

## Antagonismo y actividad antifúngica de *Humphreya coffeata* (Berk.) Steyaert contra *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.) Vuill.

### Antagonism and antifungal activity of *Humphreya coffeata* (Berk.) Steyaert against *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.) Vuill.

Maura Téllez-Téllez<sup>1\*</sup> , Benjamín Amaro-Guadarrama<sup>1</sup> , Alma Rosa Agapito-Ocampo<sup>1</sup> ,  
Ma. de Lourdes Acosta-Urdapilleta<sup>1</sup> 

<sup>1</sup>Laboratorio de Micología, Centro de Investigaciones Biológicas, Av. Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Morelos, México. Universidad No. 1001, Col. Chamilpa, CP. 62209. Cuernavaca, Morelos, México.

\*Autor de correspondencia: maura.tellez@uaem.mx

#### Nota científica

Recibida: 13 de abril 2023

Aceptada: 03 de enero 2024

**RESUMEN.** El hongo *Rhizopus stolonifer* causa pudrición de frutas y verduras, por lo que es importante la búsqueda de alternativas de control biológico. El objetivo fue realizar antagonismo y evaluar la actividad antifúngica de *H. coffeata* contra *R. stolonifer*. Se evaluó el porcentaje de reducción del crecimiento micelial (PRCM) y el tipo de antagonismo de *R. stolonifer* al crecerlo junto con las cepas antagonistas y se evaluó la actividad antifúngica del caldo de cultivo de *H. coffeata*. El PRCM fue mayor para *H. coffeata* y *Daldinia* sp., presentaron antagonismo de clase 1, inhibición por contacto, ya que el micelio de *H. coffeata* enrolló las hifas de *R. stolonifer*. Los tres caldos de cultivo de *H. coffeata* presentaron efecto sobre el crecimiento de *R. stolonifer*, pero, fue más evidente en el cocultivo, por lo que mediante este sistema se puede obtener moléculas para utilizarse en el bio-control de *R. stolonifer*.

**Palabras clave:** Ascomycetes, Basidiomycetes, control biológico, cocultivo, fitopatógeno.

**ABSTRACT.** The fungus *Rhizopus stolonifer* causes the rotting of fruits and vegetables, so it is important to search for biological control alternatives. The objective was to perform antagonism and evaluate the antifungal activity of *H. coffeata* against *R. stolonifer*. The percentage reduction in mycelial growth (PRCM) and the type of antagonism of *R. stolonifer* were evaluated when growing it together with the antagonist strains, and the antifungal activity of the *H. coffeata* culture broth was evaluated. The PRCM was higher for *H. coffeata* and *Daldinia* sp.; they presented class 1 antagonism and contact inhibition since the mycelium of *H. coffeata* rolled up the hyphae of *R. stolonifer*. The three *H. coffeata* culture broths affected the growth of *R. stolonifer*, but it was more evident in the coculture, so through this system molecules can be obtained to be used in the bio-control of *R. stolonifer*.

**Keywords:** Ascomycetes, Basidiomycetes, biological control, coculture, phytopathogen.

**Como citar:** Téllez-Téllez M, Amaro-Guadarrama B, Agapito-Ocampo AR, Acosta-Urdapilleta ML (2024) Antagonismo y actividad antifúngica de *Humphreya coffeata* (Berk.) Steyaert contra *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.) Vuill.. Ecosistemas y Recursos Agropecuarios 11(1): e3740. DOI: 10.19136/era.a11n1.3740.

## INTRODUCCIÓN

Debido al deterioro microbiano se desperdician frutas y hortalizas durante la poscosecha, es un problema dentro de la seguridad alimentaria mundial (Janisiewicz y Korsten 2002). Alrededor del 14% de la producción mundial de alimentos (valorada en 400 000 millones de USD anual) se pierde después de recolectarse y antes de llegar a las tiendas (FAO 2022), llega a ser del 20 al 25% en países desarrollados y en países en desarrollo es de aproximadamente un 50%; debido a la inadecuada manipulación (Khalid *et al.* 2019).

La fruta fresca es propensa a la pérdida poscosecha, debido a las condiciones favorables para el crecimiento de organismos patógenos; alto contenido de agua, nutrientes, pH y actividad metabólica (Bautista-Baños *et al.* 2014, Zhang *et al.* 2020). Dentro de los hongos fitopatógenos más invasivos se encuentran los géneros *Alternaria*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Botrytis* y *Rhizopus* (Cuevas 2016). Siendo el hongo *R. stolonifer* una de las especies más comunes en el filo Zygomycota, el cual en poscosecha contribuye al deterioro de una gran variedad de frutas y verduras, debido a su rápido crecimiento y fácil invasión (Bautista-Baños *et al.* 2014). Por lo que, se han utilizado fungicidas químicos para controlar la descomposición poscosecha. Sin embargo, la dependencia a los fungicidas químicos tradicionales ha provocado varios problemas de contaminación ambiental y resistencia de los patógenos a los fungicidas (Zhang *et al.* 2020).

Actualmente, la tendencia mundial propone reducir el uso de compuestos químicos, por lo que se están buscando alternativas seguras, ecológicas y eficaces que sustituyan a los fungicidas (Chandrashekar *et al.* 2012). Por lo que, se está trabajando en la búsqueda de antagonistas microbianos para contrarrestar enfermedades fúngicas (Singh *et al.* 2023). Se han utilizado especies de Basidiomycetes y Ascomycetes, por la presencia de diferentes metabolitos secundarios y por su complejo sistema enzimático (Berovič *et al.* 2003, Guédez *et al.* 2009). Al respecto, Alves *et al.* (2013) reportan que aproximadamente 52 especies de hongos tienen actividad antifúngica, presentan moléculas de alto peso molecular (péptidos y proteínas) y de bajo peso molecular (terpenos, esteroides, ácidos orgánicos, acilciclopentendionas y quinolinas). Por lo que es importante identificar estrategias seguras y eficaces para controlar las enfermedades fúngicas poscosecha que no generen residuos tóxicos, los hongos antagonistas se utilizan para el control biológico de fitopatógenos, por lo que, el objetivo de este trabajo fue realizar antagonismo y evaluar la actividad antifúngica de *H. coffeata* contra *R. stolonifer*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Material biológico

Las cepas utilizadas fueron: *H. coffeata* (Hc), *Coprinus comatus* (O.F. Müll.) Pers. (Cc), *Daldinia* sp. (Dc), *Cordyceps* sp.1 (C1) y *Cordyceps* sp.2 (C2), proporcionadas por el laboratorio de Micología del Centro de Investigaciones Biológicas de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM). La cepa de *R. stolonifer* (Rs) fue obtenida de la Colección Nacional de Cepas Microbianas y Cultivos Celulares, afiliada a la World Federation for Culture Collection. Cada una de las cepas se crecieron en agar dextrosa papa (ADP) y se incubaron a  $25 \pm 2$  °C (AMBI-HI-LO) en oscuridad.

## Velocidad de crecimiento

Se determinó la velocidad de crecimiento ( $V_c$ ;  $\text{mm h}^{-1}$ ) de cada una de las cepas antagonistas y de Rs crecidas en ADP, se midió con un vernier digital los milímetros avanzados cada 24 h a partir del inóculo ( $4 \text{ mm}^2$ ) colocado en la parte central de la placa de Petri (Sánchez y Royse 2001, Acosta-Urdapilleta *et al.* 2016).

## Porcentaje de reducción en el crecimiento micelial de Rs

Las cepas antagonistas se crecieron por cuatro días y el fitopatógeno (Rs) por un día para realizar los ensayos. Se hicieron confrontaciones duales para evaluar el efecto antagónico de Hc, Cc, Dc, C1 y C2 hacia Rs. El ensayo de antagonista-fitopatógeno se inoculó ( $4 \text{ mm}^2$ ) a 1 cm de distancia de la periferia de la placa de Petri con ADP ( $90 \times 15 \text{ mm}$ ) y se incubaron a  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  en obscuridad. Después de cuatro días de crecimiento, se colocó de forma equidistante un inóculo del fitopatógeno (Rs) a 1 cm de la otra periferia de la placa de Petri y se incubaron a  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  en obscuridad. Se realizaron cuatro réplicas junto con un testigo tanto para el antagonista como para el fitopatógeno. Se determinó el tiempo (h) transcurrido en el que el micelio del antagonista y fitopatógeno se juntaron (confrontación dual). En cuanto hicieron contacto las hifas de ambos organismos confrontados, se calculó el PRCM del antagonista hacia Rs. La zona de la confrontación de las cepas fue medida desde el inóculo hasta la zona de intersección de ambos micelios, las mediciones se registraron cada 24 h, hasta que el testigo cubrió la superficie de la placa de Petri (Ezziyani *et al.* 2004, Uc-Arguelles *et al.* 2017, Michel-Aceves *et al.* 2019). Se determinó el PRCM con la siguiente fórmula:

$$PRCM = \frac{(A - B)}{A} \times 100$$

Donde: A = Crecimiento micelial del fitopatógeno y B = Crecimiento micelial del fitopatógeno junto con el antagonista.

## Determinación de la capacidad antagónica

Después de las 240 h de la confrontación dual entre antagonista-fitopatógeno, se evaluó la capacidad antagónica de los ensayos utilizando la escala de 5 clases propuesta por Bell *et al.* (1982).

## Microcultivo

Se utilizaron los hongos con mayor PRCM (Hc y Dc) para microcultivos en cámara húmeda mediante la metodología propuesta por Riddell (1950), con algunas modificaciones. En placas de Petri se puso papel filtro húmedo y sobre un portaobjetos se colocó un fragmento de ADP ( $10 \text{ mm}^2$ ) en cada uno de los extremos. Sobre uno de los fragmentos de ADP se inoculó por picadura una porción de micelio del antagonista y sobre el otro fragmento se inoculó Rs, se incubaron a  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  (AMBI-HI-LO) y se examinaron cada 24 h. Cuando se observó interacción entre las hifas de los dos hongos, se adicionó una gota de ácido láctico o azul de lactofenol. Las preparaciones se analizaron al microscopio óptico a 40x.

## Cultivo líquido de *H. coffeata*

Se utilizó para el cultivo líquido, la cepa Hc por presentar el tipo 1 en antagonismo. El medio líquido contenía ( $\text{g L}^{-1}$ ): 0.5 de  $\text{MgSO}_4$ ; 1 de  $\text{KH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ; 0.01 de  $\text{FeSO}_4$ ; 0.73 de urea; 5 de almidón

de papa y 10 de sacarosa. Se colocó 50 mL de medio en matraces de 250 mL. Se realizaron tres cultivos: 1) Se inoculó con Hc (axénico), 2) se inoculó con Hc y después de dos días se inoculó con Rs (cocultivo), y 3) se inoculó con Hc, pero al medio se le agregó 1% de biomasa seca de Rs. Se colocó en cada matraz tres inóculos (4 mm<sup>2</sup>) de micelio, se incubaron a 25 °C a 120 rpm y se tomó muestra cada cinco días de crecimiento, separando la biomasa y el caldo de cultivo mediante filtración. La biomasa de Rs se obtuvo mediante cultivo líquido por tres días, posteriormente se centrifugó y se secó en un horno a 65 °C por 48 h.

### **Evaluación antifúngica del caldo de cultivo de *H. coffeata***

Se evaluó la actividad antifúngica del caldo de cultivo (1, 2 y 3) contra el hongo fitopatógeno (Rs). Se realizó el método de difusión en agar, al medio ADP (10 mL) se le agregó diferentes concentraciones del caldo de cultivo (5, 10 y 20 %) y como testigo se utilizó el medio ADP solo (Lee et al. 2008). A cada placa de Petri (60 x 15 mm) se le colocó el inóculo de Rs (4 mm<sup>2</sup>). Se incubaron a 25 °C en oscuridad por 48 h y se determinó el PRCM.

### **Análisis estadístico**

Todos los análisis se realizaron con cuatro repeticiones, se reportó el promedio y desviación estándar (DE). Se realizó análisis de varianza de una vía (ANOVA) y prueba de comparación de medias (Tukey  $p \leq 0.05$ ) con el paquete estadístico STATISTICA versión 7.0 (Stat Soft, Inc. 2004).

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Porcentaje de reducción en el crecimiento micelial y antagonismo**

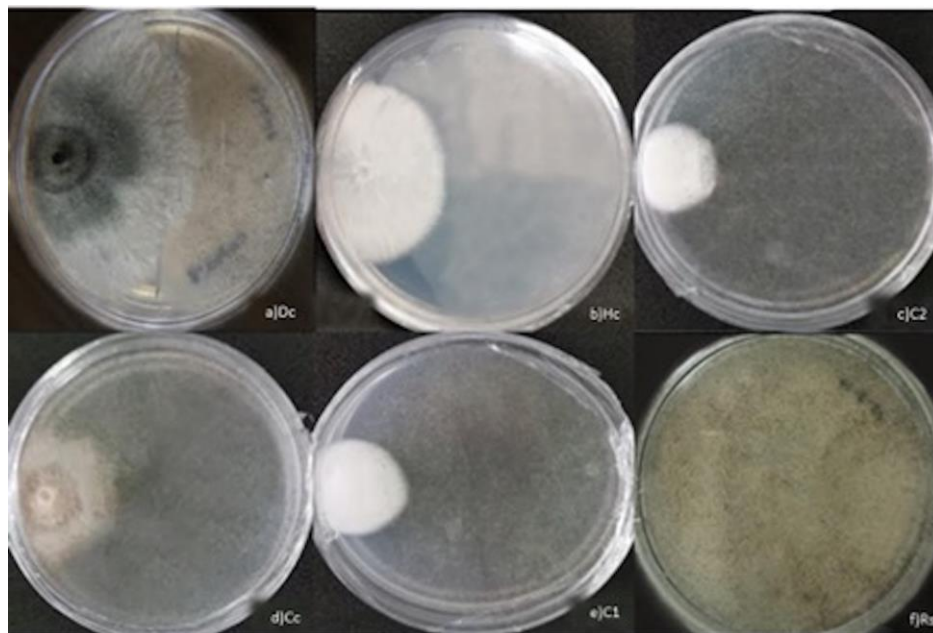
Los Basidiomycetes y Ascomycetes son una opción para el control biológico, pero tienen diferencias de crecimiento, la Vc llega puede ser una desventaja entre los hongos macroscópicos y microscópicos. Los resultados de Vc de la cepa de Dc mostraron que creció 1.8 veces menos que Rs, en tanto que Hc creció 2.9 veces menos que Rs (0.65 mm h<sup>-1</sup>), entre las que hubo diferencia estadística significativa (Tabla 1). En la confrontación dual, los hongos hicieron contacto a las 48 y 72 h después de la inoculación de Rs (Figura 1). Con respecto a la clase de antagonismo, para las cepas Hc y Dc fue de clase 1, donde los antagonistas sobrecrecieron a Rs ocupando el 100% de la placa y para Cc, C1 y C2 fue de clase 4, ya que Rs creció más de 75% de la placa de Petri e inhibió el crecimiento de los antagonistas (Tabla 1). Hubo diferencia estadística significativa en el PRCM, la cepa Dc causó una reducción del crecimiento del 52% y para Hc fue de 45% (Tabla 1).

Las cepas Dc y Hc presentaron mayor efecto hacia Rs, durante el ensayo se observó micelio aéreo después de 10 días de crecimiento, sobrecrecieron y limitaron a Rs. Lo que indica que los hongos mostraron resistencia a la presencia del hongo fitopatógeno, por lo que, pueden ser una alternativa de control biológico de *R. stolonifer* mediante antagonismo por contacto. A través del microcultivo de Ridell se observó que el micelio de Hc y Dc creció alrededor (enrollado) de las hifas de Rs (Figura 2), algunas hifas de Rs se observaron vacías, por lo que los hongos Hc y Dc pudieron provocar lisis celular. Se observó que las hifas de los antagonistas eran de menor diámetro, lo que podría indicar que el micelio joven es el que realizó el contacto con las hifas de los patógenos, como lo reportó Uc-Arguelles et al. (2017).

**Tabla 1.** Velocidad de crecimiento, tipo de antagonismo de las cinco cepas y porcentaje de reducción del crecimiento micelial de *R. stolonifer*

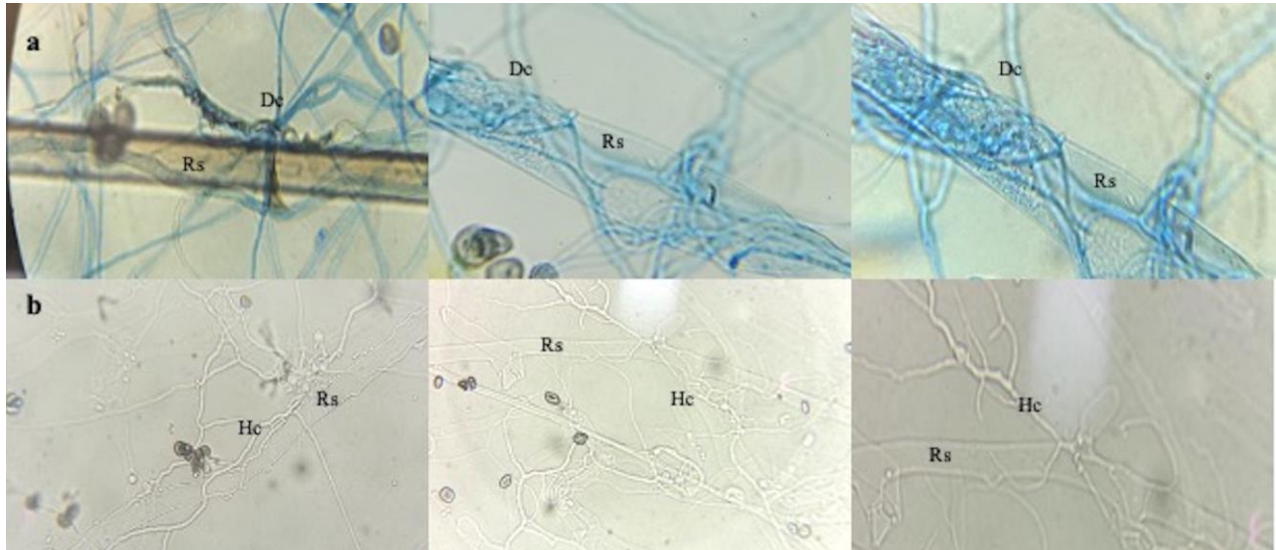
Parámetro	Cepas					
	Hc	Cc	Dc	C1	C2	Rs
Vc (mm h <sup>-1</sup> )	0.22 (0.002) <sup>c</sup>	0.23 (0.002) <sup>c</sup>	0.35 (0.003) <sup>b</sup>	0.1 (0.001) <sup>d</sup>	0.15 (0.001) <sup>d</sup>	0.65 (0.001) <sup>a</sup>
Hd (h)	48	72	48	72	72	---
Ca (Escala de Bell)	1*	4*	1*	4*	4*	---
PRCM (%)	45 ± 2.5 <sup>b</sup>	21 ± 2.0 <sup>c</sup>	52 ± 3.4 <sup>a</sup>	16 ± 2.0 <sup>c</sup>	20 ± 2.0 <sup>c</sup>	---

Vc: Velocidad de crecimiento; Hd: Tiempo para el inicio de la confrontación dual; Ca: Clase de antagonismo (1\*) El antagonista sobrecrece al fitopatógeno ocupando el 100% de la placa y (4\*) El fitopatógeno crece más del 75% entremezclándose con el antagonista e inhibiéndolo (Bell *et al.* 1982); PRCM: Porcentaje de reducción del crecimiento micelial. Las medias con la misma letra no son significativamente diferentes. Los datos fueron evaluados mediante ANOVA y la prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ). Los números entre paréntesis corresponden a la DE de cuatro experimentos separados.



**Figura 1.** Confrontación dual de los hongos antagonistas y *R. stolonifer*. a) Dc-Rs, b) Hc-Rs, c) C2-Rs, d) Cc-Rs, e) C1-Rs y h) Rs

Los hongos son el segundo grupo más amplio de la naturaleza y tienen diferentes mecanismos de supervivencia y proliferación, por lo que, varias especies de hongos se pueden utilizar en el control biológico (Badalyan *et al.* 2002, Thambugala *et al.* 2020). Dentro de las interacciones se ha indicado que el reemplazo es común entre los basidiomicetes, puede ser provocada por lisis y parasitismo, otro tipo es mediante el crecimiento excesivo de micelio, que puede sofocar el micelio del fitopatógeno, que es una estrategia de reconocimiento como respuesta a la interacción (Rayner y Webber 1984, Boddy 2000).



**Figura 2.** Microcultivo de *H. coffeata* y *Daldinia* sp. contra *R. stolonifer*. a) Dc-Rs y b) Hc-Rs

Mediante la confrontación dual se determinó el papel de antagonista, ya que se observó el comportamiento entre los organismos confrontados. Los hongos antagonistas (Dc y Hc) presentaron competencia contra Rs por espacio y nutrientes (Figura 2), mediante la secreción de enzimas hidrolíticas extracelulares, lisis celular por el enrollamiento de las hifas o la combinación de estos (Howell 2003). Como indicaron Bell *et al.* (1982) no se espera que este tipo de análisis este relacionado con el grado de control biológico en el campo, pero si, se puede conocer la capacidad y la variabilidad genética de los antagonistas y de los fitopatógenos para resistir el antagonismo. Que es parte importante para la selección de hongos que se pueden utilizar en el control de ciertos fitopatógenos, como en el caso de *R. stolonifer*, en este trabajo Hc y Dc son una alternativa para ser utilizadas como antagonistas.

Ya se ha reportado la capacidad antagonista de hongos macromicetos, Badalyan *et al.* (2002) analizaron 17 especies de basidiomicetos contra cuatro fitopatógenos: *Bipolaris sorokiniana* Shoemaker, *Fusarium culmorum* (Wm.G. Sm.) Sacc., *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* J. Walker y *Rhizoctonia cerealis* E.P. Hoeven. Los hongos *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm., *Hypholoma fasciculare* (Huds.) P. Kumm., *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst., *Lentinus tigrinus* (Bull.) Fr. y *Schizophyllum commune* Fr. presentaron mayor capacidad antagónica, mediante el mecanismo de reemplazo en un 60.2% y un 32.3% mediante punto muerto. Los hongos fueron combativos contra los patógenos, operan por antagonismo de contacto (interbloqueo) que consiste en una inhibición mutua a distancia o en contacto con el micelio y por reemplazo que consiste en un interbloqueo inicial seguido de un sobre-crecimiento parcial o total. Asimismo, Badalyan *et al.* (2004) reportaron que *P. ostreatus*, *Ganoderma* sp., *Flammulina velutipes* (Curtis) P. Karst. e *Hypholoma fasciculare* (Huds.) P. Kumm., mostraron mayor capacidad competitiva contra hongos micoparásitos (*Trichoderma harzianum* Rifai, *Trichoderma pseudokoningii* Rifai y *Trichoderma viride* Pers. y *Clonostachys rosea* (Preuss) Mussat). Se observaron zonas pigmentadas de color marrón en el área de interacción, lo cual se ha asociado con la actividad de la casa y la formación de compuestos de melanina, que protegen a las hifas de los hongos del ataque de microorganismos, ya que se ha indicado que las lacasas ayudan a los hongos a adaptarse al estrés ambiental o como defensa hacia antagonistas (Savoie *et al.* 2001).

También, Dar et al. (2011) utilizaron basidiomicetes como *Pisolithus tinctorius* (Mont.) E. Fisch y *Laccaria laccata* (Scop.) Cooke, los cuales presentaron inhibición de 45.4 y 46.2% contra *Fusarium oxysporum* Schldl., y para *Rhizoctonia solani* J.G. Kühn fue de 43.7 y 44.7% respectivamente, por lo que, *L. laccata* y *P. tinctorius* se les consideró antagonistas moderados, provocaron ruptura y torsión de las hifas de los hongos patógenos, seguida de desecación gradual, contracción del protoplasma y finalmente lisis celular. En este trabajo las cepas Hc y Dc se pueden considerar como antagonistas moderados por el PRCM de Rs (45 y 52%, respectivamente). En otro trabajo, Mutlag et al. (2018) utilizaron *P. ostreatus* como antagonista contra *Trichoderma harzianum*, *Rhizopus* spp. y *Mucor* spp., indicaron que presentó alta capacidad antagónica, ya que cubrió dos tercios del área de la placa de Petri, se le atribuyó dicho efecto antagónico a la producción de enzimas celulasas, hemicelulasas, xilanasas, amilasas y  $\beta$ -glucanasas. En este trabajo se observó contacto micelial e interferencia de hifas de las cepas Dc y Hc sobre Rs (Figura 2), para Hc se observó enrollamiento del micelio de y también se sugiere que podría ser mediante de enzimas (lisis celular), ya que es un hongo de pudrición blanca.

### Actividad antifúngica del caldo de cultivo de *H. coffeata*

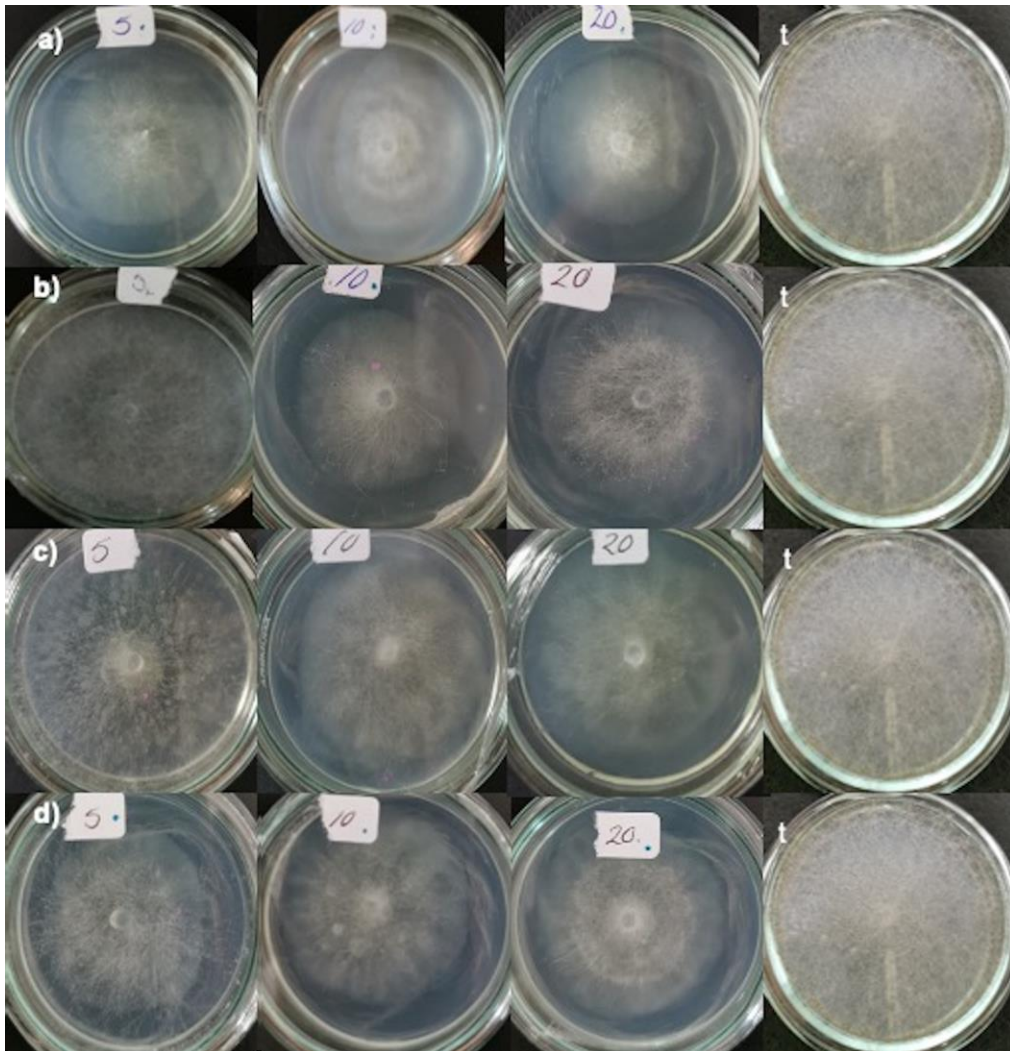
Los tres caldos de cultivo de Hc presentaron efecto sobre el crecimiento de Rs, el cultivo 1 (cultivo Hc) mostró una reducción del crecimiento de Rs entre 4.43 a 28.61%, en el cultivo 2 (Hc y Rs) hubo inhibición entre 1.81 a 39.49% y el cultivo 3 (Hc y biomasa de Rs) fue el que presentó el mayor valor de PRCM de 41.8 %, pero no hubo diferencias estadísticas significativas con el cultivo 2 (39.49%) (Tabla 2), en general, el efecto fue proporcional a la cantidad del caldo de cultivo presente en las placas de Petri.

**Tabla 2.** Efecto antifúngico del caldo de cultivo de los tres medios de *H. coffeata* sobre *R. stolonifer*

Tipo de medio de cultivo	Tiempo de cultivo (h)	PRCM (%)		
		Caldo de cultivo (%)		
		5	10	20
1	120	5.43 (0.3) <sup>e</sup>	4.43 (0.1) <sup>e</sup>	26.08 (2.8) <sup>c</sup>
	240	23.25 (3.9) <sup>c</sup>	26.61 (5.1) <sup>c</sup>	28.18 (2.5) <sup>c</sup>
	360	0	0	0
	480	0	0	0
Testigo*	0	0	0	0
2	120	25.3 (4.9) <sup>c</sup>	32.9 (2.7) <sup>b</sup>	39.4 (1.3) <sup>a</sup>
	240	24.6 (1.3) <sup>c</sup>	34.0 (0.6) <sup>b</sup>	39.4 (1.6) <sup>a</sup>
	360	26.8 (0.38) <sup>c</sup>	34.0 (4.4) <sup>b</sup>	37.3 (2.5) <sup>a</sup>
	480	1.8 (0.6) <sup>f</sup>	3.0 (0.01) <sup>f</sup>	6.5 (0.21) <sup>e</sup>
Testigo*	0	0	0	0
3	120	4.7 (0.02) <sup>e</sup>	5.4 (0.08) <sup>e</sup>	12.3 (1.3) <sup>d</sup>
	240	32.9 (0.6) <sup>b</sup>	35.1 (0.63) <sup>b</sup>	40.8 (5.1) <sup>a</sup>
	360	0	5.79 (0.03) <sup>e</sup>	6.88 (0.06) <sup>e</sup>
	480	0	0	0
Testigo*	0	0	0	0

Las medias con la misma letra no son significativamente diferentes. Los datos fueron evaluados mediante ANOVA y la prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ). Los números entre paréntesis corresponden a la DE de cuatro experimentos separados. \*Rs sin presencia de caldo de cultivo

Hubo mayor efecto del caldo de cultivo obtenido a las 240 h sobre el crecimiento de Rs, el cultivo 2 presentó actividad hasta las 480 h y en el cultivo 3 fue a las 360 h, la pérdida de la actividad antifúngica del caldo del cultivo, podría ser por la disminución de espacio y agotamiento de nutrientes dentro del sistema de cultivo. Los resultados del cultivo 2 (Figura 3) se debe a la relación de competencia dentro del cocultivo, ya que se asemeja a la condición que se establecen durante el antagonismo, en el que ambos hongos deben competir por alimento y espacio (Tabla 2), lo que se refleja en presencia de compuestos con actividad antifúngica.



**Figura 3.** Actividad antifúngica de los diferentes tiempos del cocultivo de *H. coffeata* y *R. stolonifer*. a) 5 días, b) 10 días, c) 15 días, d) 20 días, t = testigo

En varios trabajos se menciona la presencia de compuestos naturales con actividad biológica en los hongos macromicetes, la actividad antibacteriana y antifúngica son requeridas por los organismos para sobrevivir en su ambiente natural (Yamaç y Bilgili 2006) y se pueden obtener de diferente origen (cuerpo fructífero, micelio y sobrenadante de cultivo líquido) (Poucheret *et al.* 2006). Al respecto, Batool *et al.* (2019) informaron que los extractos de metanol del cuerpo fructífero de *Hortiboletus rubellus* (Krombh.) Simonini, Vizzini & Gelardi, *Suillus sibiricus* Singer y



*Boletus edulis* Bull presentaron actividad antifúngica. En el caso de *B. edulis* mostró un 51 a 53% de disminución de crecimiento de *R. stolonifer*, para *S. sibiricus* fue de 40 a 45% contra *Aspergillus terreus* Thom y para *H. rubellus* fue de 50 a 55% de disminución del crecimiento de *Aspergillus niger* Tiegh, por lo que, estos hongos ectomicorrízicos presentan compuestos antifúngicos.

Pero otra alternativa de obtener los compuestos es por medio del caldo de cultivo. En este trabajo en el cultivo 1 (cultivo axénico) inhibió el crecimiento de Rs, lo que indica la capacidad antifúngica de la cepa Hc. Pero fue mayor el efecto en el caldo de cultivo del cocultivo (cultivo 2), seguido del cultivo con biomasa seca de Rs (cultivo 3). La presencia del organismo vivo o la biomasa al ser utilizada como fuente de nutrientes, promueve la producción de compuestos que ayudan a inhibir el crecimiento de Rs. Ya que en el cocultivo se activan genes biosintéticos (expresión de vías crípticas) para la producción de metabolitos secundarios (Xu *et al.* 2023).

Se ha indicado que mediante el cocultivo se puede mejorar o establecer interacciones sintéticas entre diferentes microorganismos (Goers *et al.* 2014) y favorecer la producción de moléculas bioactivas, ya que dichos compuestos son el resultado de la respuesta de las células a su entorno. El contacto físico entre células de diferentes especies involucra la inducción de moléculas a través de proteínas o receptores de membrana específicos, lo que conduce a cambios en el entorno metabólico intracelular, por lo que es una herramienta eficiente para obtener compuestos de interés (Moody 2014, Netzker *et al.* 2015, Xu *et al.* 2023).

Por otra parte, es importante mencionar que el uso de fungicidas postcosecha conlleva a la generación de residuos. Algunos de los compuestos activos utilizados en poscosecha son tiabendazol, imazalil, miclobutanil, fludioxonil y pirimetanil, en el caso de los dos últimos, se ha indicado que son tóxicos para organismos acuáticos y con efectos nocivos duraderos. Además, los fitopatógenos desarrollan resistencia, lo que limita su eficacia, por lo que el personal llega a mezclar fungicidas e incrementa la dosis, en consecuencia se aumenta el riesgo para el ambiente y la salud humana (Zhang *et al.* 2020). Por lo que, es de gran importancia identificar organismos que son candidatos para el control de enfermedades fúngicas poscosecha. Entre los que destacan los hongos de pudrición blanca, el basidiomicete *H. coffeata* mostró mayor efecto antagonista y se corroboró mediante el cultivo líquido, los compuestos presentes en el caldo de cultivo se pueden utilizar para contrarrestar hongos patógenos, siendo una alternativa para el control de *R. stolonifer*.

## AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Humanidades Ciencia y Tecnología (CONAHCyT) por la beca de maestría recibida No. 735706.

## CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores declaran que no tienen intereses en competencia.

## LITERATURA CITADA

- Acosta-Urdapilleta MDL, Téllez-Téllez M, Villegas E, Estrada A, Díaz-Godínez G (2016) Caracterización de cinco especies de *Pleurotus* crecidas en cuatro medios de cultivo. *Mexican Journal of Biotechnology* 1: 1-11.
- Alves JM, Ferreira CFR, Dias J, Teixeira V, Martins A, Pintado M (2013) A review on antifungal activity of mushroom (basidiomycetes) extracts and isolated compounds. *Current Topics in Medicinal Chemistry* 13(21): 2648-2659.
- Badalyan SM, Garibyan NG, Innocenti G (2002) Antagonistic activity of xylophilic mushrooms against pathogenic fungi of cereals in dual culture. *Phytopathologia Mediterranea* 41: 200-225.
- Badalyan SM, Garibyan NG, Innocenti G (2004) Interactions between xylophilic mushrooms and mycoparasitic fungi in dual-culture experiments. *Phytopathologia Mediterranea* 43: 44-48.
- Batool F, Sarwar S, Jabeen K, Shafiq T, Khalid AN (2019) Assessment of antifungal activity of some boletes mushrooms found in Himalayan range of Pakistan against some fungi. *Pure and Applied Biology (PAB)* 8(4): 2257-2261.
- Bautista-Baños S, Bosquez-Molina E, Barrera-Necha LL (2014) *Rhizopus stolonifer* (soft rot). In: Bautista-Baños S (eds) *Postharvest decay*. Academic Press. pp: 1-44.
- Bell DK, Wells HD, Markham CR (1982) In vitro antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. *Phytopathology* 72: 379-382. <https://doi.org/10.1094/Phyto-72-379>.
- Berovič M, Habijanič J, Zore I, Wraber B, Hodžar D, Boh B, Pohleven F (2003) Submerged cultivation of *Ganoderma lucidum* biomass and immunostimulatory effects of fungal polysaccharides. *Journal of Biotechnology* 103: 77-86. [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(03\)00069-5](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(03)00069-5).
- Boddy L (2000) Interspecific combative interactions between wood-decaying basidiomycetes. *FEMS Microbiology Ecology* 31(3): 185-194. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2000.tb00683.x>.
- Chandrashekara KN, Manivannan S, Chandrashekara C, Chakravarthi M (2012) Biological control of plant diseases. In: Singh VK, Singh Y, Singh A (eds) *Eco-friendly innovative approaches in plant disease management International*. Book Distributors and Publisher. New Delhi. pp. 147-166.
- Cuevas MJA (2016) Los hongos: Héroes y villanos de la prosperidad humana. *Revista Digital Universitaria* 17: 2-10.
- Dar GH, Beig MA, Ahanger FA, Ganai NA, Ahangar MA (2011) Management of root rot caused by *Rhizoctonia solani* and *Fusarium oxysporum* in blue pine (*Pinus wallichiana*) through use of fungal antagonists. *Asian Journal of Plant Pathology* 5(2): 62-67.
- Ezziyani M, Sánchez CP, Ahmed AS, Requena ME, Castillo MEC (2004) *Trichoderma harzianum* como biofungicida para el biocontrol de *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum annuum* L.). *Anales de Biología* 26: 35-45.
- FAO (2022) Tackling food loss and waste: A triple win opportunity 2022. FAO. Roma. <https://www.fao.org/newsroom/detail/FAO-UNEP-agriculture-environment-food-loss-waste-day-2022>. Fecha de consulta: 22 de diciembre de 2022.
- Goers L, Freemont P, Polizzi KM (2014) Co-culture systems and technologies: taking synthetic biology to the next level. *Journal of The Royal Society Interface* 11(96): 20140065. <https://doi.org/10.1098/rsif.2014.0065>.
- Guédez C, Cañizález L, Castillo C, Olivar R (2009) Efecto antagónico de *Trichoderma harzianum* sobre algunos hongos patógenos postcosecha de la fresa (*Fragaria* spp.). *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología* 29: 34-38.
- Howell CR (2003) Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases. The history and evolution of current concepts. *Plant Disease* 87: 4-10. <https://www.doi.org/10.1094/PDIS.2003.87.1.4>.
- Janisiewicz WJ, Korsten L (2002) Biological control of postharvest diseases of fruits. *Annual Review of Phytopathology* 40: 411-441. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.40.120401.130158>.
- Khalid S, Naseer A, Shahid M, Shah GM, Ullah MI, Waqar A, Abbas T, Rehman F (2019) Assessment of nutritional loss with food waste and factors governing this waste at household level in Pakistan. *Journal of cleaner production* 206: 1015-1024. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.09.138>.
- Lee YS, Kim J, Shin SC, Lee SG, Park IK (2008) Antifungal activity of Myrtaceae essential oils and their components against three phytopathogenic fungi. *Flavour and Fragrance Journal* 23(1): 23-28. <https://doi.org/10.1002/ffj.1850>.
- Michel-Aceves AC, Hernández-Morales J, Toledo-Aguilar R, Sabino López JE, Romero-Rosales T (2019) Capacidad antagónica de *Trichoderma* spp. nativa contra *Phytophthora parasitica* y *Fusarium oxysporum* aislados de cultivos de jamaica. *Revista Fitotecnia Mexicana* 42: 235-241.

- Moody SC (2014) Microbial co-culture: harnessing intermicrobial signaling for the production of novel antimicrobials. *Future Microbiology* 9(5): 575-578. <https://doi.org/10.2217/fmb.14.25>.
- Mutlag NH, Sadeq MA, Hussein AM, Rasim H (2018) Assessment of the effect of autoclaving of *Pleurotus ostreatus* filtrate on its pathogenicity and antagonistic ability. *Biochemical and Cellular Archives* 18: 2095-2099.
- Netzker T, Fischer J, Weber J, Mattern DJ, König CC, Valiante V, Schroeckh V, Brakhage AA (2015) Microbial communication leading to the activation of silent fungal secondary metabolite gene clusters. *Frontiers in Microbiology* 6: 299. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00299>.
- Poucheret P, Fons F, Rapior S (2006) Biological and pharmacological activity of higher fungi: 20-year retrospective analysis. *Cryptogamie Mycologie* 27(4): 311.
- Rayner ADM, Webber JF (1984) Interspecific mycelial interactions- an overview. *Symposium series-British Mycological Society*: 383-417.
- Riddell RW (1950) Permanent stained mycological preparations obtained by slide culture. *Mycologia* 42: 265-270. <https://doi.org/10.2307/3755439>.
- Sánchez JE, Royle D (2001) *La biología y el cultivo de *Pleurotus* spp.* 1a Edición. Editorial UTEHA Noriega. México. 293p.
- Savoie JM, Mata G, Mamoun M (2001) Variability in brown line formation and extracellular laccase production during interaction between white-rot basidiomycetes and *Trichoderma harzianum* biotype Th2. *Mycologia* 93(2): 243-248. <https://doi.org/10.2307/3761644>.
- Singh J, Mirza A, Kaur S, Arya SK, Singh G (2023) Application of microbial antagonists for the preservation of fruits: An effective strategy to inhibit the postharvest disease. *Relationship Between Microbes and the Environment for Sustainable Ecosystem Services* 3: 261-288. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-89936-9.00018-7>.
- Thambugala KM, Daranagama DA, Phillips AJ, Kannangara SD, Promputtha I (2020) Fungi vs. fungi in biocontrol: An overview of fungal antagonists applied against fungal plant pathogens. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 10. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.604923>.
- Uc-Arguelles AK, Pérez-Moreno J, Ayala-Escobar V, Zavaleta-Mejía E (2017) Antagonism of *Saccharicola* sp. against phytopathogens of the root of jalapeno pepper (*Capsicum annuum*). *Revista Mexicana de Fitopatología* 35: 263-283. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1611-6>.
- Xu S, Li M, Hu Z, Shao Y, Ying J, Zhang H (2023) The potential use of fungal co-culture strategy for discovery of new secondary metabolites. *Microorganisms* 11(2): 464. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11020464>.
- Yamaç M, Bilgili F (2006) Antimicrobial activities of fruit bodies and/or mycelial cultures of some mushroom isolates. *Pharmaceutical Biology* 44(9): 660-667. <https://doi.org/10.1080/13880200601006897>.
- Zhang X, Li B, Zhang Z, Chen Y, Tian S (2020) Antagonistic yeasts: A promising alternative to chemical fungicides for controlling postharvest decay of fruit. *Journal of fungi* 6(3): 158. <https://doi.org/10.3390/jof6030158>.