



Nota Fitopatológica

Producción de celulasas y quitinasas por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raza 1 en cultivo sumergido

Dulce Jazmín Hernández-Melchor, Ronald Ferrera-Cerrato, ¹Colegio de Postgraduados, Posgrado de Edafología, Microbiología de Suelos, Km 36.5 Carretera México-Texcoco, Montecillo 56264, Texcoco, Estado México. México; **Clemente de Jesús García-Ávila**, Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria. Dirección General de Sanidad Vegetal, Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA), Unidad Integral de Servicios, Diagnóstico y Constatación, Carretera Federal México-Pachuca Km 37.5. Tecámac 55740, Estado de México. México; ***Alejandro Alarcón**¹.

RESUMEN

*Autor de
correspondencia:
Alejandro Alarcón
alarconcp@gmail.com

Sección:
Edición periódica

Recibido:
09 Julio, 2023

Aceptado:
21 Diciembre, 2023

Publicado:
29 Diciembre, 2023

Cita:
Hernández-Melchor
DJ, Ferrera-Cerrato R,
García-Ávila CJ y Alarcón
A. 2024. Producción de
celulasas y quitinasas por
Fusarium oxysporum f. sp.
cubense raza 1 en cultivo
sumergido.

Revista Mexicana de
Fitopatología 42(1): 8.
[https://doi.org/10.18781/R.
MEX.FIT.2307-2](https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2307-2)

Antecedentes/Objetivo. *Fusarium* tiene la capacidad de producir enzimas hidrolíticas de interés en la industria de los alimentos o alcohólica para descomponer compuestos orgánicos naturales. Este trabajo estudió la capacidad de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* raza 1 (FocR1) para producir enzimas celulasas y quitinasas en cultivo sumergido utilizando diferentes fuentes de carbono.

Materiales y métodos. Cinco cepas de FocR1 (CNRF-MIC17188, CNRF-MIC17189, CNRF-MIC17190, CNRF-MIC17191, y CNRF-MIC17192) se utilizaron en cultivo sumergido para la degradación de tres sustratos [papel filtro, papel periódico, y quitina (Sigma®)], evaluando la velocidad de crecimiento radial (VCr) y la actividad enzimática cuantitativa (FPase, CMCase y quitinasa).

Resultados. La VCr en las cinco cepas de FocR1 osciló en un rango de 0.043 a 0.051 cm h⁻¹. A los días 7 y 14, las cinco cepas de FocR1 produjeron celulasas y quitinasas al utilizar los tres sustratos. De acuerdo con el análisis estadístico, las cepas CNRF-MIC17191 y CNRF-MIC17192 presentaron los mejores resultados de actividades enzimáticas.

Conclusiones. Las cinco cepas de FocR1 pueden utilizarse como una fuente comercial de celulasas y quitinasas, así como ser candidatas potenciales para bioconvertir complejas fuentes de carbono para su futuro aprovechamiento en procesos industriales.

Palabras clave: Hongo, actividad enzimática, fermentación sumergida, papel periódico, papel filtro, quitina.



INTRODUCCIÓN

Fusarium oxysporum es un hongo del suelo cuyas especies incluyen una amplia diversidad de cepas responsables de marchitamientos o pudriciones en muchas especies vegetales, como plátanos y algodón (Khan *et al.*, 2021; Mon *et al.*, 2021). En contraste, varias especies de *Fusarium* participan en el biocontrol de otros fitopatógenos como *Botrytis cinerea* (ascomiceto) y el oomycete *Phytophthora capsici* (Veloso y Díaz, 2012). Los endófitos fúngicos confieren un biocontrol directo, ya sea por medio de la interacción con patógenos mediante el micoparasitismo y la antibiosis o de la competencia por nutrientes o nichos de raíces. El micoparasitismo es considerado uno de los principales mecanismos del antagonismo hongo-hongo; además, la actividad antagónica de los micoparásitos necrotróficos se atribuye a la producción de antibióticos, toxinas y enzimas hidrolíticas, tales como glucanasa, celulasa y quitinasa (De Silva *et al.*, 2019). Estas enzimas hidrolíticas producidas por *F. oxysporum* (en especial la pectinasa y la celulasa) pueden usarse para descomponer compuestos orgánicos naturales, así como para biodegradar diferentes sustratos orgánicos como bagazo de caña (de Almeida *et al.*, 2019), paja de arroz (Indira *et al.*, 2016), paja de moringa (Vázquez-Montoya *et al.*, 2020), utilizando fermentaciones sumergidas o en estado sólido (Hemansi *et al.*, 2019). Algunas cepas de *Fusarium* participan en formas beneficiosas para el ambiente, no sólo como un antagonista para fitopatógenos sino también como un productor de enzimas de interés industrial para favorecer la biodegradación de sustratos complejos (Xiros *et al.*, 2009). Dada la capacidad de algunas especies de *Fusarium* para secretar enzimas extracelulares de importancia industrial, es necesario estudiar la capacidad de especies de *Fusarium* para biodegradar sustratos complejos como fuentes de carbono, con el propósito de reducir los costos de producción de estas enzimas. Por ello, el presente estudio evaluó la producción potencial de enzimas (celulasa y quitinasa) por cinco cepas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raza 1 (FocR1) sembradas en cultivos sumergidos con diferentes fuentes de carbono.

Se utilizaron cinco cepas de FocR1. Estos hongos, relacionados con el plátano (Florencio-Anastasio *et al.*, 2022) se obtuvieron de la colección fúngica del Laboratorio de Micología del Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria (CNRF), perteneciente al Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA, México). Estas cepas fúngicas están codificadas como CNRF-MIC17188, CNRF-MIC17189, CNRF-MIC17190, CNRF-MIC17191 y CNRF-MIC17192. La tasa de crecimiento radial (TCR) de las cinco cepas de FocR1 se estimó de acuerdo con García-Espejo *et al.* (2016). La cinética de degradación de los tres sustratos complejos [papel de filtro, papel periódico y quitina coloidal (Sigma®)] se determinaron por medio de la siembra de las cepas fúngicas en cultivos sumergidos, por 14 días a 25 ± 2 °C y 200 rpm. Cada ensayo se llevó a cabo

por triplicado con el sustrato correspondiente y con la cepa fúngica estudiada. En resumen, se usaron tubos 50 mL-Falcon, cada uno de los cuales contenía 35 mL de un medio mínimo basal (BMM) [Na_2HPO_4 6 g L⁻¹, KH_2PO_4 3 g L⁻¹, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 2.64 g L⁻¹, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5 g L⁻¹, CaCl_2 0.015 g L⁻¹, MnSO_4 3 g L⁻¹, ZnSO_4 3 g L⁻¹], con un pH de 4.8, ajustado con un buffer de citrato de 0.05 M (García-Espejo *et al.*, 2016). Luego se agregó el sustrato respectivo para degradar: a) 1% p/v de quitina, b) una tira (1x11cm) de papel de filtro, y c) una tira (1x11cm) de papel periódico. Cada tubo se inoculó con una concentración de suspensión de esporas (1×10^6 esporas mL⁻¹) de la cepa fúngica correspondiente. Después de 7 y de 14 días, se tomaron alícuotas de 1.5 mL para determinar la actividad enzimática correspondiente. La actividad total de la celulasa se evaluó a partir del bioensayo con papel de filtro (FPase), y con la actividad de la endoglucanasa (CMCase) realizada por medio de la técnica DNS (Miller, 1959; Ghose, 1987), y como D-Glucosa como blanco. La actividad de la quitinasa se realizó por medio del método descrito por Vargas-Hoyos y Gilchrist-Ramelli (2015). La producción de azúcares se determinó con el método de Miller (1959) usando N-acetyl-D-glucosamina (GlcNAc) como blanco. El procedimiento para realizar las actividades enzimáticas fue descrito por Hernández-Melchor *et al.* (2022) y la medición se llevó a cabo a 540 nm con un lector de microplacas (Synergy 2, Bioteck®). Cada unidad de actividad enzimática se definió como la cantidad de enzima requerida para liberar 1 $\mu\text{mol min}^{-1}$ de azúcar reductora y se expresó como equivalentes de glucosa bajo nuestras condiciones experimentales. Las actividades se expresaron en unidades internacionales por litro (IU L⁻¹).

El experimento consistió en un diseño completamente al azar, con cuatro tratamientos con tres repeticiones para cada cepa de *Fusarium*. La normalidad de los datos se verificó por medio de la prueba Shapiro-Wilks ($P \leq 0.05$). Luego, se realizó el análisis de varianza (ANDEVA) y la prueba de comparación de medias (Tukey, $P \leq 0.05$) mediante el programa estadístico SAS (Windows versión 6.2.9200) para evaluar las diferencias significativas entre parámetros (TCR y la capacidad de cada cepa de FocR1 para degradar tres sustratos complejos) y se expresaron como medias \pm error estándar.

La TCR estimada para las cinco cepas de FocR1 se muestra en la Figura 1. La cepa CNRF-MIC17190 presentó diferencias significativas (Tukey, $\alpha=0.05$) para la TCR (0.051 cm h^{-1}) en comparación con las cepas restantes de FocR1. La TCR de CNRF-MIC17190 fue 1.2 mayor a la reportada por Pal *et al.* (2019) para *F. oxysporum* f. sp. *lini* (0.0399 cm h^{-1}) sembrado a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ y entre 21 y 23 veces mayor a lo reportado por Scott *et al.* (2010) para *F. oxysporum* f.sp *lactucae* ($0.0022-0.0024 \text{ cm h}^{-1}$) sembrado a temperaturas de entre 10 y 25°C . La TCR de hongos filamentosos ayuda a conocer su crecimiento con el tiempo bajo ciertas condiciones de

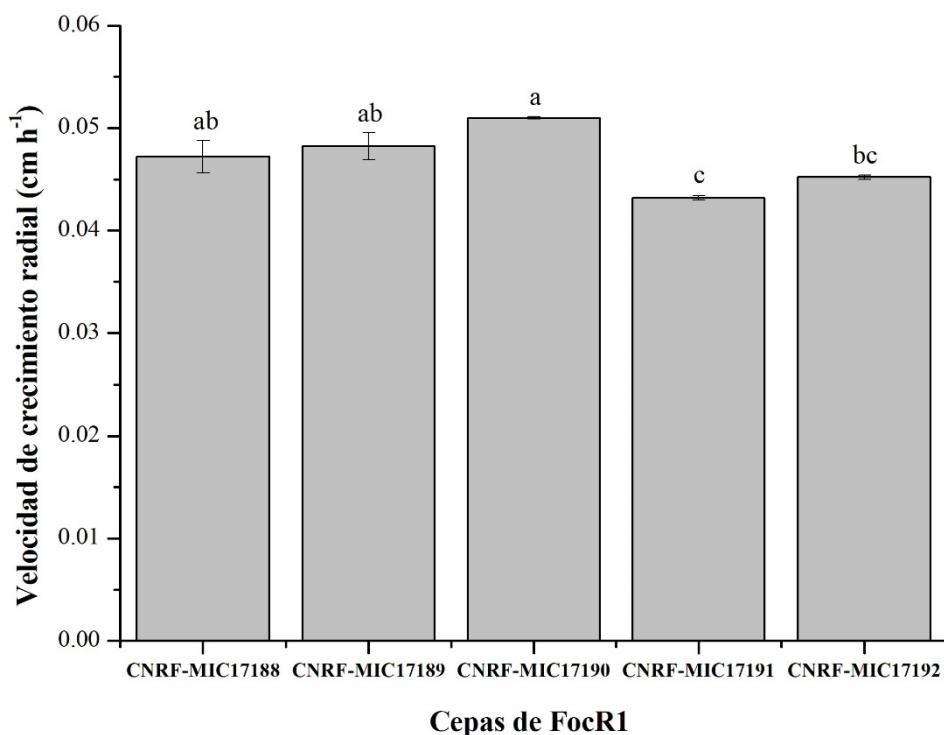


Figura 1. Tasa de crecimiento radial (TCR) de cepas de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* Raza 1 (FocR1) en un medio PDA, a las 192 h. Letras diferentes en las barras son significativamente diferentes (Tukey; $p \leq 0.05$). Medias \pm error estándar, $n=3$.

cultivo, tales como la temperatura, el sustrato, pH y otras. Además, este parámetro permitió establecer el tiempo para operar bioreactores por lotes sumergidos específicos basados en el uso de microorganismos (Moore *et al.*, 2020; Valle *et al.*, 2022).

Las Figuras 2 a 4 muestran las actividades enzimáticas cuantificadas obtenidas para las cinco cepas de FocR1, a los 7 y 14 días mediante el uso de papel periódico, papel de filtro y quitina coloidal como fuentes de carbono. Al usar papel periódico, la producción de enzimas resultó en diferencias significativas (Tukey, $\alpha=0.05$) entre cepas de FocR1; las actividades de celulasa más altas (FPasa y CM-Casa) se registraron para las cepas CNRF-MIC17191 y CNRF-MIC17192 a los 7 y 14 días (Figuras 2A y B), y la mayor actividad de quitinasa se obtuvo para CNRF-MIC17188 y CNRF-MIC17189, a los 7 días (Figura 2C). Sin embargo, al usar papel de filtro como fuente de carbono, las cepas CNRF-MIC17191, CNRF-MIC17192 y CNRF-MIC17190 a los 7 y 14 días, respectivamente, presentaron diferencias significativas (Tukey, $\alpha=0.05$) en la actividad celulasa, en comparación con el resto de las cepas de FocR1 (Figuras 3A y B). En el día 14, las cepas CNRF-MIC17189 y CNRF-MIC17192 presentaron la mayor actividad quitinasa (Figura 3C). Finalmente, cuando se aplicó la quitina como fuente de carbono, las

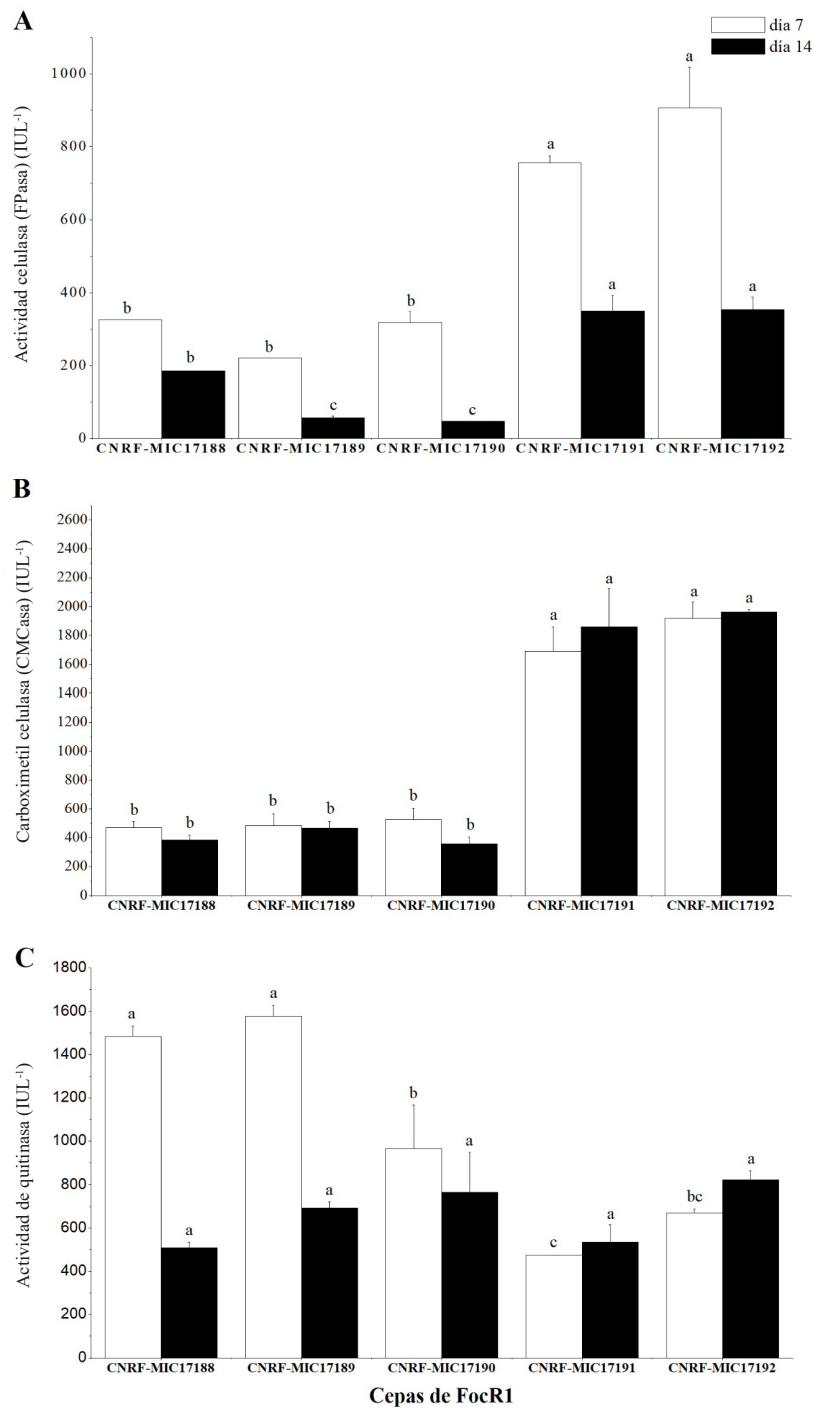


Figura 2. Actividad enzimática cuantitativa de cinco cepas de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* Raza 1 (FocR1) usando papel periódico como sustrato, a los 7 y 14 días. **A)** Actividad celulasa (FPase). **B)** Carboximetil celulasa (CMCasa), y **C)** Actividad quitinasa. Letras diferentes sobre las barras en las tres gráficas, son significativamente diferentes (Tukey; $p \leq 0.05$). Medias \pm error estándar, $n=3$.

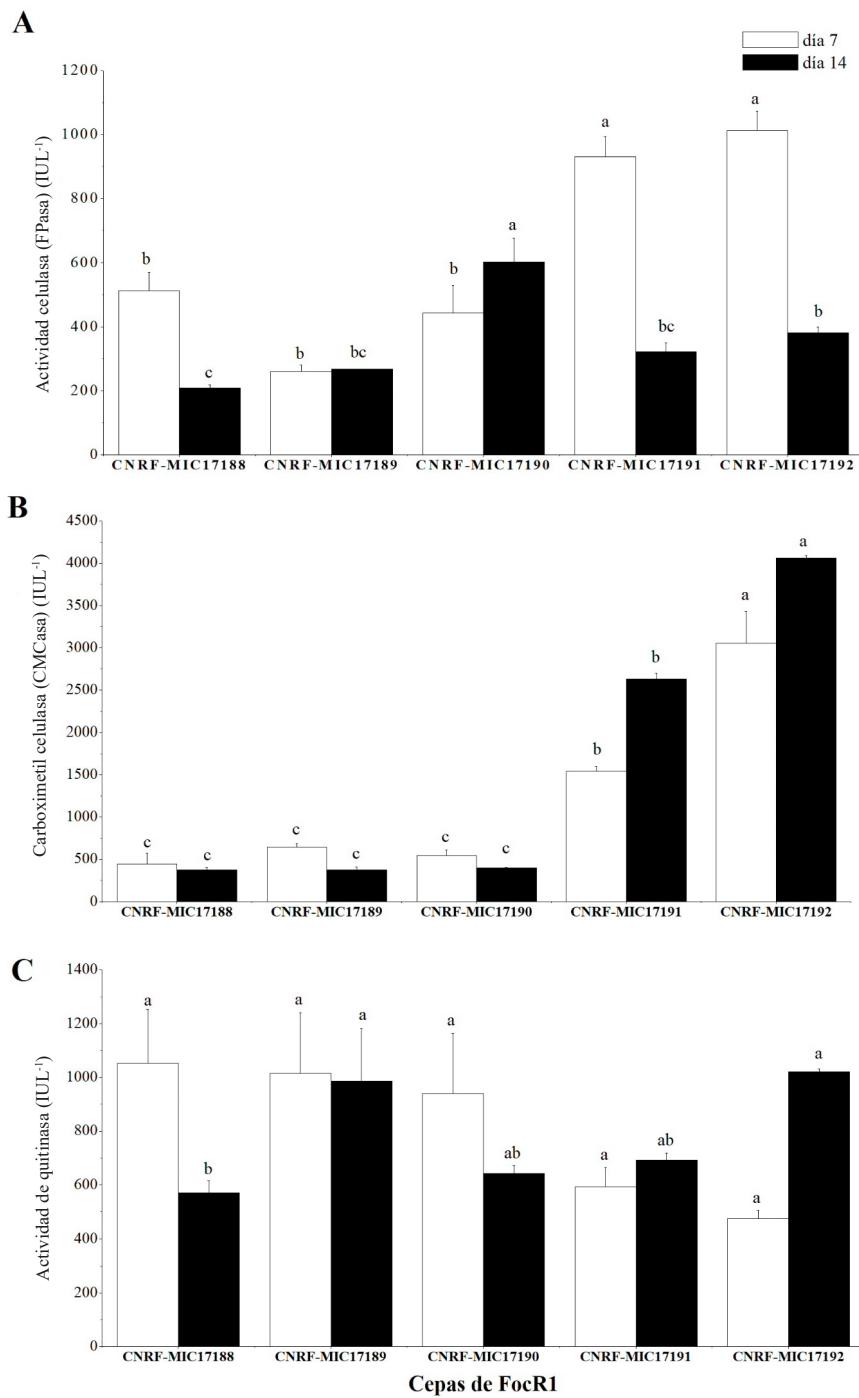


Figura 3. Actividad enzimática cuantitativa como cinco cepas de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* Raza 1 (FocR1) usando papel de filtro como sustrato, a los 7 y 14 días. **A)** Actividad celulasa (FPase). **B)** Carboximetil celulasa (CMCase), y **C)** Actividad de quitinasa. Letras diferentes sobre las barras en las tres gráficas, son significativamente diferentes (Tukey; $p \leq 0.05$). Medias \pm error estándar, $n=3$.

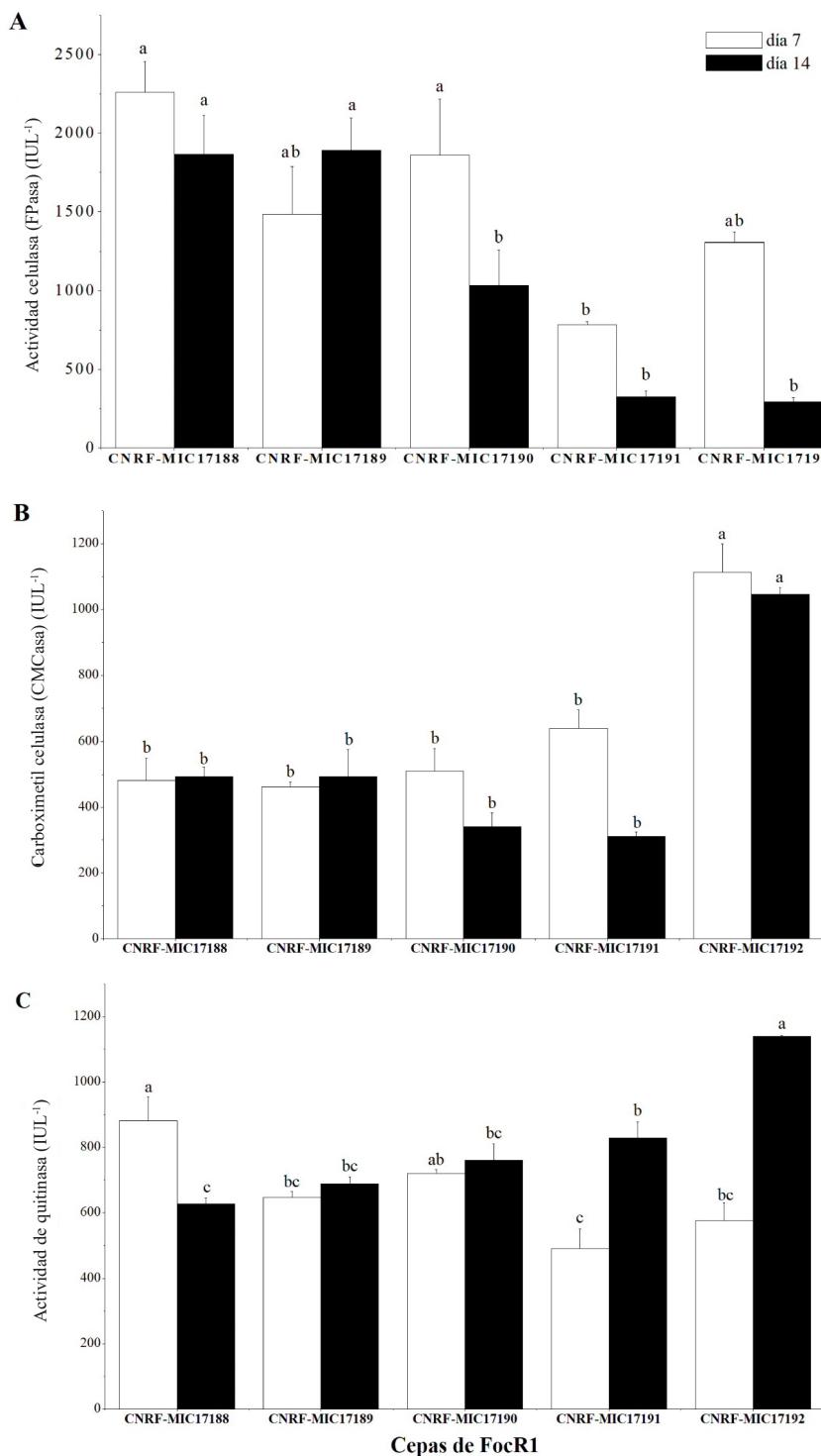


Figura 4. Actividad enzimática cuantitativa de cinco cepas de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* Raza 1 (FocR1) usando quitina como sustrato, a los 7 y 14 días. A) Actividad celulasa (FPase). B) Carboximetil celulasa (CMCase), y C) Actividad quitinasa. Letras diferentes sobre las barras en las tres gráficas, son significativamente diferentes (Tukey; $p \leq 0.05$). Medias \pm error estándar, $n=3$.

cepas fúngicas presentaron diferencias significativas (Tukey, $\alpha=0.05$) en la actividad enzimática. Las cepas CNRF-MIC17188 y CNRF-MIC17190, en el día 7, y las cepas CNRF-MIC17188 y CNRF-MIC17189 en el día 14, presentaron FPasa alta, respectivamente (Figura 4A). En el caso de la CMCasa, la cepa CNRF-MIC17192 presentó la mayor actividad enzimática, tanto a los 7 como a los 14 días (Figura 4B). Además, las cepas CNRF-MIC17188 y CNRF-MIC17192, a los 7 y 14 días, respectivamente, presentó una alta actividad de quitinasa (Figura 4C). En términos generales, la actividad enzimática varió, dependiendo de la fuente de carbono y la cepa fúngica. Martinez-Pacheco *et al.* (2020) mencionaron que los requerimientos nutrimentales de cada especie de *Fusarium* son específicos para la producción de diferentes actividades enzimáticas, debido a la abundancia o limitaciones de los macro- o micronutrientes a lo largo del proceso de fermentación que altera la fisiología fúngica; además, la naturaleza de los residuos orgánicos podría influir sobre la expresión de los mecanismos enzimáticos que intervienen en su despolimerización con el tiempo.

Las actividades más altas de CMCasa registradas para las cepas CNRF-MIC17191 y CNRF-MIC17192 se obtuvieron a los 14 días, mediante el uso de papaal periódico (1859 IU L^{-1}) o quitina (1045 IU L^{-1}) como fuentes de carbono, respectivamente. Dichos valores son comparables con los reportados por Yuan *et al.* (2012), quienes evaluaron la actividad de la celulasa de una cepa de *F. oxysporum* al usar carboximetilcelulosa como fuente de carbono en un cultivo sumergido (1430 IU L^{-1}). En cambio, los valores de CMCasa mencionados por Yuan *et al.* (2012) fueron 2.8 veces más bajos que los registrados en el presente estudio por la cepa CNRF-MIC17192 (4063 IU L^{-1}), cuando se usó papel de filtro como fuente de carbono. Por otro lado, los mejores resultados para la actividad de FPasa se obtuvieron para las cepas CNRF-MIC17191 y CNRF-MIC17192 en el día 7, al usar papel periódico (754 IU L^{-1} and 906 IU L^{-1} , respectivamente) y papel de filtro (930 IU L^{-1} y 1011 IU L^{-1} , respectivamente) como fuentes de carbono. Para las cepas CNRF-MIC17188 y CNRF-MIC17190, la mayor actividad de FPasa se detectó en el día 7, al usar quitina como fuente de carbono (2259 IU L^{-1} and 1859 IU L^{-1}). Estos resultados son comparables a los reportados por Ramanathan *et al.* (2010), quienes estudiaron la capacidad enzimática de *F. oxysporum* usando 1 % de carboximetilcelulosa como fuente de carbono a 50°C y un pH de 6 durante 12 d. Además, Xiros *et al.* (2009) obtuvieron valores similares de actividad de FPasa de *F. oxysporum* aislados de comino, que alcanzó valores máximos de 850 IU L^{-1} después de 70 h en un cultivo basado en mazorcas de maíz sin granos y en granos usados por cerveceros como fuentes de carbono. Asimismo, los resultados de FPasa usando quitina como sustrato son similares a los reportados por da Rosa-Garzon *et al.* (2019), quienes realizaron un cultivo sumergido con *F. oxysporum* en el cual la FPasa ($\sim 2000 \text{ IU L}^{-1}$) se produjo a niveles similares en cultivos de caseína y harina de plumas. Con respecto a la actividad de la quitinasa, los resultados más significativos se consi-

guieron para las cepas CNRF-MIC17188 y CNRF-MIC17189 con el uso de papel periódico, para las cepas CNRF-MIC17189 y CNRF-MIC17192 con el papel de filtro, y para las cepas CNRF-MIC17188 y CNRF-MIC17192 con quitina como fuente de carbono. Existen algunos reportes científicos acerca de la capacidad de especies de *Fusarium* para producir quitinasas en cultivos sumergidos (Mathivanan *et al.*, 1998), aunque algunas especies pueden liberar quitinasas involucradas en el biocontrol de hongos fitopatógenos como *Puccinia arachidis* (Patil *et al.*, 2000). En este sentido, varios autores demostraron la capacidad de varias especies de *Fusarium* para usar sustratos complejos como fuentes de carbono para producir complejos multienzimáticos bajo un proceso controlado de fermentación en un bioreactor. Por ejemplo, *F. verticillioides* puede producir enzimas de celulosa por medio de carboximetilcelulosa o residuos de pasto (*Andropogon gayanus*) como fuente de carbono en cultivos sumergidos (de Almeida *et al.*, 2019; Vázquez-Montoya *et al.*, 2020). Indira *et al.* (2016) estudiaron la capacidad de *F. subglutinans* para producir celulasas por medio de paja de arroz pretratado y preparado con agua dulce o de mar (277.5 U mL⁻¹ and 126.72 U mL⁻¹, respectivamente). Martínez-Pacheco *et al.* (2020) optimizaron la capacidad de *F. solani* para producir xilanases extracelulares por medio del diseño Box-Wilson. Estas enzimas son relevantes para los procesos biotecnológicos (industria alimenticia, de papel y pulpa de celulosa, y química). Si bien muchas enzimas fúngicas han sido seleccionadas por su eficiencia para degradar sustratos complejos, su producción a gran escala es dependiente de varios factores como variaciones en pH, temperatura y concentración de sustratos para las enzimas (Hemansi *et al.*, 2019), los cuales deben ser estudiados y estandarizados para llevar a cabo la optimización de dicho bioproceso. Esto último resalta la importancia de nuestra investigación, para que, a pesar de que algunas cepas de *Fusarium* son conocidas por ser fitopatógenos, estos hongos también puedan producir complejos extracelulares multi-enzimáticos (enzimas celulasas y quitinasas, por ejemplo) que puedan ser caracterizados y purificados, ya que poseen características únicas en comparación con enzimas producidas por otros géneros fúngicos. Adicionalmente, algunas especies saprofitas de *Fusarium* tienen la capacidad de degradar diferentes sustratos (desechos agroindustriales) bajo cultivos sumergidos controlados en bioreactores, por lo que estas especies fúngicas pueden reducir los costos de producción de enzimas y permitir la separación de la biomasa fúngica del sobrenadante que contiene el producto objetivo a lo largo de un bioproceso, a diferentes escalas de producción. No obstante lo anterior, el uso adicional de especies o cepas de *Fusarium* debe ser cuidadosamente valorado para evitar implicaciones negativas al usar agentes fitopatógenos, así como para cumplir con ciertas evaluaciones de bioseguridad y riesgos ecológicos.

En conclusión, este trabajo demostró que algunas fuentes de carbono, tales como papel periódico, papel de filtro o la quitina, pueden ser inductores eficientes para la producción de celulasa y quitinasa por parte de *Fusarium oxysporum*

f.sp. *cubense* Raza 1 (FocR1) en cultivos sumergidos. Estas cepas de FocR1 son especies fúngicas prometedoras, para futuras aplicaciones biotecnológicas, ya que crecen rápidamente bajo condiciones sumergidas controladas con la adición de sustratos de bajo costo, secretando y produciendo enzimas extracelulares importantes.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo contó con el apoyo financiero del Proyecto 292399 “Fondo Institucional de Fomento Regional para el Desarrollo Científico, Tecnológico y de Innovación-Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología” (FORDECyT-CONACyT).

LITERATURA CITADA

- da Rosa-Garzon NG, Laure HJ, Rosa JC and Cabral H. 2019. *Fusarium oxysporum* cultured with complex nitrogen sources can degrade agricultural residues: Evidence from analysis of secreted enzymes and intracellular proteome. Renewable Energy 133:941-950. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2018.10.100>
- de Almeida MN, Falkoski DL, Guimarães VM and de Rezende ST. 2019. Study of gamba grass as carbon source for cellulase production by *Fusarium verticillioides* and its application on sugarcane bagasse saccharification. Industrial Crops and Products 133:33-43. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.03.008>
- De Silva NI, Brooks S, Lumyong S and Hyde KD. 2019. Use of endophytes as biocontrol agents. Fungal Biology Reviews 33(2):133-148. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2018.10.001>
- Florencio-Anastasio JG, García-Ávila CJ, Alarcón A, Ferrera-Cerrato R, Quezada-Salinas A, Almaraz-Suárez JJ, Moreno-Velázquez M, and Hernández-Ramos L. 2022. Effectiveness of antagonistic bacteria, commercial fungicides, and fourth generation quaternary ammonium salts, against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* race “1 or 2”. European Journal of Plant Pathology 163:719-731 <https://doi.org/10.1007/s10658-022-02510-0>
- García-Espejo CN, Mamani-Mamani MM, Chávez-Lizárraga GA and Álvarez-Aliaga MT. 2016. Evaluación de la actividad enzimática del *Trichoderma inhamatum* (BOL-12 QD) como posible biocontrolador. Journal of the Selva Andina Research Society 7(1):20-32. http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2072-92942016000100004
- Ghose TK. 1987. Measurement of cellulase activities. Pure and Applied Chemistry 59(2):257-268. <https://doi.org/10.1351/pac198759020257>
- Hemansi, Chakraborty S, Yadav G, Saini JK and Kuhad RC. 2019. Comparative study of cellulase production using submerged and solid-state fermentation. Pp: 99-113. In: Srivastava N, Srivastava M, Mishra PK, Ramteke PW and Singh RL (eds.). New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering. Elsevier. Ámsterdam. 303 p. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64223-3.00007-2>
- Hernández-Melchor DJ, Ferrera-Cerrato R, López-Pérez PA, Ferrera-Rodríguez MR, de Jesús García-Ávila C, Alarcón A. 2022. Qualitative and quantitative enzymatic profile of native *Trichoderma* strains and biocontrol potential against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Race 1. Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences 11(4): e3264-e3264. <https://doi.org/10.55251/jmbfs.3264>
- Indira D, Sharmila D, Balasubramanian P, Thirugnanam A and Jayabalan R. 2016. Utilization of sea water based media for the production and characterization of cellulase by *Fusarium subglutinans* MTCC 11891. Biocatalysis and agricultural biotechnology 7:187-192. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2016.06.006>

- Khan MA, Khan SA, Waheed U, Raheel M, Khan Z, Alrefaei AF and Alkhamis HH. 2021. Morphological and genetic characterization of *Fusarium oxysporum* and its management using weed extracts in cotton. Journal of King Saud University-Science 33(2):101299. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2020.101299>
- Martínez-Pacheco MM, Flores-García A, Zamudio-Jaramillo MA, Chávez-Parga MC and Alvarez-Navarrete M. 2020. Optimization of production of xylanases with low cellulases in *Fusarium solani* by means of a solid state fermentation using statistical experimental design. Revista Argentina de Microbiología 52(4):328-338. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2019.12.003>
- Mathivanan N, Kabilan V and Murugesan K. 1998. Purification, characterization, and antifungal activity of chitinase from *Fusarium chlamydosporum*, a mycoparasiteto groundnut rust, *Puccinia arachidis*. Canadian Journal of Microbiology 44(7):646-651. <https://doi.org/10.1139/w98-043>
- Miller GL. 1959. Use of dinitrosalysilic acid reagent for determination of reducing sugar. Analytical Chemistry 31:426-428. <https://doi.org/10.1021/ac60147a030>
- Mon YY, Bidabadi SS, Oo KS and Zheng SJ. 2021. The antagonistic mechanism of rhizosphere microbes and endophytes on the interaction between banana and *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*. Physiological and Molecular Plant Pathology 116:101733. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2021.101733>
- Moore D, Robson GD, and Trinci AP. 2020. 21st century guidebook to fungi. Cambridge University Press.
- Pal N, Kumar A and Malannavar AB. 2019. Effect of temperature and pH levels on the growth and sporulation of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lini* causing linseed wilt. International Journal of Chemical Studies 7(3):4494-4497. <https://www.chemijournal.com/archives/2019/vol7issue3/PartBV/7-3-393-120.pdf>
- Patil RS, Ghormade V and Deshpande MV. 2000. Chitinolytic enzymes: an exploration Enzyme and Microbial Technology 26(7):473-483. [https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(00\)00134-4](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(00)00134-4)
- Ramanathan G, Banupriya S and Abirami D. 2010. Production and optimization of cellulase from *Fusarium oxysporum* by submerged fermentation. Journal of Scientific & Industrial Research 69:454-459. <https://nopr.nisr.res.in/bitstream/123456789/9685/1/JSIR%2069%286%29%20454-459.pdf>
- Scott JC, Gordon TR, Shaw DV and Koike ST. 2010. Effect of temperature on severity of *Fusarium* wilt of lettuce caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae*. Plant Disease 94(1):13-17. <https://doi.org/10.1094/PDIS-94-1-0013>
- Valle M, Van Long NN, Jany JL, Bregier T, Pawtowski A, Barbier G, and Coroller L. 2022. Impact of water activity on the radial growth of fungi in a dairy environment. Food Research International 157:111247.
- Vargas-Hoyos HA and Gilchrist-Ramelli E. 2015. Producción de enzimas hidrolíticas y actividad antagónica de *Trichoderma asperellum* sobre dos cepas de *Fusarium* aisladas de cultivos de tomate (*Solanum lycopersicum*). Revista Mexicana de Micología 42:9-16. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-31802015000200003
- Vázquez-Montoya EL, Castro-Ochoa LD, Maldonado-Mendoza IE, Luna-Suárez S and Castro-Martínez C. 2020. Moringa straw as cellulase production inducer and cellulolytic fungi source. Revista Argentina de Microbiología 52(1):4-12. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2019.02.005>
- Veloso J and Díaz J. 2012. *Fusarium oxysporum* Fo47 confers protection to pepper plants against *Verticillium dahliae* and *Phytophthora capsici*, and induces the expression of defence genes. Plant Pathology 61:281–288. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2011.02516.x>
- Xiros C, Katapodis P and Christakopoulos P. 2009. Evaluation of *Fusarium oxysporum* cellulolytic system for an efficient hydrolysis of hydrothermally treated wheat straw. Bioresource Technology 100(21):5362-5365. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.05.065>
- Yuan L, Wang W, Pei Y and Lu F. 2012. Screening and identification of cellulase-producing strain of *Fusarium oxysporum*. Procedia Environmental Sciences 12:1213-1219. <https://doi.org/10.1016/j.proenv.2012.01.410>