que se conoce sobre la patogénesis de *S. typhimurium* se ha aprendido con el modelo de infección en ratones. La presentación de la enfermedad en los ratones es sustancialmente diferente de la enfermedad humana, ya que *S. typhimurium* causa una infección sistémica en este modelo animal (Galán, 2021).

4.4 Resistencia a antibióticos

La *Salmonella* enterica serovar *Typhimurium* coloniza periódicamente huéspedes susceptibles o persiste fuera de un huésped en el entorno durante su ciclo de vida. Para sobrevivir en el entorno, *S. Typhimurium* ha desarrollado varios mecanismos distintos, siendo su capacidad para adherirse a superficies sólidas y formar biofilms uno de los más importantes. Las estructuras extracelulares que contribuyen a la formación de biofilms incluyen las fimbrias de curli (Yuan *et al.*, 2023). Los biofilms contribuyen al desarrollo de la tolerancia y resistencia a los antibióticos. Estos forman una barrera física contra muchos antibióticos, limitando las concentraciones efectivas del fármaco a niveles subletales y promoviendo el crecimiento de cepas resistentes. Además, bloquean las respuestas inmunológicas del huésped, protegiendo las células de la fagocitosis y de la destrucción mediada por el complemento (Tursi *et al.*, 2020).

El incremento de cepas multirresistentes de *Salmonella* representa un desafío significativo para el tratamiento efectivo de las infecciones causadas por este patógeno. En la actualidad, la presencia de estas cepas multirresistentes es cada vez más común, con un aumento sostenido desde finales de la década de 1990 y principios de los 2000. Desde entonces, su prevalencia ha crecido tanto en humanos como en animales domésticos y especies silvestres, extendiéndose a nivel global. Dado que la resistencia de las cepas de *Salmonella* continúa en aumento, especialmente frente a antimicrobianos claves como las fluoroquinolonas y las cefalosporinas de tercera generación, este fenómeno se ha convertido en un problema emergente a nivel mundial, ya que estos fármacos son frecuentemente utilizados cuando el tratamiento primario no resulta eficaz (Nuñez-Castro, 2020).

4.4.1 Interacción de metabolitos de hongos con antibióticos

Los M.S de hongos son candidatos prometedores debido a que, por su estructura química y sus mecanismos de acción únicos, pueden inhibir el crecimiento de bacterias patógenas de maneras diferentes a los antibióticos clásicos. Además, muchos hongos producen metabolitos con propiedades antibacterianas que han sido menos exploradas en comparación con otros microorganismos, como las bacterias del género *Streptomyces*, que tradicionalmente han sido una fuente importante de antibióticos. Estos metabolitos pueden no solo tener acción bactericida sino también ser combinados con antibióticos para potencializar su efecto (Pérez *et al.*, 2021).

Existen investigaciones actuales que exploran el uso de M.S de hongos, combinados con antibióticos, para combatir patógenos bacterianos como *Salmonella*. Estos estudios se centran en la capacidad de los hongos para producir compuestos bioactivos que pueden actuar sinérgicamente con antibióticos, mejorando su efectividad o disminuyendo la resistencia de la bacteria. Por ejemplo, investigaciones con hongos endófitos han demostrado que los M.S pueden poseer actividad antimicrobiana por sí mismos y aumentar el efecto de ciertos antibióticos cuando se emplean en combinación. Esta sinergia es prometedora para enfrentar infecciones resistentes y mejorar la eficacia de los tratamientos actuales en infecciones bacterianas como las causadas por *Salmonella* (Syarifah *et al.*, 2021). Otros estudios han usado M.S como aceites esenciales y triterpenoides de plantas y hongos, evaluando sus efectos antimicrobianos y observando mejoras en la actividad de antibióticos al usarse en combinación. Estos estudios también examinan cómo ciertos metabolitos pueden ayudar a inhibir el crecimiento de cepas patógenas de *Salmonella*, entre otras bacterias, lo que destaca su potencial en terapias combinadas para tratar infecciones resistentes (Kuzhuppillymyal *et al.*, 2023).

4.5 Ciprofloxacino

El ciprofloxacino es un antibiótico de amplio espectro perteneciente a la clase de las fluoroquinolonas, ampliamente utilizado en el tratamiento de infecciones bacterianas, esta clase, son muy eficaces contra las bacterias de *Salmonella* que son completamente susceptibles. Sin embargo, su efectividad se ve comprometida cuando se detecta cualquier nivel de resistencia. Estos antibióticos actúan sobre las enzimas girasa y topoisomerasa del ácido desoxirribonucleico (ADN), lo que inhibe las actividades de replicación y transcripción, provocando así la fragmentación del ADN (Gupta *et al.*, 2020). Estudios indican que la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) se encuentra de 0.015 µg/ml a 0.12 µg/ml por lo que todavía sigue siendo eficaz contra *Salmonella*, no obstante, el uso indebido de las fluoroquinolonas preocupa a varios investigadores por los reportes de resistencia hacia este grupo de antibióticos (Gupta *et al.*, 2020; Li & Han, 2023).

5. Materiales y métodos

5.1 Obtención de cultivos monospóricos

Para la obtención de cultivos monospóricos, se realizaron diluciones seriadas en tubos de ensayo con agua destilada. Se tomaron 100 µL de la muestra y se diluyeron en 900 µL de agua, donde se obtuvieron diluciones 1:10, 1:100, 1:1000, 1:10⁴, 1:10⁵ y 1:10⁶. Las diluciones resultantes se sembraron en serie en seis cajas Petri con Agar Dextrosa Papa (PDA) y se incubaron durante 4 días. Pasado este periodo, se seleccionó una colonia aislada de *Fusarium* y se transfirió a un matraz con PDA para su incubación durante 14 días. Al término de los 14 días, se añadieron 45 mL de Tween 80 al 0.05% al matraz y, utilizando un agitador magnético, se mantuvo en agitación durante 5 minutos para extraer la mayor cantidad posible de conidios de *F. oxysporum* AB2. Los conidios recolectados se transfirieron a un tubo Falcon para su uso posterior (Vásquez-Bonilla *et al.*, 2022).

Para la producción de conidios a mayor escala, se pesaron y esterilizaron 20 g de arroz precocido en un matraz Erlenmeyer. A continuación, se inocularon 2 x 10⁶ conidios por cada gramo de arroz y se incubaron durante 9 días a 25°C, agitándolos cada tercer día para evitar la aglomeración del arroz. Al finalizar el periodo de incubación, se añadió 100mL de Tween 80 al 0.05% al matraz con arroz, y se agitó con un vortex durante 6 minutos. Finalmente, los conidios se recolectaron y almacenaron en un refrigerador en tubos Falcon estériles para usos posteriores (Vásquez-Bonilla *et al.*, 2022).

5.2 Conteo de Conidios

Para el conteo de conidios, se preparó una dilución inicial tomando 100 μL de muestra de conidios de *F. oxysporum* AB2 y mezclándola en 900 μL de agua destilada. Luego, se tomaron 20 μL de esta dilución y se transfirieron a una cámara de Neubauer para su observación en el microscopio. La cámara se localizó bajo el objetivo de 10x, y una vez centrada, se cambió al aumento de 40x para realizar el conteo. Se contaron los conidios en 9 cuadrantes de la cámara de Neubauer: el cuadrante central, los cuatro cuadrantes en cada vértice y los cuatro cuadrantes diagonales próximos a cada vértice, formando una “X” visual. El conteo siguió un orden lógico y secuencial para evitar duplicaciones o omisiones. El promedio de conidios por cuadrante se calculó dividiendo el total de conidios entre los 9 cuadrantes seleccionados. Posteriormente, se aplicó la fórmula para calcular la concentración de conidios:

$$\text{Concentración de conidios (g)} = \bar{X} \times 25 \times 10,000 \times FD$$

Donde:

\bar{x} : Promedio de las lecturas por área de conteo de la cámara de Neubauer

FD: Factor de Dilución (inverso de la dilución cuantificada)

25 y 10,000: constantes para cuadrante central (Suarez *et al.*,2024).

Este cálculo permitió determinar el volumen exacto de la suspensión de conidios necesaria para alcanzar la concentración requerida en los medios de fermentación, tanto para el estado sólido como para el líquido.

5.3 Fermentación en estado líquido

Para realizar la Fermentación en estado líquido (SmF), en un matraz Erlenmeyer de 500mL, se preparó un medio de cultivo con la siguiente composición: 49 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de glucosa, 13 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de peptona, 0.6 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de NaCl, 0.6 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de KH_2PO_4 , y 0.2 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de MgSO_4 . Se prepararon dos volúmenes del medio, de 20 y 60 mL, correspondientes a condiciones 1x y 3x, respectivamente. La inoculación consistió en añadir la cantidad estándar de conidios en 20 mL y en triplicar la cantidad de conidios en 60 mL.

En el caso del medio de 20 mL, se inoculó con 2×10^6 conidios de *F. oxysporum* AB2, mientras que para el de 60 mL se utilizaron 6×10^7 conidios. Los cultivos se mantuvieron en agitación constante a 150 rpm y a 25°C durante 9 días, asegurando una oxigenación y homogeneización adecuadas del medio para promover el crecimiento óptimo y la producción de metabolitos (Xu & Liu, 2010).

5.4 Fermentación en estado sólido

Para el sistema de Fermentación en estado sólido (SSF) destinada al crecimiento de *F. oxysporum* AB2, se empleó 1 gramo de espuma de poliuretano (PUF) como soporte sólido. El PUF, con una densidad seca de 17 kg/m^3 , se cortó en cubos de 0.7 cm el cual se sometió a un tratamiento previo: se sumergió en agua a 60°C durante 1 minuto, luego se exprimió y se secó en un horno a 60°C durante un día. Al finalizar el secado, el PUF fue esterilizado en autoclave.

Para la inoculación en un matraz Erlenmeyer de 500mL, se agregaron 2×10^7 conidios a 20 mL de medio de cultivo y, con ayuda de una espátula estéril, se agitó la mezcla para lograr una distribución uniforme de los conidios en el PUF. El cultivo se incubó bajo condiciones controladas a 25°C durante

9 días, lo que favoreció el crecimiento de *F. oxysporum* AB2 sobre el soporte sólido y promovió la producción de esporas y metabolitos relevantes para el estudio. Los experimentos se realizaron por triplicado, asegurando así la reproducibilidad de los resultados (Xu & Liu, 2010).

Posteriormente se realizaron variantes del sistema SSF, la primera de ellas fue utilizando un medio concentrado tres veces a la que se le determinó SSF 3X. Para el sistema SSF 3x, se llevó a cabo un experimento comparativo utilizando las mismas condiciones y procedimiento que en el ensayo con 1x, pero ajustando las concentraciones del medio. En este caso, se prepararon 60 mL de medio y se utilizaron 3 g de PUF como soporte sólido. El objetivo fue evaluar si estas modificaciones en la concentración influían en la producción de esporas y en la expresión de otros metabolitos, buscando diferencias significativas entre las condiciones de 1x y 3x. Esto permitió analizar el impacto de la concentración del soporte y el medio en los resultados del crecimiento y metabolismo de *F. oxysporum* AB2, los experimentos se llevaron a cabo por triplicado para garantizar la reproducibilidad de los resultados.

Se realizaron dos variantes de SSF más, utilizando diferentes condiciones, utilizando PUF como soporte sólido en una concentración de 3x. En estas condiciones, inicialmente se permitió el crecimiento del hongo *Beauveria bassiana* (*B. bassiana*) CHE-CNRCB431 en el PUF. Sin embargo, antes de inocular *Fusarium oxysporum*, se realizó un tratamiento previo al PUF colonizado con *B. bassiana* el cual consistía en: al finalizar el crecimiento de *B. bassiana* CHE-CNRCB431 en el PUF, este se colocó en un horno a 60°C durante un día, posteriormente, se preparó un medio 3x, al cual se le inoculó con el hongo *F. oxysporum* AB2 y se vertió sobre el PUF previamente colonizado por el otro hongo.

En otra variante de la SSF 3x se incorporaron 5 g·L⁻¹ de raíz de cilantro al medio de cultivo como inductor de la producción de metabolitos secundarios. La raíz de cilantro se sometió a un tratamiento previo que consistió en limpiar la planta, eliminar las hojas y conservar únicamente la raíz. Esta raíz fue secada en un horno a una temperatura constante de 60°C. Una vez seca, se trituró utilizando un mortero con pistilo y se agregó al medio como parte de su composición una vez hecho ese tratamiento se esterilizó para después agregarle los cooidios y vertirlos en el PUF. El propósito de este experimento fue evaluar si la presencia de una planta con raíz, dado que *Fusarium oxysporum* es un hongo fitopatógeno, influía en la expresión de metabolitos y en el crecimiento del hongo.

El objetivo principal de estos experimentos fue observar si el crecimiento de *F. oxysporum* AB2 presentaba diferencias al desarrollarse en un medio previamente colonizado por otro hongo y agregando una planta como parte del sustrato, así como investigar si estos entornos favorecían la producción de metabolitos adicionales con potencial para la inhibición bacteriana.

5.5 Cepas bacterianas

Para el cultivo de cepas bacterianas, se utilizó la cepa de *S. typhimurium* ATCC 14028, a la cual se le realizaron 6 diluciones iniciales tomando 100 µL de muestra y mezclándola en 900 µL de agua destilada. Las diluciones se sembraron con un asa de vidrio con la técnica de barrido en cajas Petri con agar nutritivo y se incubaron a temperatura ambiente durante un día. Estas diluciones se realizaron con el objetivo de reducir la concentración bacteriana y facilitar el aislamiento de colonias individuales. Una vez identificada *S. typhimurium* ATCC 14028 a través de una tinción de gram, se aisló utilizando un asa bacteriológica en un medio líquido específico para bacterias, destinado a usos posteriores. Con la bacteria ya aislada, se prepararon nuevas diluciones que se sembraron en cajas Petri con agar nutritivo y se incubaron a 25°C durante un día. Después de la siembra, se seleccionó una colonia aislada y bien definida, evitando aquellas con aglomeración excesiva. Utilizando un asa bacteriológica estéril, se tomó una porción de la colonia seleccionada y se inoculó en un medio de

cultivo líquido adecuado para el crecimiento bacteriano. El cultivo se incubó en una incubadora con agitación a 150 RPM y 37 °C, condiciones óptimas para promover el crecimiento activo de la bacteria. Este procedimiento se llevó a cabo con el objetivo de garantizar que la bacteria alcanzara la fase exponencial de crecimiento, requisito esencial para la realización de los experimentos posteriores, ya que en esta fase las células presentan una actividad metabólica uniforme y una alta tasa de proliferación. (Vásquez-Bonilla *et al.*, 2022).

5.6 Extracción y purificación de metabolitos

Para la extracción y purificación de metabolitos de *F. oxysporum* AB2 de las diferentes condiciones mencionadas anteriormente. Se preparó un cultivo para fermentación sólida usando PUF como soporte, sobre el cual *F. oxysporum* AB2 fue incubado durante 9 días a temperatura ambiente. Al finalizar este tiempo, se procedió a su tratamiento mediante filtración al vacío. Para ello, se montó un matraz Kitasato con un embudo Büchner y se transfirió el PUF con *F. oxysporum* AB2 al sistema, haciéndolo pasar por 150 mL de agua destilada, presionando el PUF para extraer el líquido. El PUF fue entonces almacenado en una bolsa, y el filtrado fue pasado nuevamente por el sistema de filtrado al vacío para recolectar la mayor cantidad de biomasa posible. La biomasa adherida al PUF se secó en un horno a 60°C durante un día (Juan *et al.*, 2020).

Pasado este tiempo, se pesó el PUF seco para determinar su masa inicial y así poder calcular posteriormente la cantidad de compuestos adsorbidos. Posteriormente, se sumergió en metanol (MeOH) al 84% hasta cubrirlo completamente. A continuación, el PUF sumergido con MeOH al 84% se sometió a agitación vigorosa durante 5 minutos, repitiendo este proceso en dos ciclos consecutivos. Entre cada ciclo de agitación, se permitió un período de reposo de 15 minutos. Una vez terminada la agitación, se filtró la solución dos veces al vacío usando el sistema de Kitasato y se almacenó temporalmente el PUF en un vaso precipitado. Posteriormente, se añadió una solución buffer PBS 1x en una relación de 2:1 respecto al volumen de MeOH y se volvió a filtrar, descartando el PUF y conservando la mezcla de metabolitos en la fase líquida. Para concentrar los metabolitos, se activó un cartucho Sep-Pak® C18 (1 g) pasándole 5 mL de MeOH y 5 mL de PBS 1x. Una vez activado el cartucho, se le hizo pasar toda la mezcla de metabolitos, seguida de 10 mL de agua para el lavado final. Finalmente, se eluyeron los metabolitos aplicando 0.5 mL de MeOH, y la solución obtenida se almacenó en tubos Eppendorf de 2mL estériles para su conservación en refrigeración. Este último procedimiento se repitió seis veces, los tubos fueron enumerados y refrigerados para usos posteriores (Vásquez-Bonilla *et al.*, 2022).

5.7 Determinación de la Concentración mínima inhibitoria

Para determinar la CMI primero se realizaron las siguientes diluciones de ciprofloxacino, utilizando una concentración inicial de 3mg/mL.

° Se diluyeron 200 µL de ciprofloxacino en 9800 µL de agua destilada, obteniendo una concentración de 600 µg/mL de ciprofloxacino.

° Para la segunda dilución, se diluyó 250 µL de ciprofloxacino de la primera dilución en 250 µL de agua destilada, obteniendo una concentración de 150 µg/mL de ciprofloxacino.

° La tercera dilución, se diluyó 250 µL de ciprofloxacino de la segunda dilución en 250 µL de agua destilada, obteniendo una concentración de 37.5 µg/mL de ciprofloxacino.

° La cuarta dilución, se diluyó 250 µL de ciprofloxacino de la tercera dilución en 250 µL de agua destilada, obteniendo una concentración de 9.375 µg/mL de ciprofloxacino.

° La quinta dilución, se diluyo 250 µL de ciprofloxacino de la cuarta dilución en 250 µL de agua destilada, obteniendo una concentración de 2.3437 µg/mL de ciprofloxacino.

° La sexta dilución, se diluyo 250 µL de ciprofloxacino de la quinta dilución en 250 µL de agua destilada, obteniendo una concentración de 0.5859 µg/mL de ciprofloxacino. Las diluciones resultantes fueron almacenadas en refrigeración para su uso posterior.

Una vez preparadas las soluciones, se determinó la CMI para lo cual se agregaron 40 µL de cada una de las diluciones para posteriormente mezclar con los metabolitos de *F. oxysporum* AB2. Tras identificar la CMI optima, se mezcló 250 µL ciprofloxacino de la concentración optima con 250 µL de los metabolitos obtenidos de las diferentes SSF mencionados con anterioridad, las soluciones resultantes fueron almacenadas en refrigeración para su uso posterior.

5.8 Antibiograma en pozo

Para evaluar el efecto antibacteriano, Se inoculo *S. typhimurium* ATCC 14028 en un tubo con cultivo bacteriano adecuado, el cual se incubó durante 24 horas. Este paso fue necesario para asegurar que la bacteria alcanzara la fase exponencial de crecimiento, condición óptima para la evaluación de su respuesta frente al tratamiento antibacteriano. Transcurrido el tiempo, inocularon 200 µL de *S. typhimurium* ATCC 14028 en caja Petri con agar nutritivo con la tecnica de barrido en cesped con un asa Drigalsky. A continuación, se generaron cuatro pozos en cada placa, en los que se añadieron 40 µL de la solución mezclada de ciprofloxacino con los M.S. de *F. oxysporum* AB2 (250 µL: 250 µL) obtenidos de cada una de las variantes de cultivo realizada (SSF 1x, SSF 3x, SSF 3x previamente colonizado por *B. bassiana* CHE-CNRCB4 inactivado y SSF 3x con cilantro como un componente del sustrato). Se añadió en un pozo MeOH y la dilución con la concentración de 150 µg/mL de ciprofloxacino en otro como controles. Las placas se incubaron a temperatura ambiente durante 24 horas Posteriormente con la ayuda de un vernier, se midió el halo de inibición de cada resultado. Los experimentos se realizaron por triplicado, asegurando así la reproducibilidad de los resultados (Ng *et al.*, 2020).

6. Resultados y Discusión

6.1 Producción de biomasa en sistemas SmF y SSF en diferentes condiciones

La **Tabla 1** muestra el peso de biomasa obtenido de *F. oxysporum* AB2 durante los cultivos realizados con sistemas SSF y SmF, a continuación, se presenta un análisis detallado de cada una de las condiciones evaluadas.

Tabla.1 Peso de Biomasa de *Fusarium oxysporum* AB2

Condiciones de Soporte	Peso de biomasa total (g)
1x SmF	0.15 ± 0.05 g
SSF 1x	0.23 ± 0.05 g
SSF 3x	1.4 ± 0.2 g
SSF 3x previamente colonizado por <i>B. bassiana</i> CHE-CNRCB4 inactivado	1.8 ± 0.2 g
SSF 3x con cilantro como un componente del sustrato	2g ± 0.2 g

La condición SmF muestra el menor peso de biomasa total de $0.15\text{g} \pm 0.05\text{ g}$. Esto es común ya que, en sistemas SmF, las condiciones de oxígeno y superficie para el crecimiento del hongo suelen ser limitadas en comparación con sistemas SSF, donde los hongos encuentran un ambiente más similar a su hábitat natural, favoreciendo la acumulación de biomasa (Wigati *et al.*, 2024). Por otra parte, la biomasa en SSF con condiciones 1x ($0.23\text{g} \pm 0.05\text{ g}$), mostro un incremento en comparación con SmF. Este cambio sugiere que el soporte sólido permite un crecimiento mejorado por el mayor y mejor transporte de oxígeno y también hay una mayor superficie de contacto (Srivastava *et al.*, 2019). Estos resultados muestran una gran similitud con los reportados por Singh *et al.* (2021). Dicho estudio se enfocó en la producción de celulasa a partir de dos cepas fúngicas, *Aspergillus niger* y *Aspergillus heteromorphus*, utilizando dos métodos de fermentación: SmF y SSF. En este trabajo, *Aspergillus heteromorphus* demostró la máxima actividad de celulasa, alcanzando 6.4 IU/g (Unidades Internacionales por gramo) de FPasa y 125 IU/g de CMCasa en condiciones de SSF. Los autores concluyeron que el sistema SSF es más eficiente que SmF para la producción de biomasa y enzimas, respaldando así los hallazgos de este estudio.

Por lo tanto, al incrementar la concentración del medio a 3x en el sistema SSF, se observó un crecimiento significativamente mayor de la biomasa ($1.4\text{ g} \pm 0.2\text{ g}$). Este resultado se explica, como se ha reportado previamente, por el aumento en la disponibilidad de nutrientes y la eficiencia del sistema de SSF, el cual favorece un ambiente más propicio para el crecimiento fúngico. De hecho, el sistema SSF 3x produjo una biomasa 7 veces mayor en comparación con el sistema SSF 1x ($0.23\text{ g} \pm 0.05\text{ g}$), lo que demuestra claramente el impacto positivo de una mayor concentración de nutrientes y las ventajas del sistema SSF sobre otras metodologías de fermentación. Cabe destacar que el PUF ha demostrado ser un soporte sólido eficaz para el crecimiento de hongos debido a su porosidad y estructura tridimensional, tal y como lo menciona Meyer *et al.* (2020) en su estudio del PUF como soporte sólido en SSF. Estas características no solo facilitan una mayor absorción y distribución uniforme de los nutrientes, sino que también promueven la proliferación micelial, optimizando intensivamente las condiciones metabólicas fúngicas. En conjunto, estos factores confirman el potencial del PUF como un un soporte sólido adecuado para el crecimiento y la producción de biomasa en hongos fitopatógenos. Hubo una gran similitud en los resultados que obtuvo Ferreira *et al.* (2020), aunque su principal objetivo era saber la producción de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA por sus siglas en inglés) con *Mortierella alpinaindican*, la producción de biomasa que obtuvo fue de .8 g esto quiere decir que la triplicación del medio y del PUF fue lo óptimo para el experimento realizado, ya que se obtuvo 6 veces mayor cantidad de biomasa que en la condición de SSF 1x.

En la condición del SSF 3x previamente colonizado por *B. bassiana* CHE-CNRCB431 el crecimiento de biomasa fue favorable ($1.8\text{g} \pm 0.2$). Esto indica que la precolonización del soporte con *B. bassiana*

CHE-CNRCB431 incrementó considerablemente la biomasa de *F. oxysporum* AB2. Estos efectos que se obtuvieron se deben a varios factores: Al estar en un ambiente previamente colonizado por *B. bassiana* (ya inactivado), se favoreció el crecimiento de *F. oxysporum* AB2, posiblemente por la degradación de compuestos inhibitorios o por la liberación de metabolitos que beneficiaron su crecimiento (Blanca, 2024). Además, la colonización inicial por *B. bassiana* puede haber alterado la estructura del soporte de PUF, mejorando la retención de humedad y nutrientes y, por tanto, creando una superficie de contacto óptima para *F. oxysporum*. También es probable que los restos celulares y metabolitos de *B. bassiana*, una vez muerto, actuaran como fuente adicional de nutrientes, estimulando el crecimiento de *F. oxysporum* AB2 tal y como explican los autores Zúñiga-Castro & Quirós-Cedeño (2021) que afirman sobre cómo se beneficia los hongos sobre las células muertas. Estos resultados obtenidos en este experimento muestran una diferencia significativa en comparación con los reportados por Alias *et al.* (2022). En este estudio, se utilizó el hongo *Trichoderma spp.*, específicamente la especie *Trichoderma harzianum* T-22, la cual alcanzó una producción de biomasa de 174.26 ± 2.87 mg/g. Esta variación puede atribuirse al uso de residuos orgánicos provenientes del sector agrícola, los cuales incluyeron una mezcla de hongos y frutas como sustrato para la fermentación. Estos materiales orgánicos probablemente proporcionaron condiciones más favorables para el crecimiento y la actividad metabólica del hongo, lo que resultó en una mayor producción de biomasa en comparación con los resultados previos.

Por último los resultados que se obtuvieron en la condición SSF 3x con cilantro como un componente del sustrato mostraron la mayor biomasa ($2g \pm 0.2$), la adición de cilantro como sustrato favoreció notablemente el crecimiento de *F. oxysporum* AB2. Esto se atribuye a que el cilantro actuó como una fuente nutricional efectiva, promoviendo un ambiente adecuado para el hongo, esto se explica ya que el material vegetal puede influir en la expresión de algunos genes en la especie *Fusarium* (Zuriegat *et al.*, 2021). Los componentes del cilantro, como azúcares, aminoácidos y compuestos fenólicos, probablemente estimularon el crecimiento y la actividad metabólica de *F. oxysporum* AB2 (López-Martínez *et al.*, 2023). Dado que este hongo es fitopatógeno, parece capaz de aprovechar compuestos específicos del cilantro, lo que sugiere una interacción positiva entre el hongo y el material vegetal, que a su vez estimula la producción de biomasa. Como lo explica un estudio el en que se afirma como *Fusarium* aprovecha y adquiere el metabolismo y los nutrientes que la planta debería tener (Cabrera *et al.*, 2019). Al comparar los resultados obtenidos en este estudio con los reportados por Ahmed *et al.* (2024), se observa que los valores de biomasa obtenidos en la investigación son inferiores. En la investigación de Ahmed *et al.* (2024) reportaron una producción de biomasa de 21.3 ± 0.1 g/L utilizando piña como sustrato en *Aspergillus niger*. Esta diferencia puede atribuirse principalmente a la cantidad de sustrato empleado en cada estudio. Mientras que en su trabajo se utilizaron 50 mL de cada desperdicio de frutas como sustrato, en nuestro caso se emplearon solo 0.5 g de cilantro. Esta discrepancia en la cantidad de sustrato utilizado explica, en gran medida, la menor producción de biomasa observada en la investigación en comparación con los resultados reportados por Ahmed *et al.* (2024).

6.2 Interacción entre metabolitos de *Fusarium Oxysporum* AB2 y ciprofloxacino

En el análisis de la **Tabla 2**, que presenta las medidas de los halos de inhibición obtenidos con distintas combinaciones de ciprofloxacino y metabolitos de *F. oxysporum* AB2 producidos bajo diferentes condiciones de SSF, cuyos resultados se ilustran en la **Figura 1**, se pueden realizar las siguientes observaciones. Cabe destacar que se utilizó una concentración de 150 µg/mL de ciprofloxacino como punto de referencia para los experimentos, así como también se empleó como control. Esta concentración permitió evaluar de manera comparativa el efecto antimicrobiano de los metabolitos fúngicos en combinación con el antibiótico, proporcionando una base sólida para el análisis de los resultados.

Tabla 2. Inhibición de la mezcla de metabolito secundarios de *Fusarium Oxysporum* AB2 con Ciprofloxacino

Condiciones de SSF	Halos de inhibición (cm)
Concentración de 150 µg/mL de ciprofloxacino (Control)	2.9
SSF 1x	2.5 ± 0.3
SSF 3x	2.4
SSF 3x con cilantro como un componente del sustrato	2.5 ± 0.2
SSF 3x previamente colonizado por <i>B. bassiana</i> CHE-CNRCB4 inactivada	2.6 ± 0.1

La condición SSF 1x mostró halos de inhibición de 2.5 ± 0.3 cm, mientras que SSF 3x presentó halos de 2.4 cm, lo que indica una actividad antibacteriana significativa en ambos casos. Esto sugiere que, aunque la producción de biomasa fue mayor en el sistema SSF 3x en comparación con SSF 1x, la actividad antibacteriana se mantuvo similar entre ambos sistemas.

Además, estos resultados demuestran una clara sinergia entre el ciprofloxacino y los metabolitos de *F. oxysporum*, ya que la combinación de ambos compuestos mantiene una actividad antimicrobiana efectiva. Al comparar los halos de inhibición obtenidos en las condiciones SSF 1x y SSF 3x (2.5 ± 0.3 ; 2.4 cm) con el halo de la concentración de 150 µg/mL de ciprofloxacino (2.9 cm), se observa que, a pesar de haber diluido a la mitad la concentración del antibiótico, se sigue obteniendo una inhibición significativa con halos de 2.5 ± 0.3 cm para SSF 1x y 2.4 cm para SSF 3x. Esto refuerza la idea de que los M.S de *F. oxysporum* AB2 potencian la acción del ciprofloxacino, permitiendo que incluso diluyendo la concentración del antibiótico se logre un efecto inhibitorio relevante.

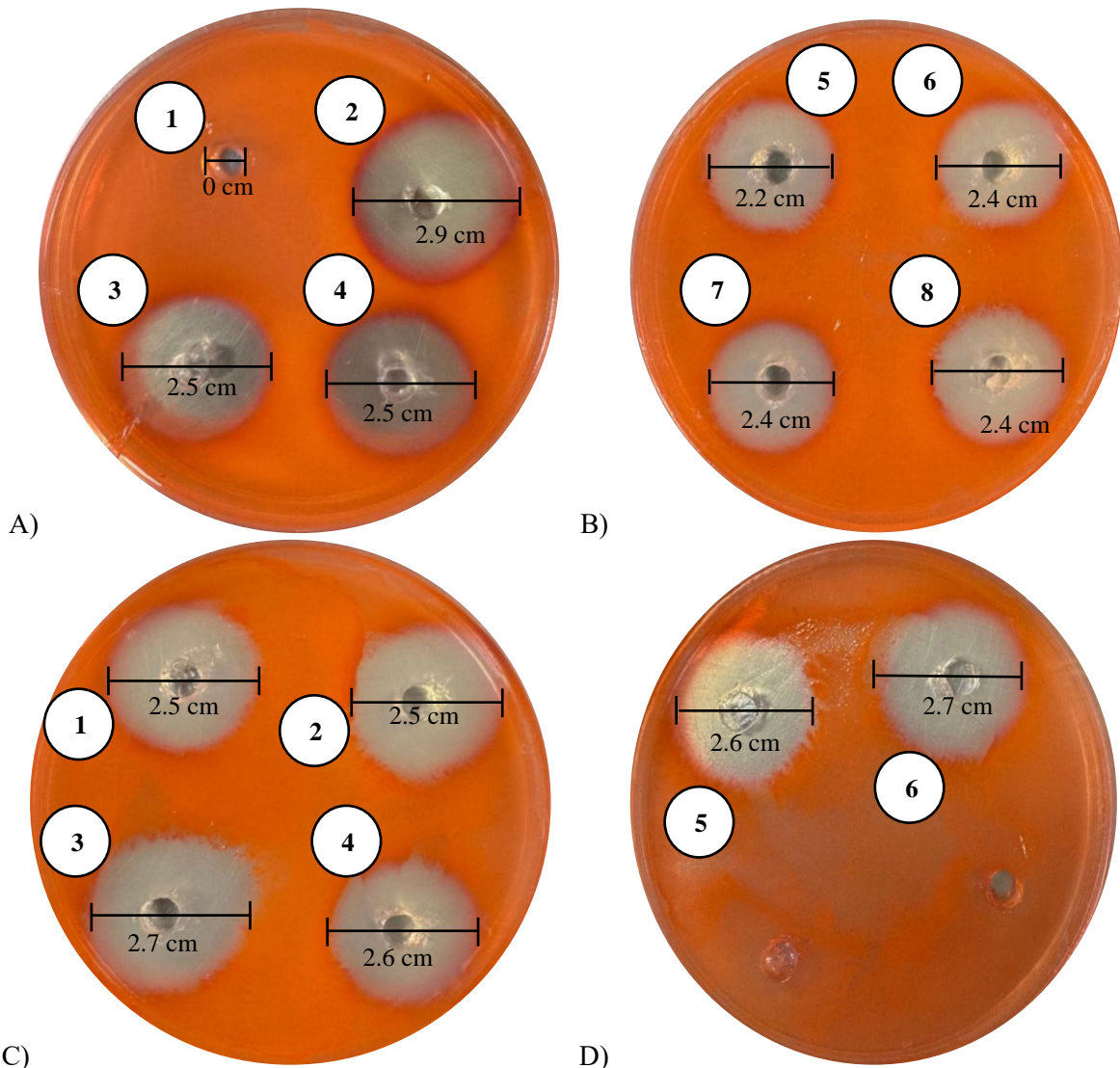


Figura 1. Resultados de la actividad antibacteriana de la mezcla de metabolitos secundarios de *Fusarium oxysporum* AB2 bajo diferentes condiciones de fermentación en estado sólido (SSF), con una concentración de 150 µg/mL de ciprofloxacino contra *Salmonella typhimurium* ATCC 14028. Las mediciones de los halos de inhibición se realizaron con un vernier y se expresaron en centímetros. **Sección A:** (1) Disolvente (metanol) como control negativo. (2) Concentración de 150 µg/mL de ciprofloxacino como control positivo. (3) y (4) Condiciones de SSF 1x. **Sección B:** (5) Condición de SSF 1x. (6), (7) y (8) Condiciones de SSF 3x. **Sección C:** (1), (2) y (3) Condiciones de SSF 3x con cilantro como componente del sustrato. (4) Condición de SSF 3x previamente colonizado por *Beauveria bassiana* CHE-CNRCB4 inactivado. **Sección D:** (5) y (6) Condiciones de SSF 3x previamente colonizado por *Beauveria bassiana* CHE-CNRCB4 inactivado.

Uno de los compuestos que podrían estar involucrados en este fenómeno es la Karikumones B, una quinolona que exhibe actividad contra bacterias gramnegativas, con una CMI de 125 µg/mL (Xu & Huang, 2023). El mecanismo de acción de las quinolonas, incluido el ciprofloxacino, se basa en la inhibición de dos enzimas cruciales para la replicación, transcripción y reparación del ADN bacteriano: la ADN topoisomerasa II (también conocida como ADN girasa) y la ADN topoisomerasa IV (Shariati *et al.*, 2022). Por lo tanto, es plausible que la presencia de metabolitos como la Karikumona B, que podrían actuar sobre dianas moleculares similares o complementarias a las del ciprofloxacino, esté potenciando la actividad antimicrobiana de la mezcla. Esto sugiere que existe una complementariedad entre los metabolitos producidos por *F. oxysporum* AB2 y el ciprofloxacino, donde ambos compuestos podrían estar interactuando de manera sinérgica para inhibir el crecimiento bacteriano de forma más efectiva.

Estos resultados no solo demuestran una actividad antimicrobiana significativa contra *S.typhimurium* ATCC 14028, sino que también sugieren la posibilidad de reducir los efectos adversos asociados al uso frecuente de antibióticos como el ciprofloxacino. Al combinar los metabolitos secundarios de *F. oxysporum* AB2 con el ciprofloxacino, se podría disminuir la concentración necesaria del antibiótico para lograr un efecto inhibitorio efectivo, lo que a su vez reduciría la exposición del organismo a dosis altas del fármaco y, por ende, mitigaría los efectos secundarios que este puede generar. Esta estrategia abre nuevas perspectivas para el uso más eficiente y seguro de los antibióticos, ya que al complementarlos con compuestos de origen natural, como los M.S fúngicos, se podría potenciar su actividad antimicrobiana sin incrementar su toxicidad. Además, al emplear dosis más bajas de antibióticos, se contribuiría a disminuir la presión selectiva que favorece la aparición de resistencia bacteriana, un problema global de salud pública que limita la eficacia de los tratamientos actuales (Perry *et al.*, 2022) .

Al comparar los resultados obtenidos con los reportados por Santra *et al.* (2022) en su investigación, se observa una similitud en los hallazgos. La investigación analizó la acción sinérgica entre *Cochliobolus sp.* APS1, una fracción bioactiva, y el antibiótico ciprofloxacino contra *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA). Para evaluar la interacción entre ambos compuestos, se empleó el ensayo checkerboard assay, una técnica que permite determinar el efecto combinado de dos agentes antimicrobianos. Los hallazgos revelaron que la combinación de 7.81 µg/mL de la fracción de acetato de etilo (EA) de APS1 y 0.3 µg/mL de ciprofloxacino mostró un efecto sinérgico contra MRSA, con un índice de concentración inhibitoria fraccional (Σ FIC) de 0.42. Estos hallazgos respaldan el uso combinado de ciprofloxacino con metabolitos secundarios de hongos como una estrategia prometedora, ya que ofrecen importantes beneficios terapéuticos y exhiben un marcado efecto sinérgico.

Las dos últimas condiciones evaluadas demostraron una actividad antibacteriana significativa y sinérgica con el ciprofloxacino. En el caso de SSF 3x con cilantro como componente del sustrato, se observó un halo de inhibición de 2.5 ± 0.2 cm, mientras que en SSF 3x previamente colonizado por *B. bassiana* CHE-CNRCB4 inactivada, el halo fue de 2.6 ± 0.1 cm. Este ligero aumento en la actividad antimicrobiana puede atribuirse a las condiciones alternas utilizadas para el crecimiento de *F.oxysporum*. Como se ha reportado previamente, los hongos pueden obtener beneficios tanto de células muertas como de material vegetal, lo que induce cambios en la expresión de genes y, en consecuencia, en la producción de metabolitos secundarios (Zúñiga-Castro & Quirós-Cedeño, 2021; Zuriegat *et al.*, 2021). Estas condiciones podrían haber favorecido la expresión de genes específicos en *F. oxysporum*, resultando en una mayor producción de compuestos bioactivos que potencian la sinergia con el ciprofloxacino.

La sinergia entre los metabolitos de hongos y los antibióticos constituye un área de investigación amplia y en constante exploración. Un ejemplo de ello es el estudio realizado por Almuzaini (2023), quien demostró que los compuestos fitoquímicos extraídos de diversas plantas no solo presentan actividad antibacteriana contra *S. typhimurium* ATCC 14028, sino que también exhiben un efecto sinérgico cuando se combinan con antibióticos. *S. typhimurium* es un patógeno de gran relevancia en la salud pública debido a su impacto global, lo que ha motivado numerosos estudios para evaluar estrategias antimicrobianas alternativas. En contraste con los hallazgos de Almuzaini (2023) y la presente investigación, el trabajo de Bekoe *et al.* (2021) no evidenció actividad antibacteriana en los metabolitos producidos por los hongos *Aspergillus chevalieri* y *Trichoderma harzianum* frente a *S. typhimurium*. Estos resultados resaltan la variabilidad en la eficacia antimicrobiana de los metabolitos fúngicos, dependiendo de la especie de hongo y las condiciones experimentales. En este contexto, la presente investigación sugiere que *F. oxysporum* AB2 demuestra una actividad antibacteriana contra *S. typhimurium* ATCC 14028, tal como se observó en pruebas realizadas con antibiótico.

7. Conclusión

El presente estudio demostró que los metabolitos de *F. oxysporum* AB2 exhiben un efecto sinérgico con el ciprofloxacino, lo que sugiere que la combinación de ambos compuestos potencia la actividad antibacteriana. Esta sinergia podría estar relacionada con la producción, por parte del hongo, de compuestos estructuralmente similares a las quinolonas, los cuales podrían actuar de manera complementaria al mecanismo de acción del antibiótico, ya sea facilitando su penetración, bloqueando mecanismos de resistencia bacteriana o afectando vías metabólicas clave.

Además, *F. oxysporum* AB2 mostró actividad antibacteriana significativa contra *S. typhimurium* ATCC 14028, lo que indica que sus metabolitos poseen un potencial antimicrobiano intrínseco. Este hallazgo refuerza su utilidad en estrategias terapéuticas combinadas, donde la sinergia entre los metabolitos fúngicos y el ciprofloxacino no solo mejora la eficacia del tratamiento, sino que también podría permitir el uso de dosis más bajas del antibiótico, reduciendo así los efectos adversos asociados a su administración frecuente.

Asimismo, se observó que la producción de biomasa de *F. oxysporum* AB2 puede incrementarse sustancialmente mediante el uso de sistemas sólidos alternativos. En particular, la utilización de con cilantro como un componente del sustrato y restos celulares de *B. bassiana* CHE-CNRCB431 favoreció el crecimiento fúngico y, potencialmente, la producción de metabolitos bioactivos. Esto sugiere que el empleo de materiales orgánicos, ya sean de origen vegetal o fúngico, puede optimizar la biosíntesis de M.S en *F. oxysporum*.

Este enfoque representa una alternativa prometedora para combatir la resistencia bacteriana, un problema global de salud pública, ya que al disminuir la presión selectiva generada por el uso excesivo de antibióticos, se contribuye a frenar la aparición y propagación de cepas resistentes. En conjunto, estos resultados destacan el potencial de los metabolitos de *F. oxysporum* AB2 como coadyuvantes en terapias antimicrobianas, ofreciendo una estrategia innovadora y sostenible para el manejo de infecciones bacterianas. No obstante, para confirmar que la actividad antibacteriana observada es atribuible exclusivamente a los metabolitos de *F. oxysporum*, se recomienda realizar ensayos adicionales sin la presencia de antibióticos, empleando diferentes sustratos, con el objetivo de evaluar de manera más precisa su efecto antimicrobiano intrínseco.

8. Referencias bibliograficas

- Ahmad, M., & Khan, A. U. (2019). Global economic impact of antibiotic resistance: A review. *Journal Of Global Antimicrobial Resistance*, 19, 313-316. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2019.05.024>
- Ahmed, M. G., Gouda, S. A., Donia, S., & Hassanein, N. M. (2024). Production of single cell protein by fungi from different food wastes. *Biomass Conversion and Biorefinery*. <https://doi.org/10.1007/s13399-024-05478-5>
- Alias, C., Bulgari, D., & Gobbi, E. (2022). It Works! Organic-Waste-Assisted Trichoderma spp. Solid-State Fermentation on Agricultural Digestate. *Microorganisms*, 10(1), 164. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10010164>
- Almuzaini, A. M. (2023). Phytochemicals: potential alternative strategy to fight Salmonella enterica serovar Typhimurium. *Frontiers In Veterinary Science*, 10. <https://doi.org/10.3389/fvets.2023.1188752>
- Arce-Torres, L. F., Gómez-Díaz, I., Monge-Artavia, M., & Prado-Cordero, J. (2020). Metabolitos secundarios con actividad medicinal extraídos de hongos provenientes de Centroamérica. *Revista Tecnología En Marcha*. <https://doi.org/10.18845/tm.v33i3.4416>
- Arslan, H. Ş., & Yerlikaya, S. (2022). Salmonella typhimurium ATCC 14028 inhibition with various extracts. *Journal of Agroalimentary Processes & Technologies*, 28(1).
- Bacterial type strains*. (s. f.). ATCC. <https://www.atcc.org/blogs/2022/bacterial-type-strains>
- Bekoe, E. O., Wiafe-Kwagyan, M., & Gaysi, J. (2021). Antibacterial activity of the metabolites of Aspergillus chevalieri and Trichoderma harzianum. *International Journal Of Pharmacy And Pharmaceutical Sciences*, 67-70. <https://doi.org/10.22159/ijpps.2021v13i2.39654>
- BLANCA, P. (2024). *EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DE ENSILADO DE SUSTRATO RESIDUAL DE LA PRODUCCIÓN DE HONGOS DE* (Doctoral dissertation, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO).
- Cabrera, R., Palafox, S., & Valenzuela, A. I. (2019). Estrategias para el control del hongo fitopatógeno Fusarium en el sector agrícola: del control químico al control biológico. *Frontera Biotecnológica*, 12(3), 19-26
- Cebrián, M., & Ibaruri, J. (2023). Filamentous fungi processing by solid-state fermentation. En Elsevier eBooks (pp. 251-292). <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-91872-5.00003-x>
- Conrado, R., Gomes, T. C., Roque, G. S. C., & De Souza, A. O. (2022). Overview of Bioactive Fungal Secondary Metabolites: Cytotoxic and Antimicrobial Compounds. *Antibiotics*, 11(11), 1604. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11111604>
- De Lamo, F. J., & Takken, F. L. W. (2020). Biocontrol by Fusarium oxysporum Using Endophyte-Mediated Resistance. *Frontiers In Plant Science*, 11. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00037>
- Delgado, B. P., Ortega, J. A., Martínez, D. Y., & Coca, B. M. (2021). Los hongos endófitos y sus aplicaciones potenciales en la agricultura. *Revista de Protección Vegetal*, 36(3).

- Devi, R., Kaur, T., Guleria, G., Rana, K. L., Kour, D., Yadav, N., Yadav, A. N., & Saxena, A. K. (2020). Fungal secondary metabolites and their biotechnological applications for human health. En *Elsevier eBooks* (pp. 147-161). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-820528-0.00010-7>
- Dweba, C., Figlan, S., Shimelis, H., Motaung, T., Sydenham, S., Mwadzingeni, L., & Tsilo, T. (2016). Fusarium head blight of wheat: Pathogenesis and control strategies. *Crop Protection*, 91, 114-122. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2016.10.002>
- Edel-Hermann, V., & Lecomte, C. (2018). Current Status of *Fusarium oxysporum* Formae Speciales and Races. *Phytopathology*, 109(4), 512-530. <https://doi.org/10.1094/phyto-08-18-0320-rvw>
- Fauba (Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires). (2020). Vuelco del Maíz (Podredumbres de raíces y base del tallo) <http://herbariofitopatologia.agro.uba.ar/?page>
- Ferreira, M., Fernandes, H., Peres, H., Oliva-Teles, A., Belo, I., & Salgado, J. M. (2020). Polyunsaturated fatty acids production by solid-state fermentation on polyurethane foam by *Mortierella alpina*. *Biotechnology Progress*, 37(3). <https://doi.org/10.1002/btpr.3113>
- Galán, J. E. (2021). Salmonella Typhimurium and inflammation: a pathogen-centric affair. *Nature Reviews Microbiology*, 19(11), 716-725. <https://doi.org/10.1038/s41579-021-00561-4>
- Guo, L., Gong, S., Wang, Y., Sun, Q., Duo, K., & Fei, P. (2020). Antibacterial Activity of Olive Oil Polyphenol Extract Against *Salmonella Typhimurium* and *Staphylococcus aureus*: Possible Mechanisms. *Foodborne pathogens and disease*, 17(6), 396–403. <https://doi.org/10.1089/fpd.2019.2713>
- Gupta, V., Pal, K., Bhagat, A., Goel, A., & Chander, J. (2020). Quinolone Susceptibility in *Salmonella* Isolates Based on Minimum Inhibitory Concentration Determination. *Journal of laboratory physicians*, 12(4), 263–267. <https://doi.org/10.1055/s-0040-1721163>.
- Ibrahim, S. R. M., Sirwi, A., Eid, B. G., Mohamed, S. G. A., & Mohamed, G. A. (2021). Bright Side of *Fusarium oxysporum*: Secondary Metabolites Bioactivities and Industrial Relevance in Biotechnology and Nanotechnology. *Journal of fungi (Basel, Switzerland)*, 7(11), 943. <https://doi.org/10.3390/jof7110943>
- Jackson, E., Li, J., Weerasinghe, T., & Li, X. (2024). The Ubiquitous Wilt-Inducing Pathogen *Fusarium oxysporum*-A Review of Genes Studied with Mutant Analysis. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 13(10), 823. <https://doi.org/10.3390/pathogens13100823>
- Jo, C., Zhang, J., Tam, J. M., Church, G. M., Khalil, A. S., Segrè, D., & Tang, T. (2023). Unlocking the magic in mycelium: Using synthetic biology to optimize filamentous fungi for biomanufacturing and sustainability. *Materials Today Bio*, 19, 100560. <https://doi.org/10.1016/j.mtbio.2023.100560>
- Joshi, R. (2018). A review of *Fusarium oxysporum* on its plant interaction and industrial use. *Journal Of Medicinal Plants Studies*, 6(3b), 112-115. <https://doi.org/10.22271/plants.2018.v6.i3b.07>
- Juan, C., De Simone, G., Sagratini, G., Caprioli, G., Mañes, J., & Juan-García, A. (2020). Reducing the effect of beauvericin on neuroblastoma SH-SY5Y cell line by natural products. *Toxicon*, 188, 164-171. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2020.10.017>

- Koike ST, Wilen CA, Raabe RD, McCain AH, Grebus ME. (2019). Fusarium Wilt. <https://ipm.ucanr.edu/agriculture/floriculture-and-ornamental-nurseries/fusarium-wilt/#gsc.tab=0>
- Kuzhuppillymyal-Prabhakarankutty, L., Martínez-Meléndez, A., & Cruz-López, F. (2023). Los metabolitos secundarios como agentes antimicrobianos. *Biología y Sociedad*, 6(12), 33-40. <https://doi.org/10.29105/bys6.12-94>
- Li, M., Yu, R., Bai, X., Wang, H., & Zhang, H. (2020). Fusarium: a treasure trove of bioactive secondary metabolites. *Natural product reports*, 37(12), 1568–1588. <https://doi.org/10.1039/d0np00038h>
- Li, W., Han, H., Liu, J., Ke, B., Zhan, L., Yang, X., Tan, D., Yu, B., Huo, X., Ma, X., Wang, T., Chen, S., Sun, Y., Chen, W., Li, Y., Liu, C., Yang, Z., & Guo, Y. (2023). Antimicrobial resistance profiles of Salmonella isolates from human diarrhea cases in China: an eight-year surveillance study. *One Health Advances*, 1(1). <https://doi.org/10.1186/s44280-023-00001-3>
- López-Martínez, S., Chan-Jiménez, J. E., López, E. S. H., & Rodríguez-Luna, A. R. (2023). Oreganón, perejil, cilantro, hierbabuena y albahaca a través de difracción de rayos x. *BIOTecnia*, 25(3), 113-124. <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v25i3.1862>
- Lübeck, M., & Lübeck, P. S. (2022). Fungal Cell Factories for Efficient and Sustainable Production of Proteins and Peptides. *Microorganisms*, 10(4), 753. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10040753>
- Lysakova, V., Krasnopolskaya, L., Yarina, M., & Ziangirova, M. (2024). Antibacterial and Antifungal Activity of Metabolites from Basidiomycetes: A Review. *Antibiotics*, 13(11), 1026. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13111026>
- Mendes, L. W., Raaijmakers, J. M., De Hollander, M., Sepo, E., Expósito, R. G., Chiorato, A. F., Mendes, R., Tsai, S. M., & Carrión, V. J. (2023). Impact of the fungal pathogen *Fusarium oxysporum* on the taxonomic and functional diversity of the common bean root microbiome. *Environmental Microbiome*, 18(1). <https://doi.org/10.1186/s40793-023-00524-7>
- Meyer, V., Basenko, E. Y., Benz, J. P., Braus, G. H., Caddick, M. X., Csukai, M., De Vries, R. P., Endy, D., Frisvad, J. C., Gunde-Cimerman, N., Haarmann, T., Hadar, Y., Hansen, K., Johnson, R. I., Keller, N. P., Kraševac, N., Mortensen, U. H., Perez, R., Ram, A. F. J., . . . Wösten, H. A. B. (2020). Growing a circular economy with fungal biotechnology: a white paper. *Fungal Biology And Biotechnology*, 7(1). <https://doi.org/10.1186/s40694-020-00095-z>
- Mobarki, N., Almerabi, B., & Hattan, A. (2019). Antibiotic resistance crisis. *International Journal Of Medicine In Developing Countries*, 561-564. <https://doi.org/10.24911/ijmdc.51-1549060699>
- Ng, W., Sit, N., Ooi, P. A., Ee, K., & Lim, T. (2020). The Antibacterial Potential of Honeydew Honey Produced by Stingless Bee (*Heterotrigona itama*) against Antibiotic Resistant Bacteria. *Antibiotics*, 9(12), 871. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9120871>
- Núñez Castro, K. M. (2020). Identificación de resistencia fenotípica y genotípica en cepas de salmonella spp. Aisladas en el noroeste de México.

- Omar, F. M. (2021). EVALUACIÓN DEL METIL JASMONATO EN LA VIDA POSCOSECHA DE *Lilium*. <http://hdl.handle.net/20.500.11799/110642>
- Pérez, L., Suárez Pérez, Y., Rubio Ortega, A., & Travieso Novelles, M. del C. (2021). Actualidad y perspectivas de los antimicrobianos naturales. *Revista Cubana De Farmacia*, 54(3). Recuperado a partir de <https://revfarmacia.sld.cu/index.php/far/article/view/631>
- Perry, E. K., Meirelles, L. A., & Newman, D. K. (2022). From the soil to the clinic: the impact of microbial secondary metabolites on antibiotic tolerance and resistance. *Nature Reviews Microbiology*, 20(3), 129-142. <https://doi.org/10.1038/s41579-021-00620-w>
- Prasher, P., & Sharma, M. (2021). Medicinal chemistry of anthranilic acid derivatives: A mini review. *Drug Development Research*, 82(7), 945-958. <https://doi.org/10.1002/ddr.21842>
- Peteira Delgado, B., Arévalo Ortega, J., Ynfante Martínez, D., & Martínez Coca, B. (2021). Los hongos endófitos y sus aplicaciones potenciales en la agricultura. *Revista De Protección Vegetal*, 36(3). Recuperado a partir de <https://revistas.censa.edu.cu/index.php/RPV/article/view/1167>
- Ribeiro, R., Pinto, E., Fernandes, C., & Sousa, E. (2022). Marine Cyclic Peptides: Antimicrobial Activity and Synthetic Strategies. *Marine Drugs*, 20(6), 397. <https://doi.org/10.3390/md20060397>
- Saha, S., Huang, L., Khoso, M. A., Wu, H., Han, D., Ma, X., Poudel, T. R., Li, B., Zhu, M., Lan, Q., Sakib, N., Wei, R., Islam, M. Z., Zhang, P., & Shen, H. (2023). Fine root decomposition in forest ecosystems: an ecological perspective. *Frontiers In Plant Science*, 14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1277510>
- Santra, H. K., Maity, S., & Banerjee, D. (2022). Production of Bioactive Compounds with Broad Spectrum Bactericidal Action, Bio-Film Inhibition and Antilarval Potential by the Secondary Metabolites of the Endophytic Fungus *Cochliobolus* sp. APS1 Isolated from the Indian Medicinal Herb *Andrographis paniculata*. *Molecules*, 27(5), 1459. <https://doi.org/10.3390/molecules27051459>
- Serwecińska, L. (2020). Antimicrobials and Antibiotic-Resistant Bacteria: A Risk to the Environment and to Public Health. *Water*, 12(12), 3313. <https://doi.org/10.3390/w12123313>
- Shariati, A., Arshadi, M., Khosrojerdi, M. A., Abedinzadeh, M., Ganjalishahi, M., Maleki, A., Heidary, M., & Khoshnood, S. (2022). The resistance mechanisms of bacteria against ciprofloxacin and new approaches for enhancing the efficacy of this antibiotic. *Frontiers In Public Health*, 10. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2022.1025633>
- Shankar, A., & Sharma, K. K. (2022). Fungal secondary metabolites in food and pharmaceuticals in the era of multi-omics. *Applied Microbiology And Biotechnology*, 106(9-10), 3465-3488. <https://doi.org/10.1007/s00253-022-11945-8>
- Srivastava, N., Srivastava, M., Ramteke, P., & Mishra, P. (2019). Solid-State Fermentation Strategy for Microbial Metabolites Production: An Overview. En *Elsevier eBooks* (pp. 345-354). <https://doi.org/10.1016/b978-0-444-63504-4.00023-2>
- Srinivas, C., Devi, D. N., Murthy, K. N., Mohan, C. D., Lakshmeesha, T., Singh, B., Kalagatur, N. K., Niranjana, S., Hashem, A., Alqarawi, A. A., Tabassum, B., Abd_Allah, E. F., Nayaka, S. C., &

- Srivastava, R. K. (2019). *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* causal agent of vascular wilt disease of tomato: Biology to diversity– A review. *Saudi Journal Of Biological Sciences*, 26(7), 1315-1324. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.06.002>
- Suarez, J. M. R., Pazmiño, J. P. S., Mendoza, G. A. G., Párraga, M. E. N., & Adrián, H. M. D. (2024). Optimización de Sustratos Sólidos para la Producción de Conidios de *Beauveria* spp. e *Isaria* spp. Emergentes - Revista Científica, 4(2), 611-626. <https://doi.org/10.60112/erc.v4i2.168>
- Sun, H., Wan, Y., Du, P., & Bai, L. (2019). The Epidemiology of Monophasic *Salmonella* Typhimurium. *Foodborne Pathogens And Disease*, 17(2), 87-97. <https://doi.org/10.1089/fpd.2019.2676>
- Sun, Y., Chen, B., Li, X., Yin, Y., & Wang, C. (2022). Orchestrated Biosynthesis of the Secondary Metabolite Cocktails Enables the Producing Fungus to Combat Diverse Bacteria. *mBio*, 13(5). <https://doi.org/10.1128/mbio.01800-22>
- Syarifah, S., Elfita, E., Widjajanti, H., Setiawan, A., & Kurniawati, A. R. (2021). Diversity of endophytic fungi from the root bark of *Syzygium zeylanicum*, and the antibacterial activity of fungal extracts, and secondary metabolite. *Biodiversitas Journal Of Biological Diversity*, 22(10). <https://doi.org/10.13057/biodiv/d221051>
- Tiwari, P., & Park, K. (2024). Advanced Fungal Biotechnologies in Accomplishing Sustainable Development Goals (SDGs): What Do We Know and What Comes Next? *Journal Of Fungi*, 10(7), 506. <https://doi.org/10.3390/jof10070506>
- Tursi, S. A., Puligedda, R. D., Szabo, P., Nicastro, L. K., Miller, A. L., Qiu, C., Gallucci, S., Relkin, N. R., Buttaro, B. A., Dessain, S. K., & Tükel, Ç. (2020). *Salmonella* Typhimurium biofilm disruption by a human antibody that binds a pan-amyloid epitope on curli. *Nature Communications*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-020-14685-3>
- Vásquez-Bonilla, J. N., Barranco-Florido, J. E., Ponce-Alquicira, E., Rincón-Guevara, M. A., & Loera, O. (2022). Improvement of beauvericin production by *Fusarium oxysporum* AB2 under solid-state fermentation using an optimised liquid medium and co-cultures. *Mycotoxin Research*, 38(3), 175-183. <https://doi.org/10.1007/s12550-022-00458-y>
- Wang, N., Luo, J., Deng, F., Huang, Y., & Zhou, H. (2022). Antibiotic Combination Therapy: A Strategy to Overcome Bacterial Resistance to Aminoglycoside Antibiotics. *Frontiers In Pharmacology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.839808>
- Wang, W. (2022). *Salmonella typhi* Characteristics and Cultural Methods. *Journal of Plant Pathology & Microbiology*, 13(12), 1-1.
- Wellington, M. C. O. (2022). Principales fungicidas químicos para el control del hongo *Fusarium verticillioides*, que afectan en el cultivo de maíz (*Zea mays* L.)". <http://dspace.utb.edu.ec/handle/49000/13370>
- Wei, J., & Wu, B. (2020). Chemistry and bioactivities of secondary metabolites from the genus *Fusarium*. *Fitoterapia*, 146, 104638. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2020.104638>
- Wigati, D., Setyowati, E. P., Pratiwi, S. U. T., & Nugraha, A. S. (2024). *Trichoderma reesei* JCM 2267, fungi-associated sponge *Stylissa flabelliformis*: Effects of applied different fermentation methods on their

- antibacterial activity. *Journal Of Advanced Pharmaceutical Technology Amp Research*, 15(4), 243-247. https://doi.org/10.4103/japtr.japtr_7_24
- Wojtasik, W., Dymińska, L., Hanuza, J., Burgberger, M., Boba, A., Szopa, J., Kulma, A., & Mierziak, J. (2024). Endophytic non-pathogenic *Fusarium oxysporum* reorganizes the cell wall in flax seedlings. *Frontiers In Plant Science*, 15. <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1352105>
- Xu, L., Liu, Y., Zhou, L., & Wu, J. (2010). Optimization of a liquid medium for beauvericin production in *Fusarium redolens* Dzf2 mycelial culture. *Biotechnology And Bioprocess Engineering*, 15(3), 460-466. <https://doi.org/10.1007/s12257-009-3031-2>
- Xu, M., Huang, Z., Zhu, W., Liu, Y., Bai, X., & Zhang, H. (2023). *Fusarium*-Derived Secondary Metabolites with Antimicrobial Effects. *Molecules*, 28(8), 3424. <https://doi.org/10.3390/molecules28083424>
- Yuan, L., Liu, Y., Chen, C., Yang, Z., & Jiao, X. (2023). Biofilm formation, antibiotic resistance, and genome sequencing of a unique isolate *Salmonella Typhimurium* M3. *Quality Assurance And Safety Of Crops & Foods*, 15(1), 114-122. <https://doi.org/10.15586/qas.v15i1.1225>
- Zúñiga-Castro, N. K., & Quirós-Cedeño, N. G. (2021). Los hongos como elementos clave en la productividad del suelo, la agricultura y el bienestar social. *Biocenosis*, 32(1), 46-58. <https://doi.org/10.22458/rb.v32i1.3548>
- Zuriegat, Q., Zheng, Y., Liu, H., Wang, Z., & Yun, Y. (2021). Current progress on pathogenicity-related transcription factors in *Fusarium oxysporum*. *Molecular Plant Pathology*, 22(7), 882-895. <https://doi.org/10.1111/mpp.13068>