

Antifungal property of honey on *in vitro* development of *Colletotrichum gloeosporioides*

Propiedad antifúngica de mieles sobre el desarrollo *in vitro* de *Colletotrichum gloeosporioides*

Víctor Albores-Flores*, Ivana Janet Marín-Saenz, José Alfonso López-García, Adriana Sánchez-Gutiérrez, Julieta Grajales-Conesa, Instituto de Biociencias, Universidad Autónoma de Chiapas. Boulevard Príncipe Akishino s/n. Colonia Solidaridad 2000. Tapachula Chiapas, CP. 30798, México. *Autor para correspondencia: alboresflores@gmail.com.

Recibido: 16 de Mayo, 2018.

Aceptado: 30 de Julio, 2018.

Albores-Flores V, Marín-Saenz IJ, López-García JA, Sánchez-Gutiérrez A, Grajales-Conesa J. 2018. Antifungal property of honey on *in vitro* development of *Colletotrichum gloeosporioides*. Revista Mexicana de Fitopatología 36(3): 423-431.

DOI: 10.18781/R.MEX.FIT.1805-3

Primera publicación DOI: 17 de Agosto, 2018.

First DOI publication: August 17, 2018.

Resumen. Aunado a la alta toxicidad de los productos químicos para el control fitosanitario de las enfermedades fúngicas a nivel de campo, el microorganismo causante de enfermedad no es completamente eliminado, por lo que, productos de origen natural tanto vegetal como animal han generado interés para el control de plagas y enfermedades en las plantas. El presente trabajo tuvo como objetivo principal evaluar la actividad antifúngica de mieles de abeja en el crecimiento *in vitro* de *Colletotrichum*

Abstract. In addition to the high toxicity of chemicals for phytosanitary control of fungal diseases in field conditions, the microorganism causing disease is not completely eliminated. Therefore, products of natural origin, both plant and animal, have generated interest for the control of pests and diseases in plants. Thus this study aimed to evaluate the antifungal activity of honey in the *in vitro* growth of *Colletotrichum gloeosporioides*. Nine samples of honeys were evaluated, corresponding to three bees species: *Melipona solani*, *M. beecheii* and *Scaptotrigona mexicana*. We registered a decreased colony diameter of *C. gloeosporioides* at higher concentration of honey, with lower 40% growth of the colony compared to the control treatment within 12 days of incubation. In general, growth rate of the fungus colony in the three types of bee honey was in average, 40% lower than the control treatment. Inhibition rate value observed in bee honeys is 70% higher than that obtained with the fungicide Chlorothalonil®.

gloeosporioides. Se evaluaron nueve muestras de mieles, correspondientes a tres especies de abejas: *Melipona solani*, *M. beecheii* y *Scaptotrigona mexicana*. Se encontró que el diámetro de la colonia de *C. gloeosporioides* fue menor a mayor concentración de miel, con un 40% menos crecimiento de la colonia respecto al tratamiento testigo a los 12 días de incubación. En general la tasa de crecimiento de la colonia del hongo en las mieles correspondientes a los tres tipos de abeja fue en promedio de 40% menos que el testigo. El valor de porcentaje de inhibición observada en las mieles de abeja fue 70% mayor a lo obtenido con el fungicida Clorotalonil.

Palabras clave: crecimiento micelial, *Melipona solani*, *Melipona beecheii*, *Scaptotrigona mexicana*, Clorotalonil®.

En el presente siglo los productos utilizados en el control fitosanitario no contrarrestan el desarrollo de las enfermedades, radicando el problema en la baja eficiencia de penetración en la cutícula, la actividad del principio activo y la acumulación en el tejido de las plantas (Campa *et al.*, 2017; Pérez *et al.*, 2017). Por lo cual, el desarrollo de productos alternativos con actividad antifúngica y que sean de naturaleza microbiana, vegetal o animal, son actualmente una opción y una realidad (Correa *et al.*, 2015; Ramírez *et al.*, 2016). Estudios recientes han identificado a la miel de las abejas como una alternativa en el control de hongos *in vitro*, siendo esta de origen natural derivado del proceso de transformación del néctar por las abejas (*Apis mellifera*).

La miel presenta una variedad de propiedades de interés nutracéutico (Ramalivhana *et al.*, 2014) además, de ser empleada como alternativa medicinal desde tiempos ancestrales (Vallianou *et al.*, 2014). Estudios recientes, han asociado las propiedades antimicrobianas a la concentración y composición de

Key words: mycelial growth, *Melipona solani*, *Melipona beecheii*, *Scaptotrigona mexicana*, Clorotalonil®.

In this century, products used in the control of plant health do not counteract disease development, since they do not eradicate the problem due to the low efficiency of penetration into the cuticle, the activity of the active principle and the accumulation in plant tissue (Campa *et al.*, 2017; Pérez *et al.*, 2017). Therefore, the development of alternative products with antifungal activity and of a microbial, plant or animal nature are currently an option and a reality (Correa *et al.*, 2015; Ramírez *et al.*, 2016). Recent studies have identified honey as an alternative in the control of fungi *in vitro*, since it has a natural origin, derived from the process of transformation of nectar by bees (*Apis mellifera*).

Honey presents a variety of nutraceutical properties (Ramalivhana *et al.*, 2014) and has also been used as a medicinal alternative for centuries (Vallianou *et al.*, 2014). Recent studies have found a relation between the anti-microbial properties and the concentration and composition of honey (Fangio *et al.*, 2007; Pimentel *et al.*, 2013). Its anti-fungal action has been observed against the fungal genera of *Trichophyton*, *Microsporum*, *Aspergillus*, *Penicillium* and *Candida* (Moussa *et al.*, 2012; Londoño-Orozco *et al.*, 2008; Montenegro *et al.*, 2009; Olaitan *et al.*, 2007). Thus the aim of the present study was to evaluate the antifungal activity of honey in the *in vitro* growth of *Colletotrichum gloeosporioides*.

Honey samples

Honey samples were collected during February and March 2016, in meliponaries from the “Asociación de Meliponicultores del Soconusco

la miel (Fangio *et al.*, 2007; Pimentel *et al.*, 2013). La acción antifúngica se ha observado contra los géneros de hongos *Trichophyton*, *Microsporum*, *Aspergillus*, *Penicillium* y *Candida* (Moussa *et al.*, 2012; Londoño-Orozco *et al.*, 2008; Montenegro *et al.*, 2009; Olaitan *et al.*, 2007). Por lo anterior, el presente estudio tuvo como objetivo evaluar la actividad antifúngica de las mieles de abeja en el crecimiento *in vitro* de *Colletotrichum gloeosporioides*.

Muestras de mieles

Las muestras de mieles de abeja se colectaron en los meses de Febrero y Marzo del 2016, en meliponarios pertenecientes a la “Asociación de Meliponicultores del Soconusco S. C. del R. L.” en los municipios de la región del Soconusco, Chiapas: Tapachula, Tuxtla-Chico y Cacahoatán.

Se utilizaron nueve muestras de mieles, correspondientes a tres especies de abejas: *Melipona solani* (n=3, de los siguientes lugares: Trinidad (MsTa), San Jerónimo (MsSjb) e Izapa (Mslc)), *M. beecheii* (n=2, de los siguientes localidades: Tapachula (MbTa) y (MbTb) y de *Scaptotrigona mexicana* (n=4, de los siguientes lugares: Cacahoatán (Smca), Francisco y Madero (SmFMb), Izapa I (Smic), Izapa II (Smid)). Las mieles se recolectaron de tres cajas diferentes de los meliponarios, con la finalidad de contar con una miel compuesta por sitio, las cuales se extrajeron con jeringas estériles de 5 ml, y se guardaron en frascos debidamente etiquetados. Se almacenaron a -4 °C hasta su análisis.

Actividad antifúngica de las mieles.

La actividad antifúngica de las mieles de abejas se evaluó mediante enfrentamientos en laboratorio con una cepa de *C. gloeosporioides* perteneciente a la colección del Instituto de Biociencias de

S. C. del R. L.” in the municipal areas of the Soconusco, Chiapas: Tapachula, Tuxtla-Chico and Cacahoatán.

Nine honey samples were used from three bee species: *Melipona solani* (n=3, from Trinidad (MsTa), San Jerónimo (MsSjb) and Izapa (Mslc)), *M. beecheii* (n=2, from Tapachula (MbTa) and (MbTb) and *Scaptotrigona mexicana* (n=4, from Cacahoatán (Smca), Francisco y Madero (SmFMb), Izapa I (Smic), Izapa II (Smid)). The honey was collected from three different boxes in the meliponaries in order to obtain a mixed honey sample per site, which was taken using sterile 5 ml syringed, and it was stored in properly labelled jars. They were stored at -4 °C until their analysis.

Anti-fungal activity of honey

The anti-fungal activity of honey was evaluated by antagonizing it in the laboratory with a *C. gloeosporioides* strain from the collection of the Bioscience Institute of the Autonomous University of Chiapas. The strain was reactivated in a potato-dextrose-agar (PDA) medium without honey and a pH of 6.0. The biotrial was carried out with a PDA medium mixed with a honey solution, and for this, we prepared dishes with a volume of solution (in concentrations of 25, 50 and 100 % honey) of 100 µl for every 20 mL of medium. After the strain inoculation (0.5 cm culture discs), the Petri dishes were incubated at 32 °C for 12 days.

Mycelial growth was measured every third day using a Vernier (Stainless Hardebed®) with a capacity of 0-150 mm (minus the size of the inoculant disc).

The growth rate of every culture was determined with the following equation:

$$\mu = (Db - Da) / (tb - ta)$$

la Universidad Autónoma de Chiapas. La cepa se reactivó en medio de agar papa dextrosa (PDA) sin miel y pH de 6.0. El bioensayo se realizó con medio PDA mezclado con solución de miel, para lo cual se elaboraron placas con un volumen de solución (en las concentraciones de: 25, 50 y 100% de miel) de 100 µl por cada 20 mL de medio. Posterior a la inoculación de la cepa (discos de colonia de 0.5 cm), las cajas Petri se incubaron a 32 °C en una estufa incubadora durante 12 días.

El crecimiento micelial se midió cada tercer día con un Vernier (Stainless Hardebed®) con capacidad de 0-150 mm (restando el tamaño del disco de inóculo).

La tasa de crecimiento de cada colonia, se determinó mediante la siguiente ecuación:

$$\mu = (Db - Da) / (tb - ta)$$

donde: μ , fue la velocidad de crecimiento de la colonia, Db, fue el diámetro de la colonia (mm) en el tiempo “b”; Da, correspondió al diámetro de la colonia en el tiempo “a”, y “tb y ta” fueron el tiempo en que se realizó la evaluación.

Determinación de la actividad antifúngica como equivalentes equiparables a Clorotalonil®

La actividad antifúngica de las mieles, se transformó a equivalentes de Clorotalonil® (2, 4, 5, 6-tetrachloroisophthalonitrile), el cual es un fungicida químico comúnmente empleado para el control de *C. gloeosporioides*. Para ello, se determinó la inhibición (%) del crecimiento de este hongo mediado por el Clorotalonil® a través de la preparación de soluciones con las siguientes concentraciones: 0, 0.9, 1.8, 3.6, 5.4 y 7.2 mg ml⁻¹. Con los datos obtenidos se construyó una curva de calibración (Figura 1).

where μ was growth rate of the culture, Db was the diameter of the culture (mm) in time “b”, Da was the diameter of the culture in time “a”; and “tb” and “ta” were the time in which the evaluation was carried out.

Determination of anti-fungal activity as equivalents comparable to Clorotalonil®

The anti-fungal activity of the honey was converted to equivalents of Chlorothalonil® (2, 4, 5, 6-tetrachloroisophthalonitrile), which is a chemical fungicide, commonly used in the control of *C. gloeosporioides*. For this, we determined the growth inhibition (%) of this fungus mediated by the Chlorothalonil® by preparing solutions with the concentrations 0, 0.9, 1.8, 3.6, 5.4 y 7.2 mg ml⁻¹. Using the data obtained, we created a calibration curve (Figure 1).

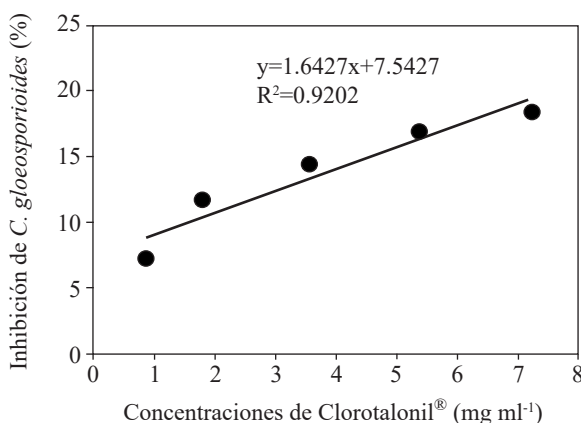


Figura 1. Relación entre la concentración de Clorotalonil® y el grado de inhibición del desarrollo de *C. gloeosporioides*.

Figure 1. Relation between the concentration of Clorotalonil® and the degree of inhibition of the development of *C. gloeosporioides*.

Análisis de resultados

Para analizar el diámetro de la colonia, la velocidad de crecimiento, inhibición del crecimiento y equivalentes de Clorotalonil, se realizó un análisis de varianza y posteriormente un contraste de medias por Tukey ($p < 0.05$). El programa estadístico utilizado fue Infostat 2015. Todos los tratamientos tuvieron nueve repeticiones.

En los tratamientos con miel, se encontró una relación entre la concentración de este compuesto y el tamaño alcanzado de la colonia del hongo ($r = -0.87$, $p < 0.05$), es decir, que el diámetro de la colonia fue menor a medida que aumentó la concentración de la miel. A partir del noveno día (Figura 2), en las concentraciones de 25 y 50% de miel, se observaron diferencias significativas ($p < 0.05$) en

Analysis of results

To analyze the diameter of the culture, its growth rate and inhibition, and equivalents of Chlorothalonil, an analysis of variance was carried out, followed by a mean comparison using Tukey's test ($p < 0.05$). The statistical program used was Infostat 2015. All treatments had nine repetitions.

In the treatments with honey, a relation was found between the honey concentration and the size reached by the fungal culture ($r = -0.87$, $p < 0.05$) i.e., the diameter of the culture decreased as the concentration of honey increased. Starting on day 9 (Figure 2), in the concentrations of 25 and 50% of honey, significant differences were observed ($p < 0.05$) in the diameter of the culture amongst the different types and concentration of honey applied.

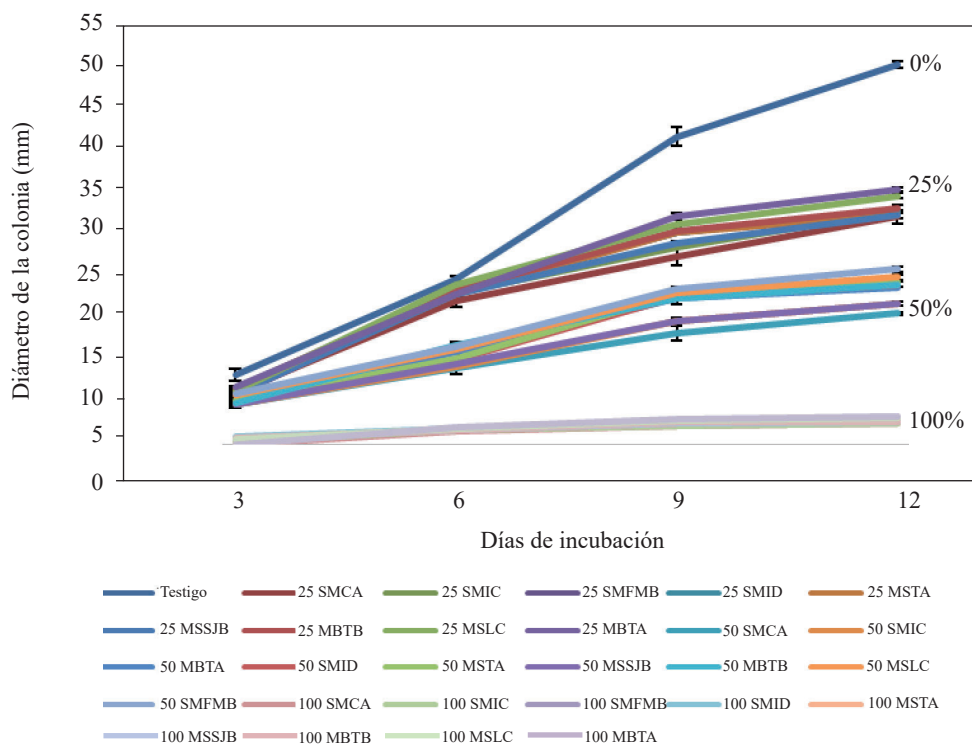


Figura 2. Cinética de crecimiento de *C. gloesporioides* en diferentes concentraciones de mieles de abeja (concentraciones de miel: 25%, 50% y 100%).

Figure 2. Growth kinetics of *C. gloesporioides* in different concentrations of honey (honey concentrations: 25%, 50% and 100%).

el diámetro de la colonia entre las mieles aplicadas. En promedio, el diámetro máximo alcanzado por la colonia del hongo independientemente del tipo de miel, fue de 31.1, 20.4 y 3.2 mm para las concentraciones 25, 50 y 100%, respectivamente, a diferencia del testigo, que fue de 50 mm (Figura 2).

La velocidad de crecimiento (μ) típica estuvo en el rango de 0.020 a 0.023 h⁻¹, con las concentraciones de miel de 25 y 50%, a diferencia del testigo que fue de 0.025 h⁻¹. A la concentración de 100% de miel, el rango fue de 0.004 h⁻¹ a 0.008 h⁻¹. En general, la velocidad de crecimiento de la colonia de *C. gloeosporioides* en las mieles, fue 40% menos que en el testigo (Cuadro 1).

En la actividad inhibidora del desarrollo de la colonia de *C. gloeosporioides*, se encontraron diferencias altamente significativas ($p < 0.0001$) entre las mieles de los diferentes tipos de abeja encontrando, que independientemente de la concentración de miel, las provenientes de *S. mexicana* (Smca y Smic) inhibieron en un 95.2% el desarrollo de la colonia de *C. gloeosporioides*, mientras que, la miel proveniente de *M. solani* (Mssjb, y Msta), *M. becheii* (Mbtb) y de *S. mexicana* (Smid y Smfmb) la acción inhibitoria fue de 94% a 95%. Las mieles con porcentajes menores de inhibición fueron *M. solani* (Mslc) y *M. becheii* (Mbta), con valores correspondientes de 93.87 y 93.53%, respectivamente. Aún así, la inhibición fue alta.

Por último, la actividad antifúngica de las mieles relacionadas en equivalentes de Clorotalonil® (eC) estuvo también asociada a la concentración de miel ($r = 0.98$, $p < 0.05$). La concentración máxima relacionada a eC con acción inhibitoria sobre *C. gloeosporioides*, la presentaron las mieles de *S. mexicana* (Smca y Smic) con valores de 62.5 mg ml⁻¹, 72.7 mg ml⁻¹ y 62.5 mg ml⁻¹, 72.6 mg ml⁻¹, respectivamente.

El tiempo transcurrido para el crecimiento de la colonia de *C. gloeosporioides*, sin miel, fue de 12 días para alcanzar el diámetro interno de la caja Petri

On average, the maximum diameters reached by the fungal cultures, regardless of the honey type, were 31.1, 20.4 and 3.2 mm for concentrations 25, 50 and 100%, respectively, unlike the control, which was 50 mm (Figure 2).

Typical growth rate (μ) was in the range of 0.020 to 0.023 h⁻¹, with honey concentrations of 25 and 50%, unlike in the control, where it was 0.025 h⁻¹. At a concentration of 100% of honey, the range was between 0.004 h⁻¹ and 0.008 h⁻¹. In general, the growth rate of the culture of *C. gloeosporioides* in honey was 40% less than in the control (Cuadro 1).

For inhibition activity of *C. gloeosporioides*, highly significant differences were found ($p < 0.0001$) between the honey from different bees, and it was also found that regardless of the concentration of honey, those coming from *S. mexicana* (Smca and Smic) inhibited the development of the *C. gloeosporioides* by 5.2%, while in honey from *M. solani* (Mssjb and Msta), *M. becheii* (Mbtb) and from *S. mexicana* (Smid and Smfmb) inhibition action was between 94% and 95%. The honey with the lowest inhibition values were *M. solani* (Mslc) and *M. becheii* (Mbta), with valued of 93.87 and 93.53%, respectively. However, inhibition was still high.

Finally the anti-fungal activity of the related honey in equivalents of Chlorothalonil® (eC) was also related to the concentration of honey ($r = 0.98$, $p < 0.05$). The highest concentration related to eC with inhibition action on *C. gloeosporioides* was displayed by honey from *S. mexicana* (Smca and Smic) with values of 62.5 mg ml⁻¹, 72.7 mg ml⁻¹ y 62.5 mg ml⁻¹, 72.6 mg ml⁻¹, respectively.

The time taken for the growth of the *C. gloeosporioides* culture without honey to reach the inner diameter of the Petri dish was 12 days (Figure 2). Unlike the treatments with honey, the growth of the control displayed a sigmoidal shape.

The reduction in mycelial growth of the fungus could be related to the bioactive components of

Cuadro 1. Efecto de la aplicación de mieles de abeja sobre la velocidad de crecimiento e inhibición micelial de *C. gloeosporioides* y su comparación con equivalentes Clorotalonil®.**Table 1. Effect of the use of honey on the speed of growth and mycelial inhibition of *C. gloeosporioides* and its comparison with Clorotalonil® equivalents.**

Tratamiento	Concentración (%)	Velocidad de crecimiento (h ⁻¹)	Inhibición micelial (%)	Equivalentes de Clorotalonil® (mg ml ⁻¹)
Testigo	0	0.025 a*	0	0
SMCA	25	0.023 bc	40.4 i*	29.2 f*
	50	0.020 e	66.1 c	44.8 b
	100	0.006 h	95.2 a**	62.5 a**
SMIC	25	0.023 bc	39.0 jkl	28.3 f
	50	0.020 e	63.6 d	43.3 c
	100	0.004 i	95.2 a**	62.5 a
SMFMB	25	0.023 bc	38.5 kl	28.0 f
	50	0.021 de**	59.1 e	40.5 d
	100	0.007 g	94.6 ab	62.1 a**
SMID	25	0.023 bc	39.0 ijkl	28.3 f
	50	0.021 de**	58.5 ef	40.2 d
	100	0.008 f	94.4 ab	62.1 a
MSTA	25	0.024 b	39.8 ijk	28.8 f
	50	0.021 de	57.7 fg	39.5 d
	100	0.007 g	94.0 ab	61.8 a
MSSJB	25	0.023 bc	40.0 ij	28.9 f
	50	0.020 e	63.4 d	43.2 c
	100	0.007 g	94.6 ab	62.2 a
MBTB	25	0.024 b	38.1 l	27.8 f
	50	0.021 de	58.3 ef	40.1 d
	100	0.008 f	94.7 ab	62.2 a
MSLC	25	0.024 b	34.8 ll	25.8 g
	50	0.022 cd	56.5 g	38.9 d
	100	0.007 g	93.8 b	61.7 a
MBTA	25	0.024 b	33.1 m	24.7 g
	50	0.022 cd	54.3 h	37.6 e
	100	0.007 g	93.5 b	61.5 a

*p≤0.05. **Letras iguales indican que no hay diferencia entre medias / *p≤0.05. **Same letters indicate no difference between averages.

(Figura 2). A diferencia de los tratamientos que tuvieron miel de abeja, el crecimiento del testigo presentó una forma sigmoideal.

La reducción en el desarrollo micelial del hongo podría asociarse con los componentes bioactivos de la miel, ya que resultados similares se reportaron en el desarrollo de colonias de los hongos *Aspergillus* spp y *Penicillium* spp al incubarse en presencia de miel de *Apis* (Olaitan *et al.*, 2007). Lira (2003)

honey, since similar results were reported in the development of *Aspergillus* spp and *Penicillium* spp fungal cultures when incubated in the presence of *Apis* honey (Olaitan *et al.*, 2007). Lira (2003) and Jasso *et al.* (2007, 2011) coincided in that the inhibiting effect on the growth of the mycelium of pathogenic fungi for plants lies in the bioactive compounds of the biological products used, as in the case of plants.

y Jasso *et al.* (2007, 2011) coincidieron en que el efecto inhibitorio sobre el desarrollo del micelio de hongos fitopatógenos reside en los componentes bioactivos de los productos biológicos utilizados, tal es el caso de las plantas.

Las mieles de *Scaptotrigona* o *Melipona*, presentaron potencial para ser usado como producto con acción antifúngica al utilizar concentración de 500 µL de miel por cada 100 mL de solución, alcanzando un nivel de inhibición del 95.0%, comparado con los productos comerciales que pueden aplicarse en un amplio rango de concentraciones que van de 0.5 mg kg⁻¹ a 500 mg kg⁻¹ (Rodríguez *et al.*, 2008; Warnke *et al.*, 2009).

La acción antifúngica observada sobre el crecimiento de *C. gloeosporioides* en presencia de miel de abeja a diferentes concentraciones podría atribuirse a la concentración de fenoles, flavonoides y al valor de pH, los cuales han sido reportadas por Marín *et al.* (2017). La similitud estructural de estos compuestos contenidos en la miel con la reportada por las moléculas químicas comerciales utilizadas para el mismo fin (Pérez-Cárdenas *et al.*, 2013; Gregori, 2005) sugiere que el mecanismo de acción antifúngica observada en las mieles estudiadas en el presente trabajo, podría asociarse en la alteración de la división celular, la permeabilidad de las membranas celulares y el transporte intracelular en el micelio fúngico.

Las mieles de *Scaptotrigona* y *Melipona*, presentaron un potencial en el control del hongo fitopatógeno *C. gloeosporioides*. Además, redujeron la velocidad de crecimiento micelial en un 95%, siendo 40% más eficientes que el fungicida comercial Clorotalonil®. El uso de la miel en el control de hongos patógenos de plantas, podría ser una alternativa de solución dentro de un manejo integrado.

Scaptotrigona or *Melipona* honey showed potential for use as a product with antifungal action when using a concentration of 500 µL of honey for every 100 mL of solution, reaching a level of inhibition of 95.0%, in comparison with commercial products that can be applied across a wide range of concentrations that range from 0.5 mg kg⁻¹ to 500 mg kg⁻¹ (Rodríguez *et al.*, 2008; Warnke *et al.*, 2009).

The anti-fungal action observed on *C. gloeosporioides* growth in the presence of honey at different concentrations could be due to the concentration of phenols, flavonoids and pH value, which have been reported by Marín *et al.* (2017). The structural similarity of these compounds found in the honey with that shown by the commercial chemical molecules used for the same purpose (Pérez-Cárdenas *et al.*, 2013; Gregori, 2005) suggests that the antifungal mechanism observed on the honey studied in this investigation could be associated with the alteration of cell division, the permeability of cell membranes and the intracellular transportation in the fungal mycelium.

Scaptotrigona and *Melipona* honey showed a potential for the control of the pathogenic fungus *C. gloeosporioides* and also reduces the mycelial growth rate by 95%, which makes it 40% more efficient than the commercial fungicide Clorotalonil®. The use of honey in the control of plant pathogenic fungi could be a solution alternative within a comprehensive management.

~~~~~ End of the English version ~~~~~



## LITERATURA CITADA

- Campa SP, Vallejo CS, Corrales MC, Martínez TMA y Vargas AI. 2017. Reducción en la incidencia de la pudrición gris en uva de mesa por el efecto de volátiles de un extracto de ajo. *Revista Mexicana de Fitopatología* 35:493-508. <http://dx.doi.org/10.18781/r.mex.fit.1707-1>
- Correa NYM, Palomino GLR y Marino MO. 2015. Actividad antioxidante y antifúngica de piperaceas de la flora colombiana. *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 20(2). Disponible en línea: <http://www.revplantasmedicinales.sld.cu/index.php/pla/article/view/125/122>
- Fangio M, Jurlina M and Fritz R. 2007. Antimicrobial activity of honey of south east province of Buenos Aires in front of *Escherichia coli*. *Revista Argentina de Microbiología* 39:120-123.
- Gregori VBS y Gregori V. 2005. Estructura y actividad de los antifúngicos. *Revista Cubana de Farmacia* 39:15. Disponible en línea: [https://www.researchgate.net/publication/237767583\\_Estructura\\_y\\_actividad\\_de\\_los\\_antifungicos](https://www.researchgate.net/publication/237767583_Estructura_y_actividad_de_los_antifungicos)
- Jasso RD, Hernández CD, Angulo SJL, Rodríguez GR, Villareal QJA and Lira SRH. 2007. Antifungal activity *in vitro* of *Fluorensia spp.* extracts on *Alternaria sp.*, *Rhizoctonia solani* and *Fusarium oxysporum*. *Industrial Crops and Products* 25:111-116. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2006.08.007>
- Jasso RD, Rodríguez GR, Hernández CD, Aguilar GCN, Saénz GA, Villareal QJA and Moreno ZLE. 2011. *In vitro* antifungal activity of extracts of Mexican Chihuahua desert plants against postharvest fruit fungi. *Industrial Crops and Products* 34:960-966. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2011.03.001>
- Lira SRH. 2003. Estado actual del conocimiento sobre las propiedades biocidas de la gobernadora (*Larrea tridentata* (D. C.) Coville). *Revista Mexicana de Fitopatología* 21:214-222. Disponible en línea: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61221217>
- Londoño OA, Penieres CJG, García TCG, Carrillo ML, Quintero MML, García VSE, Mendoza SMA y Cruz STA. 2008. Estudio de la actividad antifúngica de un extracto de propóleo de la abeja *Apis mellifera* proveniente del Estado de México. *Tecnología en Marcha* 21:49-55. Disponible en línea: [https://www.researchgate.net/publication/267271152\\_Estudio\\_de\\_la\\_actividad\\_antifungica\\_de\\_un\\_extracto\\_de\\_propoleo\\_de\\_la\\_abeja\\_Apis\\_mellifera\\_proveniente\\_del\\_estado\\_de\\_Mexico](https://www.researchgate.net/publication/267271152_Estudio_de_la_actividad_antifungica_de_un_extracto_de_propoleo_de_la_abeja_Apis_mellifera_proveniente_del_estado_de_Mexico)
- Marín SI, Torres de SR, Grajales CJ, Adriano AML y Albores FV. 2016. Actividad antimicrobiana de mieles de abeja sin aguijón en la region Soconusco, Chiapas, Mexico. Pp:741-743. In: Reyes de LBO, Pérez AEJ, Arévalo DMA (eds.). Congreso Mesoamericano de Investigación UNACH. Chiapas, México. 653p.
- Montenegro G, Salas F, Peña RC y Pizarro R. 2009. Actividad antibacteriana y antifúngica de mieles monoflorales de *Quillaja saponaria*, especie endémica de Chile. *Phyton*. 78:141-146. Disponible en línea: [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1851-56572009000200010](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-56572009000200010)
- Moussa A, Nouredine D, Saad A, Abdelmelek A and Abdelkader B. 2012. Antifungal activity of four honeys of different types from Algerian honeys against pathogenic yeasts: *Candida albicans* and *Rhodotorula sp.* *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 2:554-557. DOI: 10.1016/S2221-1691(12)60096-3
- Olaitan P, Adeleke O and Ola I. 2007. Honey: a reservoir for microorganisms and an inhibitory agent for microbes. *African Health Science* 3:159-165. Disponible en línea: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2269714/>
- Pérez VL, Santana Y, García O, Lovaina Y, Pérez MM, Rodríguez JA y Avila R. 2017. Eficacia de fungicidas antioomicetes en la desinfección de hijos de piña MD2 para el control de *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* Dastur. *Revista de Protección Vegetal* 32:1-13. Disponible en línea: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1010-27522017000200007&lng=es&nrm=iso](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522017000200007&lng=es&nrm=iso)
- Pérez CJE, Hoyos ZAM y Cárdenas HC. 2013. Sensibilidad antimicótica de diferentes especies de hongos aislados de pacientes con micosis ungueal en la ciudad de Manizales (Caldas, Colombia). *Biosalud* 11:26-39. Disponible en línea: <http://www.scielo.org.co/pdf/biosa/v11n2/v11n2a04.pdf>
- Pimentel R, Da Costa C, Albuquerque M and Duvoisin J. 2013. Antimicrobial activity and rutin identification of honey produced by the stingless bee *Melipona compressipes* manausensis and commercial honey. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 13:1-13. DOI: 10.1186/1472-6882-13-151
- Ramalivhana JN, Obi CL, Samie A, Iweriebor BC, Uaboi EP, Idiaghe JE and Momba MNB. 2014. Antibacterial activity of honey and medicinal plant extracts against gram negative microorganisms. *African Journal Biotechnology* 13:616- 625. DOI: 10.5897/AJB11.892
- Ramírez GSI, López BO, Espinoza ZS y Wong VA. 2016. Actividad antifúngica de hidrodestilados y aceites sobre *Alternaria solani*, *Fusarium oxysporum* y *Colletotrichum gloeosporioides*. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 7:1879-1891. Disponible en línea: <http://cienciasagricolas.inifap.gob.mx/editorial/index.php/agricolas/article/view/99/92>
- Rodríguez TJL, Alcázar FL, Cuesta I, Alastruey IA, Monzón A and Mellado E. 2008. Clinical relevance of resistance of antifungal. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 32:111-113. DOI: 10.1016/S0924-8579(08)70010-4
- Vallianou G, Gounari P, Skourtis A, Panagos J and Kazazis C. 2014. Honey and its anti-inflammatory, anti-bacterial and anti-oxidant properties. *General Medicine* 2:132. DOI: 10.4172/2327-5146.1000132
- Warnker HK, Becker TS, Podschun R, Sivananthan H, Springer N, Russo P, Wiltfang A, Fickenscher H and Sherry E. 2009. The battle against multi-resistant strains: renaissance of antimicrobial essential oils as promising force to fight hospital-acquired infections. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery* 37:392-397. DOI: 10.1016/j.jems.2009.03.017