

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE AGRONOMÍA



**ACTIVIDAD ANTAGÓNICA DE LOS SOBRENADANTES DE *Macrolepiota sp.*
CS185 CONTRA HONGOS POSCOSECHA DE FRUTOS DE HIGO (*Ficus carica L.*)**

TESIS

QUE PARA CONCLUIR LA
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGRÍCOLA

PRESENTA

JESÚS SALVADOR HERNÁNDEZ OCHOA

General Escobedo, Nuevo León

Agosto 2021

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE AGRONOMÍA



**ACTIVIDAD ANTAGÓNICA DE LOS SOBRENADANTES DE *Macrolepiota* sp. CS185
CONTRA HONGOS POSCOSECHA DE FRUTOS DE HIGO (*Ficus carica* L.)**

TESIS

QUE PARA CONCLUIR LA
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGRÍCOLA

PRESENTA

JESÚS SALVADOR HERNÁNDEZ OCHOA

General Escobedo, Nuevo León

Agosto 2021

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE AGRONOMÍA



**ACTIVIDAD ANTAGÓNICA DE LOS SOBRENADANTES DE *Macrolepiota* sp. CS185
CONTRA HONGOS POSCOSECHA DE FRUTOS DE HIGO (*Ficus carica* L.)**

TESIS

QUE PARA CONCLUIR LA
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGRÍCOLA

PRESENTA

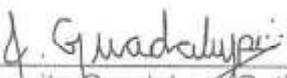
JESÚS SALVADOR HERNÁNDEZ OCHOA

General Escobedo, Nuevo León

Agosto 2021

ESTA TESIS FUE REVISADA Y APROBADA POR EL
COMITÉ PARTICULAR COMO REQUISITO PARCIAL
PARA CONCLUIR LA
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGRÍCOLA

COMITÉ PARTICULAR



Dra. Juanita Guadalupe Gutiérrez Soto
Directora de Tesis



Dr. Iosvany López Sandin
Co-Director Externo



Dra. Adriana Gutiérrez Díez
Asesor



Dr. Guillermo Niño Medina
Asesor



Dra. Laura Levin
Asesor Externo

DEDICATORIA

Esta tesis es dedicada a:

Mi abuelo.

Mis padres y hermanos.

Jessica Vianey y a la familia Moctezuma Morin.

AGRADECIMIENTOS

Agradecimientos:

A la Dra. Guadalupe Gutiérrez Soto por su apoyo, guía y enseñanzas desde el año 2012.

Al **CONACYT** por proporcionarme la base de sustento económico que cubrió mis estudios de maestría.

A la **Universidad Autónoma de Nuevo León** y a la **Facultad de Agronomía** por permitirme realizar los estudios de maestría y facilitarme el uso de sus instalaciones y recursos en el cumplimiento de los objetivos de mi proyecto de investigación.

A Alexandra Elbakyan.

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE CUADROS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	x
RESUMEN	xii
ABSTRACT	xiv
1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVO GENERAL	3
2.1. Objetivos específicos	3
3. REVISIÓN DE LITERATURA (ANTECEDENTES)	4
3.1. La poscosecha de frutas.	4
3.2. Hongos poscosecha en la producción agrícola.	4
3.3. Poscosecha de frutos de higos	7
4. METODOLOGÍA	12
4.1. Localización del experimento	12
4.2. Materiales y métodos	12
4.3. Material biológico	12
4.4. Aislamiento e identificación de hongos poscosecha	13
4.5. Perfil de enzimas degradadoras de pared celular vegetal (EDPCV).....	13

4.6.	Actividad antagónica en confrontaciones múltiples.....	14
4.7.	Actividad antifúngica de los sobrenadantes	16
4.8.	Cinética de producción de la actividad antifúngica.....	17
4.9.	Análisis estadístico.....	18
5.	RESULTADOS.....	19
5.1.	Aislamiento e identificación de hongos poscosecha	19
5.2.	Efecto antagónico de los cultivos de <i>Macrolepiota</i> sp. CS185.....	22
5.3.	Efecto de la concentración del sobrenadante en el medio sobre la actividad antagónica	26
5.4.	Cinética de la producción de la actividad antagónica de los sobrenadante de <i>Macrolepiota</i> sp. CS185.....	33
6.	CONCLUSIONES	47
7.	RECOMENDACIONES PARA FUTUROS TRABAJOS	48
8.	BIBLIOGRAFÍA	49

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Índices de degradación (ID) de las EDPCV producidas por los hongos poscosecha.....	22
2	Cuadrados medios del análisis de varianza para las confrontaciones múltiples.	23
3	Comparación de medias del porcentaje inhibición (%In) del crecimiento radial de los aislados.	25
4	Cuadrados medios del análisis de varianza para el porcentaje de inhibición (%In) a diferentes concentraciones de sobrenadante.....	27
5	Velocidad de crecimiento y porcentajes relativos de inhibición....	31
6	Cuadrados medios del análisis de varianza para el porcentaje de inhibición (%In) de los sobrenadante de diferentes edades.	34
7	Velocidades de crecimiento micelio y porcentaje relativo de inhibición del crecimiento.	44

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Características macroscópicas y algunas microscópicas de los aislados.....	20
2	Confrontaciones múltiples.....	26
3	%In a diferentes concentraciones de sobrenadantes de <i>Macrolepiota</i> sp. CS185	28
4	Curvas de crecimiento con diferentes concentraciones de sobrenadante de <i>Macrolepiota</i> sp. CS185.....	30
5	Efecto antagónico de las diferentes concentraciones del sobrenadante de <i>Macrolepiota</i> sp. CS185.....	32
6	Efecto del período de incubación del cultivo sobre la actividad antagónica de los sobrenadantes contra los aislados de <i>Alternaria</i>	36
7	Comportamiento de la actividad antagónica de los sobrenadantes SN25 y SN30.....	37
8	Efecto de la edad de sobrenadantes sobre la actividad antagónica contra los aislados de <i>Colletotrichum</i>	39
9	Comportamiento de la actividad antagónica de los sobrenadantes SN25 y SN30.....	40
10	Velocidades de crecimiento micelial.....	42

11	Porcentaje relativo de inhibición en la velocidad del crecimiento diario (PRIVCM).....	44
12	Efecto de los sobrenadantes de <i>Macrolepiota</i> sp. CS185 en el desarrollo y pigmentación de las colonias.....	46

RESUMEN

Macrolepiota sp. CS185 es un basidiomiceto de la pudrición blanca que ha mostrado actividad antagónica contra aislados fitopatógenos de tomate, asociada a la producción de metabolitos antifúngicos. Por lo que, en la presente investigación el objetivo fue determinar la actividad antagónica de los sobrenadantes de *Macrolepiota* sp. CS185 contra hongos poscosecha de frutos de higo (*Ficus carica* L.). Para lo cual, fueron obtenidos hongos a partir de frutos de higo adquiridos de comercios locales del área Metropolitana de la ciudad de Monterrey. Estos fueron aislados, identificados y determinados los perfiles de enzimas degradadoras de componentes de pared celular vegetal (EDPCV). En medio sólido fue evaluado el potencial antagónico de los cultivos y sobrenadantes contra los aislados poscosecha, además de la evaluación del efecto de la concentración y edad de los sobrenadantes sobre la actividad antagónica. A partir de los frutos de higos colectados fueron identificados cuatro aislados del género *Alternaria* y dos pertenecientes al género *Colletotrichum*, con diferentes patrones de EDPCV ($P \leq 0.05$). En confrontaciones múltiples los aislados de *Colletotrichum* fueron los más susceptibles, al ser inhibidos en aproximadamente un 70%. Con respecto al efecto de la concentración del sobrenadante sobre el porcentaje de inhibición, la velocidad de crecimiento del micelio y porcentaje relativo de inhibición en la velocidad del crecimiento diario mostraron diferencias ($P \leq 0.05$) entre tratamientos, aunque en

la mayoría de los aislados, los tratamientos 30 y 50% tuvieron un comportamiento similar. La edad del cultivo de *Macrolepiota* sp. CS185 influyó en estos parámetros de forma significativa ($P \leq 0.05$), principalmente en los sobrenadantes SN15, SN20 y SN30 que mostraron la mayor actividad antagónica, siendo *Alternaria* sp. 1 y *Colletotrichum* sp. 2 los aislados más susceptibles. Los patrones de comportamiento observados en las cinéticas de actividad antagónica sugieren que más de un metabolito podría ser responsable de dicha actividad.

ABSTRACT

Macrolepiota sp. CS185 is a white rot basidiomycete that has shown antagonistic activity against tomato phytopathogenic isolates, associated with the production of antifungal metabolites. Therefore, the aim of the present investigation was to evaluate the antagonistic activity of *Macrolepiota* sp. CS185 supernatants against postharvest fungi of fig fruits (*Ficus carica* L.). With this purpose, the mushrooms were isolated from fig fruits acquired in local shops in the Metropolitan area of the city of Monterrey, N. L. They were identified and the profiles of degrading enzymes of plant cell wall components (EDPCV) were determined. In solid medium, the antagonistic potential of the cultures and supernatants was evaluated against the postharvest isolates. In addition, the effect of the concentration and age of the supernatants on the antagonistic activity was estimated. From the collected fig fruits, four isolates of the genus *Alternaria* and two belonging to the genus *Colletotrichum* were identified, with different levels of EDPCV ($P \leq 0.05$). In assays of multiple confrontations, the *Colletotrichum* isolates were the most susceptible, being inhibited by approximately 70%. Supernatant concentration affected mycelial growth rate and relative inhibition percentage in the daily growth rate showed differences ($P \leq 0.05$) among treatments, although in most of the isolates, treatments 30 and 50% behaved similarly. In addition, culture age of *Macrolepiota* sp. CS185 supernatants influenced these parameters significantly ($P \leq 0.05$), SN15, SN20 and SN30 supernatants showed the highest antagonistic activity,

being *Alternaria* sp. 1 and *Colletotrichum* sp. 2 the most susceptible isolates. The patterns observed in the kinetics of antagonistic activity suggest that more than one metabolite might be responsible for these activities.

1. INTRODUCCIÓN

El continuo aumento de la población ha incrementado la demanda de alimento a nivel mundial, intensificando la producción agrícola. Sin embargo, las incorrectas técnicas productivas y el ataque de microorganismos han sido responsables de significativas pérdidas de alimentos, principalmente durante las labores de poscosecha; lo cual puede ser mayormente evidenciado en la producción de frutas y hortalizas, donde su calidad y vida de anaquel es notablemente afectada generando pérdidas de hasta un 50%. Para el caso particular de los frutales estos microorganismos pueden ocasionar pérdidas productivas en más del 50% de sus especies (Carmona- Hernández *et al.*, 2019; Elik *et al.*, 2019).

Las frutas son consideradas alimentos saludables y de alto valor nutritivo, especialmente en la dieta y la salud de los seres humanos, lo que ha resultado en un incremento significativo de su consumo (Tzortzakis y Chrysargyris, 2017; Ding y Lee, 2019). Por lo tanto, para cubrir el incremento en su consumo es necesario reducir las pérdidas de producción, principalmente durante las actividades de poscosecha. Con este objetivo, se siguen tres pasos básicos para el manejo de enfermedades poscosecha en frutas, la prevención de la infección, la eliminación de la infección incipiente o latente y la prevención de la propagación del patógeno en el tejido huésped (Singh y Sharma, 2018).

Los frutos de higo (*Ficus carica* L.) han adquirido gran interés económico y nutrimental como complemento alimenticio debido principalmente a sus propiedades antioxidantes (Hssaini *et al.*, 2020; Benmaghnia *et al.*, 2021), impulsando la implementación de tecnologías que contribuyan a mejorar sus sistemas de producción, procesamiento y conservación. Lo que ha conducido al estudio de la producción intensiva bajo condiciones de invernadero e hidroponía (Mendoza-Castillo *et al.*, 2017).

Sin embargo, a nivel poscosecha las principales pérdidas se han asociado a deficiencias en el manejo de las temperaturas de almacenamiento (Jusoh *et al.*, 2019; Hayati *et al.*, 2021) y a las enfermedades como la pudrición causada por *Alternaria tenuis*, la pudrición del moho negro causada por *Aspergillus niger*, el moho gris o podredumbre de *Botrytis* y la endosepsis causada por *Fusarium moniliforme* (Colelli y Amodio, 2020). Por tal motivo se exploran estrategias económicas y naturales que contribuyan a preservar la calidad del fruto durante el almacenamiento poscosecha, como es el uso de recubrimientos (Paolucci *et al.*, 2020; Vieira *et al.*, 2021) y su combinación con aceites esenciales (Saki *et al.*, 2019).

Una alternativa para la obtención de nuevas fuentes de compuestos antifúngicos con aplicación contra hongos poscosecha son los basidiomicetos de la pudrición blanca (Ragupathi *et al.*, 2020; Thangaraj *et al.*, 2021). Por lo que, el objetivo del presente trabajo fue determinar la actividad antagónica de los sobrenadantes de *Macrolepiota* sp. CS185 contra hongos poscosecha aislados de frutos de higo (*Ficus carica* L.).

2. OBJETIVO GENERAL

Determinar la actividad antagónica de los sobrenadantes de *Macrolepiota* sp. CS185 contra hongos poscosecha aislados de frutos de higo (*Ficus carica* L.).

2.1. Objetivos específicos

Para cumplir con el objetivo general se plantearon los siguientes objetivos específicos:

- 1) Obtener hongos poscosecha a partir de frutos de higo (*Ficus carica* L.)
- 2) Determinar la capacidad antagónica de *Macrolepiota* sp. CS185 contra los hongos poscosecha aislados
- 3) Evaluar el efecto antifúngico de los sobrenadantes de *Macrolepiota* sp. CS185
- 4) Identificar el efecto de la edad del cultivo sobre la actividad antifúngica de los sobrenadantes de *Macrolepiota* sp. CS185

3. REVISIÓN DE LITERATURA (ANTECEDENTES)

3.1. La poscosecha de frutas

La producción de frutas ha ganado importancia e interés por su aporte nutrimental y nutracéuticos, asociado al incremento de la población mundial y a la necesidad de alimentos de calidad (Silva y Sirasa, 2018; Sharma *et al.*, 2021). Lo cual ha demandado elevar los volúmenes de producción frutícolas y reducir sus pérdidas, principalmente durante las actividades de poscosecha (Dukare *et al.*, 2019).

La poscosecha es un período que depende de varios parámetros como son las propiedades fisiológicas y el estrés biótico/abiótico (Sanzani *et al.*, 2016), que abarca desde la cosecha de la fruta hasta su consumo, en el cual se llevan a cabo las prácticas de manejo, empaque, transporte y almacenamiento. Es una etapa del proceso productivo determinante en la calidad y vida de anaquel de la fruta, donde se pueden registrar pérdidas de hasta un 50%, resultado principalmente de la acción de microorganismos fitopatógenos (Elik *et al.*, 2019).

3.2. Hongos poscosecha en la producción agrícola

Los hongos se encuentran en todos los entornos naturales o construidos por el hombre, más aún cuando encuentran las condiciones necesarias para proliferar, como es la presencia de humedad, llegando a causar el deterioro de frutas y otros alimentos (Samson *et al.*, 2019).

Los patógenos fúngicos provocan pérdidas significativas en la producción agrícola (Peng *et al.*, 2021; Zhang *et al.*, 2021). Por lo que, varios estudios se han centrado en la búsqueda de alternativas que contrarresten la aparición de hongos y los daños asociados. En este sentido, han sido estudiados métodos físicos, químicos, biológicos y sus combinaciones en la prevención y reducción del crecimiento de hongos, así como en la producción de micotoxinas durante la poscosecha de productos agrícolas (Singh y Sharma, 2018; Liu *et al.*, 2020). Sin embargo, la práctica más común es el uso de controladores químicos, a pesar de que su uso extensivo genera problemas asociados con la contaminación ambiental por acción de los residuos tóxicos, lo que ha afectado el desarrollo sostenible de la agricultura (Carmona- Hernández *et al.*, 2019; Peng *et al.*, 2021; Stracquadanio *et al.*, 2021).

Los efectos negativos del control químico de hongos fitopatógenos han inducido al desarrollo de técnicas ecológicas más seguras que garanticen la calidad y vida útil de los productos agrícolas, principalmente en frutos, como el uso de productos biodegradables naturales con propiedades antimicrobianas (Munhuweyi y Sivakumar, 2020; Hernández *et al.*, 2021). En este sentido, el uso de bacterias y hongos antagonistas como control biológico de enfermedades poscosecha, ofrece una alternativa viable ante los fungicidas sintéticos (Wang *et al.*, 2020). Por tanto, la inhibición de fitopatógenos en frutas utilizando microorganismos antagonistas se ha considerado un control biológico que genera grandes beneficios ecológicos, aunque su uso se ha visto limitado (Carmona- Hernández *et al.*, 2019; De Simone *et al.*, 2021).

A los fungicidas biológicos antes de ser utilizados como producto fitosanitario en la poscosecha e introducción en el mercado, se les realiza una rigurosa evaluación de

riesgos sobre la capacidad del agente de control biológico para colonizar, persistir y propagarse, además de las posibles rutas de dispersión en condiciones habituales de uso (Soto-Muñoz *et al.*, 2020). Por otra parte, también han sido utilizados aceites esenciales con capacidad antifúngica frente a hongos fitopatógenos de la cosecha y poscosecha, como una alternativa natural para extender la vida útil principalmente de las frutas (Boubaker *et al.*, 2016; El Ouadi *et al.*, 2017; Santamarina *et al.*, 2017; Ding y Lee, 2019). Asimismo, ha sido utilizado el polisacárido quitosano como agente ecológico para controlar las enfermedades causadas por patógenos de heridas (Betchem *et al.*, 2019; Ding y Lee, 2019).

Por otra parte, los métodos físicos han sido ampliamente utilizados en el control de enfermedades poscosecha en frutas y hortalizas. Son considerados tratamientos con un mínimo impacto ambiental, libres de residuos, destacándose el almacenamiento en frío como principal método físico para retrasar o reducir las enfermedades bióticas y abióticas. Aunque, existen otros tratamientos con potencial como es el calor (agua y aire caliente), la presión hipobárica e hiperbárica, la radiación ultravioleta lejana (luz UV-C), la radiofrecuencia y microondas tóxicos, y las atmósferas controladas y modificadas (Usall *et al.*, 2016). Sin embargo, todos estos métodos tienen sus limitantes, por ejemplo, el almacenamiento en frío puede disminuir la calidad y el valor económico de las frutas, resultado de trastornos fisiológicos de daños por frío, llamado lignificación (Lin *et al.*, 2018).

Otra alternativa de naturaleza física y libre de químicos que no reporta efectos adversos conocidos sobre los productos frescos o el medio ambiente es la utilización de plasma frío en el control de patógenos fúngicos de poscosecha. Ésta es una

tecnología con amplia aplicación en el campo médico que ha demostrado controlar los patógenos bacterianos que causan problemas de seguridad alimentaria (Siddique *et al.*, 2018).

3.3. Poscosecha de frutos de higuera

La higuera (*Ficus carica* L.) es un arbusto caducifolio o perennifolio leñoso, de 5 a 10 m de altura, de copa gruesa redondeada o aplanada, hojas caducas, simples, alternas ovales, rugoso-pubescentes acorazonadas y palmadas con tres a siete lóbulos, que miden de 10 a 20 cm de longitud y casi igual de ancho. Se caracteriza por dos morfotipos: los cabrahigos, con flores estaminadas funcionales y flores pistiladas de estilo corto y la higuera cultivada sólo con flores pistiladas (Stover *et al.*, 2007; Crisosto *et al.*, 2011). Es una especie originaria de Asia occidental y distribuida en la cuenca mediterránea por las primeras etapas de la civilización agrícola (Accademia dei Georgofili, 2003). Casi todos los cultivares son el resultado de una selección antigua y se mantienen mediante propagación vegetativa (Mars, 2001).

El higo es un fruto compuesto (infrutescencia), climatérico, blando, ovoide o elipsoide, carnoso, recubierto con una piel muy fina, con pequeños y numerosos aquenios incluidos en el fruto, es de color azulado o verde, negro o morado, mide de 3 a 10 cm de largo y tiene sabor dulce, mucilaginoso (Stover *et al.*, 2007; Polat y Caliskan, 2008). Se describen cuatro tipos de frutos en función de las características de cultivo y polinización. El tipo conocido como "higo común" no requiere polinización para establecer un cultivo comercial. Los botánicos usan el término "persistente" en lugar de "partenocárpico", porque el higo no es una fruta verdadera. Los otros dos tipos de

higos comestibles no son persistentes y requieren polinización para fijar la cosecha principal (Stover *et al.*, 2007; Giraldo *et al.* 2010).

El consumo de higo se ha asociado con grandes beneficios para la salud debido a su contenido de polifenoles totales, flavonoides totales y antocianinas que le brindan gran capacidad antioxidante (Solomon *et al.*, 2006; Çalişkan y Polat, 2011; Arvaniti *et al.*, 2019). Sin embargo, los frutos frescos del higo suelen ser muy susceptibles a algunos trastornos fisiopatológicos durante la vida posterior a la cosecha, como el ablandamiento y el agrietamiento de la piel, incluso en condiciones de almacenamiento en frío. Por lo que son productos altamente perecederos en poscosecha con descomposición microbiológica que resulta en un sabor y olor desagradable debido a la podredumbre, requiriendo métodos de conservación que contrarresten su deterioro (Paolucci *et al.*, 2020).

Los estudios de micobiota han identificado las especies asociadas al deterioro de los frutos, destacando los géneros de *Alternaria*, *Aspergillus*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Eurotium*, *Fusarium*, *Geotrichum*, *Gloeosporium*, *Monilinia*, *Mucor*, *Penicillium* y *Rhizopus* (Hedawoo *et al.*, 2017; Villalobos *et al.*, 2017; Abbas *et al.*, 2020). En particular *Alternaria* y *Fusarium*, se destacan por causar la pudrición interna de los frutos y son responsables de los principales problemas asociados a hongos en la producción de higos (Stover *et al.*, 2007).

Los frutos de higo infectados con *Alternaria* muestran pequeñas manchas hundidas, necróticas, circulares u ovaladas, de color marrón claro, ubicadas principalmente en

las áreas que rodean el canal ostiolar con un diámetro promedio de 5 a 10 mm, que gradualmente aumentan de tamaño y conducen a la pudrición total del fruto, alcanzando pérdidas de hasta el 29% (Latinović *et al.*, 2004; Alam *et al.*, 2021).

Uno de los factores que contribuye al desarrollo de estos hongos es el daño mecánico, siendo considerado un tipo de estrés que se asocia con la manipulación y ocasiona cambios fisiológicos y morfológicos en los frutos (Martínez-Romero *et al.*, 2004). Mientras que, en las infecciones por *Fusarium* son abundantes los conidios polvorientos negros en la cavidad de frutos maduros. La descomposición generalmente comienza en el ostiolo y luego se disemina a su alrededor como áreas empapadas de agua (Crisosto *et al.*, 2011). Los síntomas observados en frutos infectados con *Botrytis cinerea*, *Penicillium minioluteum* y *Rhizopus stolonifer* se caracterizan por una pudrición húmeda y posteriormente se vuelve evidente la presencia del micelio y esporulación gris en el caso de *B. cinerea* (Montealegre *et al.*, 2000).

Lo anterior ha llevado a la búsqueda de estrategias que permitan extender la vida útil de los frutos de higo. Las cuales se han enfocado en el estudio del efecto de la temperatura (Ertan *et al.*, 2018; Hayati *et al.*, 2021), envasado en atmósfera modificadas (Martínez-Damian *et al.*, 2020), uso de agentes químicos (Irfan *et al.*, 2013), radiación (Usberti y Ferraz, 2020) y el desarrollo de recubrimientos que conserven los atributos de calidad de los frutos (Paolucci *et al.*, 2020).

Los polímeros más utilizados en los recubrimientos son el quitosano, alginato de sodio, el agar, goma arábica (Khaliq *et al.*, 2015; Chen *et al.*, 2018; Paolucci *et al.*, 2020). Aunque ha crecido el interés por la combinación de éstos con aceites esenciales (Saki, 2019) o compuestos activos extraídos de subproductos agrícolas (Moccia *et al.*, 2021), que les brinden mayor protección antimicrobiana. Otras estrategias que han ganado interés en la preservación de la calidad de los frutos son el uso de recubrimientos a base de mucílago de nopal con actividad bactericida (Allegra *et al.*, 2017) y el uso de nanopartículas de óxido de zinc (Lakshmi *et al.*, 2018).

Sin embargo, existe una fuente de metabolitos bioactivos que no han sido aprovechados en el ámbito de la poscosecha, como son los basidiomicetos (Schüffler, 2018; Sidorova y Voronina, 2019). Tanto los extractos orgánicos como los sobrenadantes obtenidos de los carpóforos o cultivos de este grupo de hongos han mostrado actividad antifúngica sobre hongos de importancia económica (Aqueveque *et al.*, 2017; Dutta *et al.*, 2019; Hernández-Ochoa *et al.*, 2019; Priya *et al.*, 2019; Fukushima-Sakuno, 2020). Así han sido identificados compuestos como las Crinipellinas A e I producidas por el basidiomiceto *Crinipellis rhizomaticola*, con actividad contra los fitopatógenos *Magnaporthe oryzae*, *Colletotrichum coccodes*, *B.* y *Phytophthora infestans* (Han *et al.*, 2018). Las estrobilurinas son un grupo de metabolitos bioactivos producidos por varios hongos y que han permitido el desarrollo de fungicidas agrícolas como el β -metoxiacrilato (Iqbal *et al.*, 2018; Nofiani *et al.*, 2018), actuando sobre fitopatógenos como *Gibberella zeae*, *Sclerotinia sclerotiorum* y *Rhizoctonia cerealis* (Chen *et al.*, 2017).

En general, la revisión de literatura permitió profundizar en aspectos relevantes sobre el manejo poscosecha de frutas, con énfasis en los frutos de higo. Asimismo, fueron abordadas algunas de las principales causas que generan pérdidas significativas durante la poscosecha de frutas, así como las alternativas utilizadas para su control.

4. METODOLOGÍA

4.1. Localización del experimento

La fase experimental de la investigación fue realizada en el Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León, Campus de las Ciencias Agropecuarias, General Escobedo, Nuevo León, México.

4.2. Materiales y métodos

Todos los reactivos y compuestos químicos utilizados fueron de grado reactivo de la casa comercial Sigma Aldrich (San Luis, Misuri, Estados Unidos). Los medios de cultivos fueron de la marca comercial BD (Becton, Dickinson and Company, New Jersey, U.S.A). Todas las soluciones fueron preparadas con agua bidestilada de Laboratorios Monterrey, S.A. (Monterrey, Nuevo León, México). Las mediciones del crecimiento del micelio de los hongos fueron realizadas con un Vernier digital Caliper de 150 mm con una precisión de 0.01 mm..

4.3. Material biológico

La cepa *Macrolepiota* sp. CS185 fue obtenida del cepario de micelios vegetativos del Laboratorio de Enzimología de la Facultad de Ciencias Biológicas, UANL. La cual es conservada en medio YMGA (glucosa 4 g L⁻¹, extracto de malta 10 g L⁻¹, extracto de

levadura 4 g L⁻¹ y agar 15 g L⁻¹), mediante resiembras periódicas cada tres meses (Hernández-Luna *et al.*, 2008).

La preparación del inóculo consistió en la reactivación de las cepas en el medio YMGA y papa dextrosa agar (PDA), con cinco días de crecimiento. A partir de la periferia de las colonias reactivas, fueron tomados discos de 0.5 cm para la siembra de medios sólidos y líquidos.

4.4. Aislamiento e identificación de hongos poscosecha

Los hongos poscosecha fueron obtenidos de higos colectados en comercios del área metropolitana de Monterrey. Estos fueron aislados en placas Petri con medio PDA, suplementado con ácido tartárico al 10% y resemebrados hasta obtener colonias aisladas. Una vez lograda la purificación de los micelios, fueron identificados morfológicamente (Aloi *et al.*, 2021; Elfar *et al.*, 2018; Velázquez-Silva *et al.*, 2018; Rojo-Báez *et al.*, 2017).

4.5. Perfil de enzimas degradadoras de pared celular vegetal (EDPCV)

La evaluación del perfil de enzimas degradadoras de componentes de pared celular vegetal (EDPCV) como celulasas, xilanasas, enzimas modificadoras de lignina (EML) y pectinasas, además de amilasas de los hongos fitopatógenos fue realizada en medio sólido. El medio base utilizado fue el descrito por Sin *et al.* (2002) cuya composición base fue peptona (0.1%), extracto de levadura (0.01%) y agar (2.0%). Como fuentes de carbono se emplearon carboximetilcelulosa (CMC, 1%), xilano (1%) y pectina

(0.5%), añadidos al medio base para la detección de celulasas, xilanasas y pectina, respectivamente.

Para la detección de amilasas fue utilizado almidón al 1%, mientras que para la detección de actividad de EML se utilizó el colorante Poly R-478 al 0.04% y glucosa al 1% como fuente de carbono. La actividad lacasa fue revelada por la oxidación de la siringaldazina (0.5%), la cual fue añadida después de esterilizar el medio. El crecimiento de los hongos fue registrado diariamente. Para revelar la actividad de las carbohidrolasas al tercer día, fue utilizada una solución de yodo. Todos los ensayos fueron realizados por cuatriplicado. El diámetro del halo de hidrólisis fue medido para calcular el índice de degradación (ID) mediante la siguiente ecuación (Medina González et al., 2016):

$$ID = \frac{h}{c} \quad (1)$$

Donde h corresponde a la hidrólisis (mm) y c corresponde al crecimiento del hongo (mm).

4.6. Actividad antagónica en confrontaciones múltiples

La evaluación del efecto antagónico de *Macrolepiota* sp. CS185 contra los hongos aislados de higos en poscosecha fue realizada en medio sólido. Para lo anterior fueron preparadas placas Petri con medio PDA y fueron sembradas en el centro con una pieza de 0.5 cm de diámetro de cultivo de *Macrolepiota* sp. CS185 con cinco días de cultivo.

Con el fin de permitir el establecimiento del cultivo de *Macrolepiota* sp. CS185, ya que tiene una menor tasa de crecimiento que los hongos de poscosecha, las placas fueron incubadas por 24 h a 28°C y posteriormente fueron sembrados cuatro hongos poscosecha a una distancia de 3 cm, dispuestos en los cuatro puntos cardinales.

Como control se realizó la confrontación entre los aislados poscosecha en ausencia del antagonista para descartar que la inhibición pueda deberse al agotamiento de nutrientes. Las placas fueron nuevamente incubadas a 28°C. El crecimiento del micelio de los aislados poscosecha fue medido cada 24 h desde el borde del cilindro hasta el borde del micelio consolidado, en dirección al antagonista. Todos los ensayos fueron realizados por triplicado. El porcentaje de inhibición (%In) fue estimado mediante la siguiente ecuación:

$$\%In = \frac{C_c - C_a}{C_c} \times 100 \quad (2)$$

Donde C_c corresponde al crecimiento del fitopatógeno en el tratamiento control y C_a corresponde al crecimiento en confrontación con el basidiomiceto.

En base a lo reportado por Hernández-Ochoa *et al.* (2020) acerca de la actividad antifúngica de este basidiomiceto sobre cepas de *Fusarium*, estas últimas fueron utilizadas como control positivo de la actividad antifúngica de *Macrolepiota* sp. CS185.

4.7. Actividad antifúngica de los sobrenadantes

La metodología utilizada para determinar el potencial antifúngico de los sobrenadantes de la cepa seleccionada fue la descrita por Hernández *et al.* (2019). Para lo cual se prepararon 200 mL del medio PDB en matraces de 500 mL. Se esterilizaron durante 15 minutos a 121°C. Fueron inoculados con tres discos de 5 mm de diámetro e incubados a 28°C, en condiciones de agitación (150 rpm en un agitador orbital de la marca New Brunswick Scientific®).

Los sobrenadantes fueron recuperados por filtración utilizando papel Whatman® N°1, posteriormente se esterilizaron mediante membranas de ésteres de celulosa de 0.45 µm Luzeren, utilizando el sistema de ultrafiltración por vacío (Merck Millipore®, U.S.A). Se prepararon placas con medio PDA suplementado con 15, 30 y 50% de los sobrenadantes estériles. Como control negativo fue utilizado el medio PDA en ausencia del sobrenadante (0%). Los medios fueron sembrados con un disco de 5 mm a partir de cada una de las cepas de fitopatógenos en el centro de la placa. Éstas fueron incubadas a 28°C y se midió el radio de crecimiento del micelio diariamente durante 9 días. Todos los tratamientos se realizaron por triplicado. Para calcular el porcentaje de inhibición (*%In*) del crecimiento fue empleada la siguiente ecuación:

$$\%In = \frac{C_c - C_s}{C_c} \times 100 \quad (3)$$

Donde C_c corresponde al crecimiento del control negativo y C_s corresponde al crecimiento en presencia del sobrenadante (15, 30 ó 50%).

A partir de las medidas diarias del crecimiento de las colonias de los aislados poscosecha fueron obtenidas las curvas de crecimiento, permitiendo la determinación de la velocidad de crecimiento del micelio (VCM) con ayuda de la ecuación de la recta. Para el cálculo del porcentaje relativo de inhibición en la velocidad del crecimiento diario (PRI_{VCM}) fue utilizada la siguiente ecuación:

$$PRI_{VCM} = \frac{VCM_c - VCM_a}{C_c} \times 100 \quad (4)$$

Donde VCM_c corresponde a la velocidad de crecimiento del micelio en el tratamiento control y VCM_a corresponde al crecimiento en confrontación con el basidiomiceto.

4.8. Cinética de producción de la actividad antifúngica

La evaluación del efecto del tiempo en la producción de la actividad antagónica requirió de la obtención de sobrenadantes a partir de cultivos con 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 y 40 días de cultivo en medio PDB. La recuperación de éstos se realizó con la metodología antes descrita. Las placas de Petri fueron preparadas con medio PDA, conteniendo el 30% de cada uno de los sobrenadantes. Los medios fueron inoculados en el centro con una pieza de 0.5 cm de cada aislado poscosecha e incubadas a 28°C por 8 días. El control negativo consistió en el cultivo del aislado en medio PDA sin sobrenadante. Fue registrado el crecimiento diario del micelio para la estimación del %In con la Ecuación 3 mostrada en el apartado anterior, mientras que las curvas de crecimiento,

la determinación de la VCM y del PRI_{VCM} fueron realizadas con la metodología anteriormente descrita. Todos los tratamientos contaron con cinco repeticiones.

4.9. Análisis estadístico

Los datos generados por el efecto de las diferentes fuentes de variación sobre las variables de estudio fueron contrastados estadísticamente a través de un análisis de varianza (ANOVA) y una comparación de medias, de acuerdo con la prueba Tukey a un grado de significancia del 95% ($P \leq 0.05$). Los análisis se realizaron en el software estadístico InfoStat®.

5. RESULTADOS

5.1. Aislamiento e identificación de hongos poscosecha

Los frutos colectados mostraron lesiones físicas acompañadas de manchas redondas de color pardo con micelio color grisáceo (Figura 1A). A partir de estas lesiones se obtuvieron cuatro aislados que produjeron colonias con micelio de aspecto algodonoso de color verde oliva con el margen blanco (Figura 1B). Este tipo de lesiones en frutos y morfología observados son características del género *Alternaria* (Elfar *et al.*, 2018; Aloï *et al.*, 2021). Esto fue confirmado con la identificación microscópica de típicos conidios multicelulares en forma de pera, alargados y oscuros (Figura 1C).

Adicionalmente se obtuvieron dos aislados que mostraron colonias con un micelio algodonoso de color blanco-salmón, que posteriormente se tornó gris oscuro con anillos concéntricos (Figura 1D). A nivel microscópico fueron observados conidios hialinos con extremos redondos (Figura 1E). Estas características han sido descritas para las especies del género *Colletotrichum* (Rojo-Báez *et al.*, 2017; Velázquez-Silva *et al.*, 2018). Ambos géneros son considerados entre los principales agentes causantes de pérdidas a nivel poscosecha de frutas y vegetales (Fenta *et al.*, 2019). Los daños que pueden observarse por la acción de estos hongos dependerán de varios factores y procesos como estado de maduración, tiempo de cosecha y las lesiones mecánicas. Además de los factores de virulencia propios de cada organismo

(Alkan y Fortes, 2015). Dentro de estos mecanismos podemos encontrar a las enzimas degradadoras de la pared celular vegetal (EDPCV) que actúan tanto en las fases de quiescencia y necrotrófica agresiva (Alkan y Fortes, 2015).

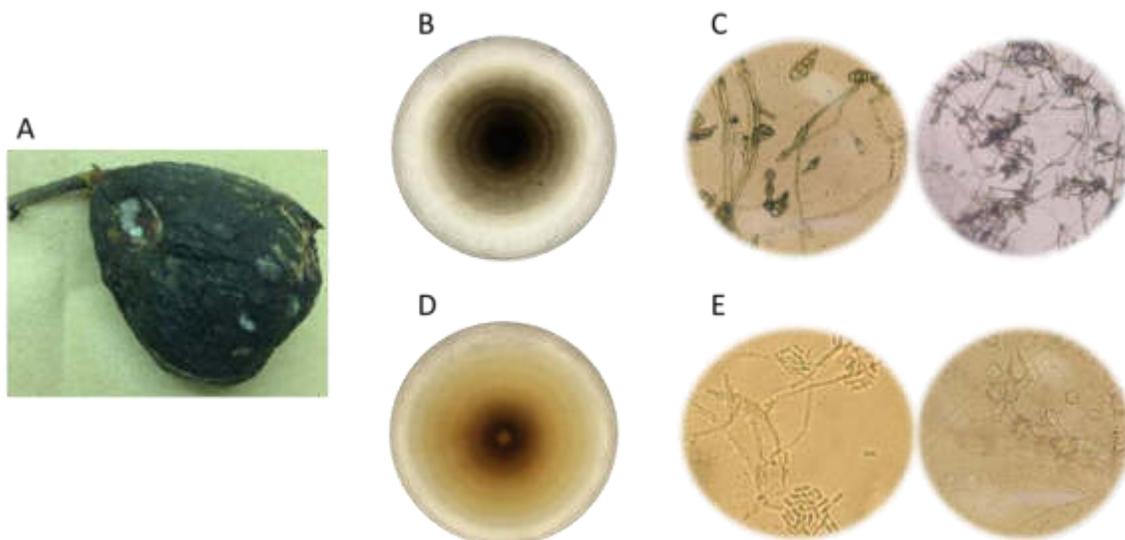


Figura 1. Características macroscópicas y microscópicas de los aislados. A) Lesiones representativas observadas en higo, B) morfología colonial representativa de los aislados de *Alternaria* sp., C) micelio y conidios representativos de *Alternaria* sp., D) morfología colonial representativa de los aislados de *Colletotrichum* sp., E) micelio y conidios representativos de *Colletotrichum* sp.

Con respecto a la capacidad de los hongos aislados para producir EDPCV, en el Cuadro 1 son mostrados los índices de degradación asociados con la síntesis de celulasas, xilanasas, pectinasas, lacasa y ligninasas. Estos fueron comparados con dos aislados de *Fusarium* obtenidos de frutos de tomate en poscosecha. Todos los aislados fueron productores de celulasas y xilanasas, siendo los de mayor actividad *Alternaria* sp. 3 y *Alternaria* sp. 4 ($P \leq 0.05$), respectivamente. Con respecto a la pectinasas, sólo *Fusarium oxysporum* mostró capacidad de degradar la pectina. Ninguno de los hongos produjo resultados positivos en el ensayo con Poly R-478, aunque *Colletotrichum* sp. 2 evidenció producción de lacasa. Es importante mencionar que la barrera protectora de la pared celular vegetal (PCV) está compuesta

principalmente por celulosa, hemicelulosa y pectina, por lo que los aislados productores de un mayor número de actividades asociadas a la degradación de la PCV estarán sugiriendo una mayor patogenicidad (Alkan y Fortes, 2015; Zhang *et al.*, 2021). Anand y Kapoor (2018) confirmaron esta relación entre la virulencia y los patrones de producción de EDPCV en aislados de *Alternaria chartami*, donde aquellas cepas con mayor patogenicidad fueron capaces de producir en medio líquido pectin metil esterasas, poligalacturonasas, 1,4-endoglucanasas y exo-1,4 glucanasas. Para *Alternaria alternata* también se ha reportado la presencia de xilanasas (Wipusaree *et al.*, 2011).

En el caso de los aislados de *Alternaria* sp. estudiados en esta investigación, no fueron productores de pectinasa, pero sí de xilanasas. Con respecto al perfil de los aislados de *Colletotrichum*, fueron similares a los descritos para otras especies como *Colletotrichum truncatum* (Levin *et al.*, 2007; Ramos *et al.*, 2010; Naveen *et al.*, 2021). *F. oxysporum* presentó el mismo patrón de EDPCV (celulasas, xilanasas y pectinasas) reportado para otras cepas (Al-Hindi *et al.*, 2011).

Con respecto a la presencia de lacasa, se ha reportado su relevancia en la síntesis de melanina y como agente de patogenicidad severa (Wei *et al.*, 2017) de hongos como *C. truncatum* (Levin *et al.*, 2007), *A. alternata* (Irfan *et al.*, 2018), *Colletotrichum gloeosporioides* (Wei *et al.*, 2017) y *F. oxysporum* (Kwiatos *et al.*, 2020). Sin embargo, en este trabajo sólo se detectó producción de lacasa por *Colletotrichum* sp. 2. Las diferencias entre las actividades enzimáticas de los aislados obtenidos de los higos y lo reportado pueden ser explicadas por las diferencias en las condiciones de cultivo, por lo que el efecto de la composición del medio y las condiciones de crecimiento sobre

la producción de enzimas, así como su relación con la patogenicidad de estas cepas, será estudiado en futuras investigaciones.

Cuadro 1. Índices de degradación (ID) de las EDPCV producidas por los hongos poscosecha.

Aislado*	Celulasas	Xilanasas	Pectinasas ID (%)	Lacasa	EML
<i>Alternaria</i> sp. 1	1.07 ^{bc}	0.96 ^a	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00
<i>Alternaria</i> sp. 2	1.16 ^{ab}	0.75 ^c	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00
<i>Alternaria</i> sp. 3	1.26 ^a	0.78 ^{bc}	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00
<i>Alternaria</i> sp. 4	1.12 ^{abc}	0.98 ^a	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00
<i>Colletotrichum</i> sp. 1	0.98 ^{3 cd}	0.71 ^c	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00
<i>Colletotrichum</i> sp. 2	1.17 ^{ab}	0.92 ^{ab}	0.00 ^b	2.32 ^a	0.00
<i>Fusarium oxysporum</i>	0.91 ^d	0.81 ^{bc}	1.10 ^a	0.00 ^b	0.00
<i>Fusarium solani</i> .	1.22 ^a	0.77 ^c	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00
P-value	0.001	0.001	0.001	0.001	sd

ID= índice de degradación enzimática; *= hongos poscosecha aislados de frutos de higos. EML= Enzimas modificadoras de lignina. ^{a-c} Diferentes literales en la misma columna denotan diferencias estadísticamente significativas (Tukey, $P \leq 0.05$)

5.2. Efecto antagónico de los cultivos de *Macrolepiota* sp. CS185

Los hongos del género *Macrolepiota* pertenecen a la familia Agaricaceae (Basidiomycota) y se caracterizan por desarrollar basidiomas con un cuerpo carnoso de tamaño mediano a grande, laminillas libres alejadas del estípite, píleo cubierto por escamas tricodérmicas, esporas de color blanco a crema, un anillo prominente, simple a complejo, que eventualmente es móvil, estípite a menudo cubierto por bandas de colores en especímenes adultos y volva presente en algunas especies (Pérez *et al.*, 2018).

Las especies comestibles son reconocidas por su valor nutricional, actividad antioxidante y antimicrobiana (Ćirić *et al.*, 2019; Erbiai *et al.*, 2021). Con respecto a su potencial antifúngico, *Macrolepiota* sp. CS185 ha mostrado actividad sobre hongos

fitopatógenos como *Alternaria solani*, *Fusarium* spp., *Colletotrichum* spp. y *B. cinerea* (Hernández-Ochoa *et al.* 2020), por lo cual fue seleccionada para evaluar su potencial antagónico contra hongos poscosecha de frutos de higos. El análisis de varianza para actividad antagónica del cultivo de *Macrolepiota* sp. CS185 en confrontaciones múltiples es mostrado en el Cuadro 2, donde se observaron diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$) entre los hongos fitopatógenos poscosecha y el tiempo. Sin embargo, no existió correlación entre ellos.

Cuadro 2. Cuadrados medios del análisis de varianza para las confrontaciones múltiples.

F.V.	gl	CM
Hongos (H)	7	2874.94**
Repetición (Rep)	2	53.78 ns
H x Rep	14	140.17
Tiempo (T)	3	1026.45**
H x T	24	73.80 ns
Rep x T	9	10.24 ns
Error	42	45.99
CV		13.46

F.V.= fuente de variación; gl= grados de libertad; CM= cuadrados medios; ** $P \leq 0.01$. ns, $P > 0.05$.

La comparación de medias para %In del crecimiento radial de los hongos fitopatógenos es mostrada en el Cuadro 3. *Colletotrichum* sp. 2 fue el aislado con mayores porcentajes de inhibición ($P \leq 0.05$). En general, los aislados fueron incrementado los %In a través del tiempo ($P \leq 0.05$) (con excepción de *Alternaria* sp. 1 y 2), siendo el día cuatro el de mayor actividad antagónica. Si bien los resultados entre los diferentes aislados mostraron diferencias ($P \leq 0.05$), se observó que los aislados tendieron a ser más susceptibles (60-70 %In), seguidas por el grupo de los aislados de *Alternaria* (40-60 %In) y los *Fusarium* (< 50 %In).

Los resultados de %In observados para los aislados de *Alternaria* fueron similares a lo reportado para *Ganoderma lucidum* (67.28%) y *Lentinula edodes* (57.46%), pero mayores a lo descrito para *Volvariella volvaceae* (40.53%) (Ragupathi *et al.*, 2020). Los %In estimados para *Colletotrichum* sp. fueron superiores a los reportados por Priya *et al.* (2019) para otros géneros de basidiomicetos como *Auricularia polytricha* (53.70%), *Coprinus comatus* (40%), *G. lucidum* (54.81%), *V. volvaceae* (42.92%), *L. edodes* (45.55%), *Pycnoporus sanguineus* (57.41 %), *Schizophyllum commune* (47.78%) y *Trametes versicolor* (43.63%).

Con respecto a los resultados observados con los aislados de *Fusarium* fueron menores a la actividad inhibitoria para basidiomicetos como *G. lucidum* (60.28%) pero similares a los reportados para *L. edodes* (35.28%) (Thangaraj *et al.*, 2021). Estas variaciones entre lo reportado y lo obtenido con los aislados pueden ser explicadas por las variaciones entre las especies de hongos debido a diferencias en su origen evolutivo (Ikeda *et al.*, 2019).

Cuadro 3. Comparación de medias del porcentaje inhibición (%In) del crecimiento radial de los aislados obtenidos a partir de higos.

Aislado	Día				P-value
	1	2	3	4	
<i>Alternaria</i> sp. 1	53.0 ^{aA}	58.6 ^{aA}	60.3 ^{abA}	56.1 ^{bcdA}	0.88
<i>Alternaria</i> sp. 2	43.7 ^{aA}	46.2 ^{abA}	49.8 ^{bcA}	52.4 ^{cdA}	0.13
<i>Alternaria</i> sp. 3	38.8 ^{abC}	48.0 ^{abBC}	62.9 ^{abAB}	66.9 ^{abcA}	0.003
<i>Alternaria</i> sp. 4	51.9 ^{aB}	53.6 ^{abAB}	62.9 ^{abAB}	66.0 ^{abcA}	0.02
<i>Colletotrichum</i> sp. 1	55.2 ^{aB}	57.8 ^{aB}	63.5 ^{abAB}	68.8 ^{abA}	0.005
<i>Colletotrichum</i> sp. 2	63.1 ^{aC}	63.7 ^{aBC}	72.0 ^{aAB}	73.3 ^{aA}	0.01
<i>Fusarium oxysporum</i>	15.3 ^{bcC}	27.0 ^{bcBC}	46.6 ^{bcAB}	52.9 ^{cdA}	0.005
<i>Fusarium solani</i>	0.0 ^{cB}	8.1 ^{cB}	30.7 ^{cA}	43.2 ^{dA}	0.0003
P-value	0.001	0.002	0.001	0.001	

%In= porcentaje de inhibición; ^{a-d} Diferentes literales en la misma columna denotan diferencias estadísticamente significativas (Tukey, $P \leq 0.05$). ^{A-D} Diferentes literales en la misma fila denotan diferencias estadísticamente significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

En la Figura 1 es mostrado el efecto antagónico del cultivo de *Macrolepiota* sp. CS185 sobre los hongos aislados de los frutos de higos. Los controles negativos (Figura 1A y 1B) de la confrontación múltiple confirman la actividad antagónica del basidiomiceto (Figura 1C y 1D) y descartan que la inhibición registrada estuviera asociada a la disminución de nutrientes en el medio.

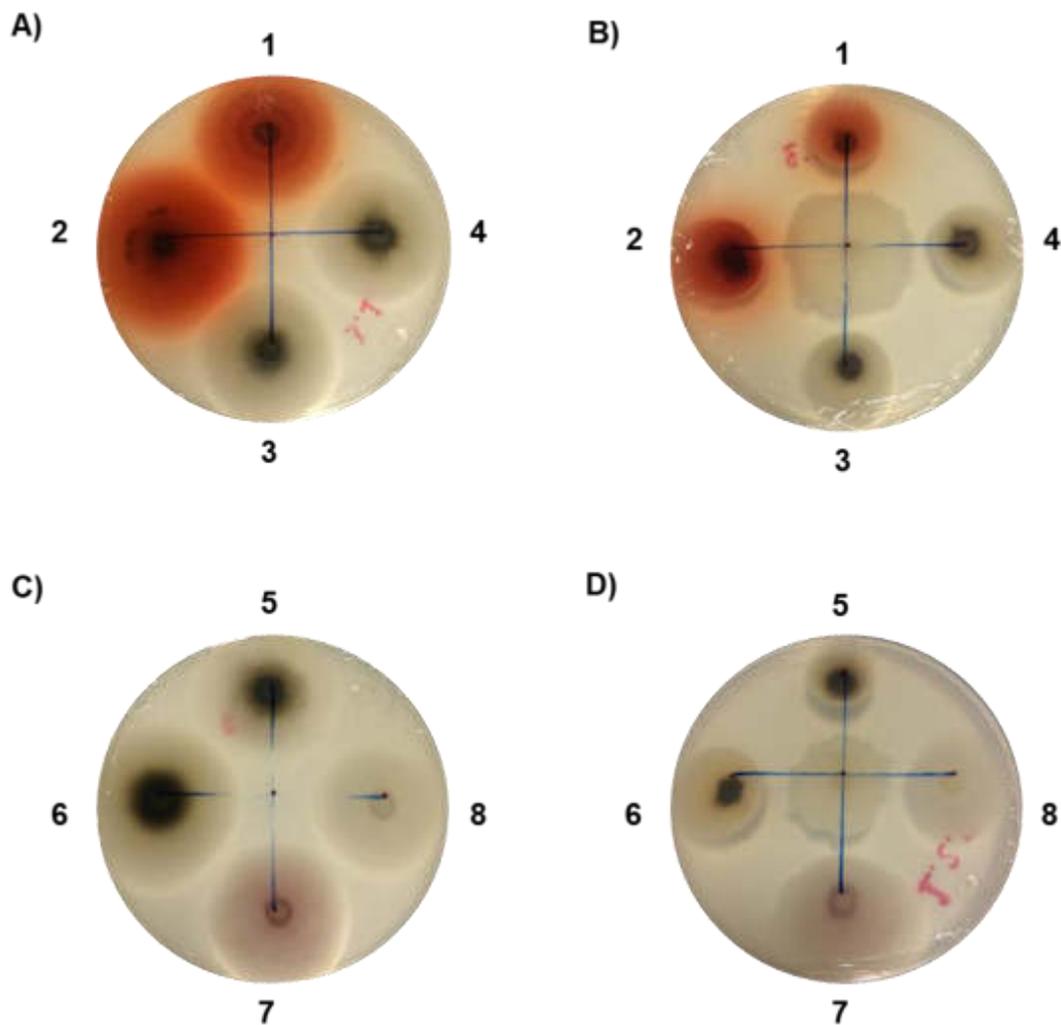


Figura 2. Confrontación múltiple para medición de la actividad antagónica de *Macrolepiota* sp. sobre aislados de *Colletotrichum* sp., *Alternaria* sp. y *Fusarium oxysporum*. . A y B) controles negativos (ausencia del antagonista), C y D) confrontaciones con de *Macrolepiota* sp. CS185: 1. *Colletotrichum* sp.; 1 y 2. *Colletotrichum* sp.; 2 y 3. *Alternaria* sp. 1 y 4. *Alternaria* sp.; 2 y 5. *Alternaria* sp.; 3 y 6. *Alternaria* sp.; 4 y 7. *Fusarium oxysporum*; 8. *Fusarium solani*.

5.3. Efecto de la concentración del sobrenadante en el medio sobre la actividad antagónica

En la presente fase fue evaluada la actividad antagónica de los sobrenadantes de los cultivos de *Macrolepiota* sp. CS185 a diferentes concentraciones sobre los cuatro aislados de *Alternaria* sp. y los dos de *Colletotrichum* sp. El análisis de varianza

(Cuadro 4) mostró diferencias estadísticamente significativas ($P \leq 0.01$) entre las concentraciones (Tt), el tiempo y los aislados. Sin embargo, se observó una triple interacción entre estos, lo que significa que los %In no están asociados únicamente a un factor, sino que dependen de los efectos combinados de todos los factores.

Cuadro 4. Cuadrados medios del análisis de varianza para el porcentaje de inhibición (%In) a diferentes concentraciones de sobrenadante.

F.V.	gl	CM
Repetición (Rep)	2	35.23 ns
Tratamiento (Tt)	3	21276.71**
Rep x Tt	6	125.02
Tiempo (T)	8	318.93**
T*Tt	24	40.64*
Tt > T x Rep	64	22.60
Hongo (H)	5	11457.40**
H > Tt	18	674.39**
H > T	48	75.26**
H > Tt > T	184	34.80*
Error	360	24.21
CV		19.07

F.V.= fuente de variación; gl= grados de libertad; CM= cuadrados medios; CV= coeficiente de variación. **, $P \leq 0.01$. *, $P \leq 0.05$. ns, $P > 0.05$.

En la Figura 3 es mostrado el efecto de las concentraciones evaluadas para los seis hongos aislados. En general, los mayores %In fueron obtenidos en los tratamientos al 50% del sobrenadante. Sin embargo, para todos los tratamientos fue observada una tendencia donde la mayor actividad inhibitoria se presentó al primer día y posteriormente fue disminuyendo con el tiempo. Cabe mencionar que, el aislado de *Colletotrichum* sp. 2 fue el más susceptible a la presencia del sobrenadante de *Macrolepiota* sp. CS185 al 30 y 50%, con porcentajes de inhibición mayores al 50% en todos los periodos de tiempo evaluados.

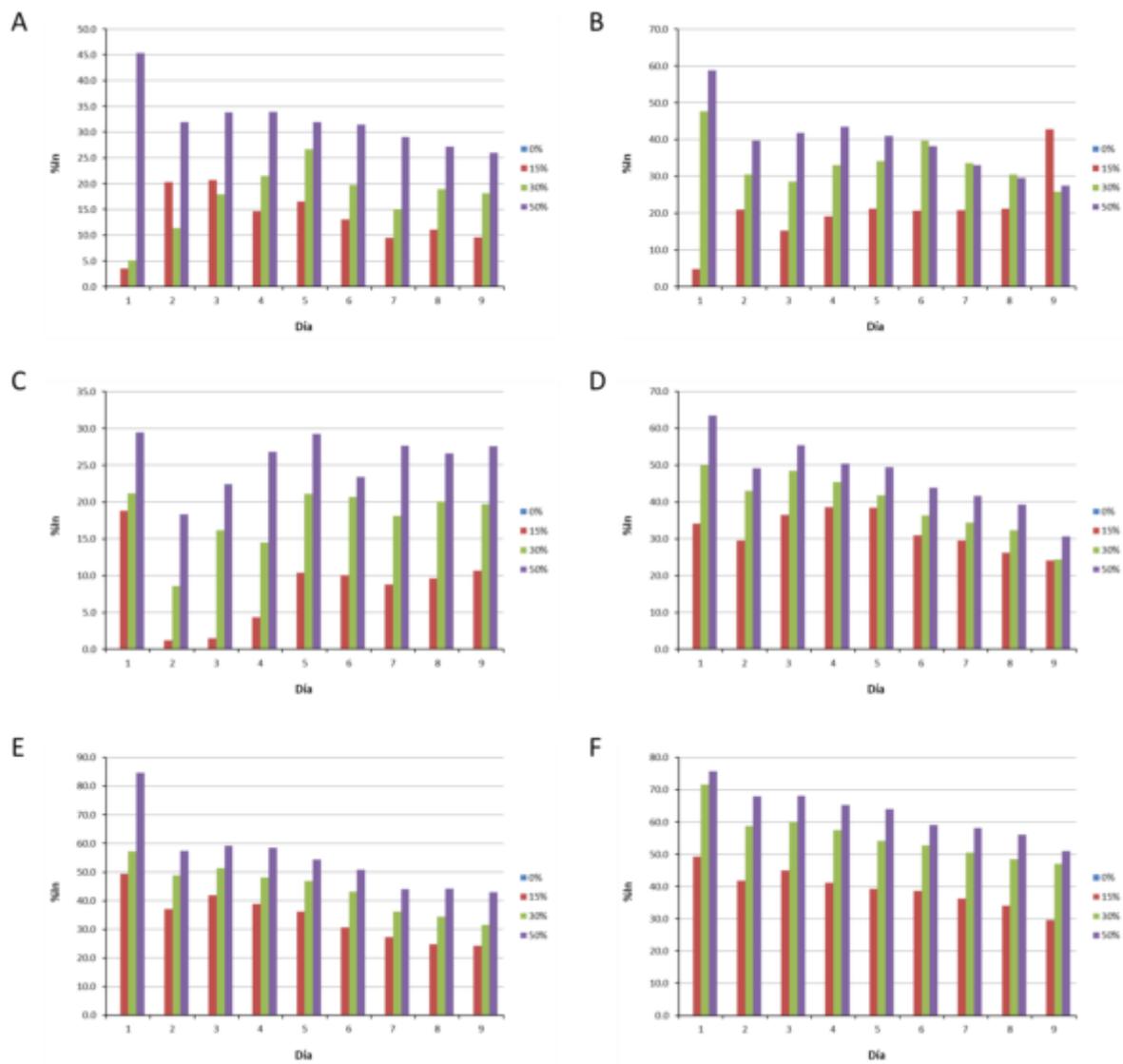


Figura 3. Porcentaje de inhibición (%In) a diferentes concentraciones de sobrenadantes de *Macrolepota* sp. CS185. Donde A) corresponde a *Alternaria* sp. 1, B) *Alternaria* sp. 2, C) *Alternaria* sp. 3, D) *Alternaria* sp. 4, E) *Colletotrichum* sp. 1, F) *Colletotrichum* sp. 2.

Con respecto a los %In observados al día cuatro de las confrontaciones múltiples, fue observada una pérdida del 40.36, 21.09 y 7.59% para los tratamientos 15, 30 y 50%, respectivamente. Por otra parte, los aislados de *Alternaria* en general fueron inhibidos en un 30% con los tratamientos al 30 y 50%. En relación con los valores obtenidos en confrontación de los cultivos al día cuatro, se observó una pérdida de la actividad

antagónica del 68.20, 52.60 y 35.99% para los tratamientos 15, 30 y 50%, respectivamente. Un comportamiento similar fue observado para otros basidiomicetos que presentaron mayor actividad antifúngica sobre *A. solani* en confrontaciones duales y en medios suplementados con los extractos orgánicos de los hongos (Ragupathi *et al.*, 2021). Siendo *V. volvaceae* el basidiomiceto que presentó mayor pérdida con 54.13%, seguido por *A. polytricha* (49.82%) y *L. edodes* (33.98%), mientras que *G. lucidum* disminuyó en un 21.11%, conservando la mayor parte de su actividad.

En la Figura 4 se grafica la cinética de crecimiento de los hongos aislados en frutos de higo y las correspondientes líneas de regresión para la estimación de las velocidades de crecimiento y los porcentajes relativos de la inhibición del crecimiento. En general, los tratamientos control (0%) tuvieron un comportamiento lineal de crecimiento los primeros siete días y tendieron a mantenerse a los días 8 y 9, mientras que el resto de los tratamientos mostraron un comportamiento lineal, pero con pendientes de menor inclinación.

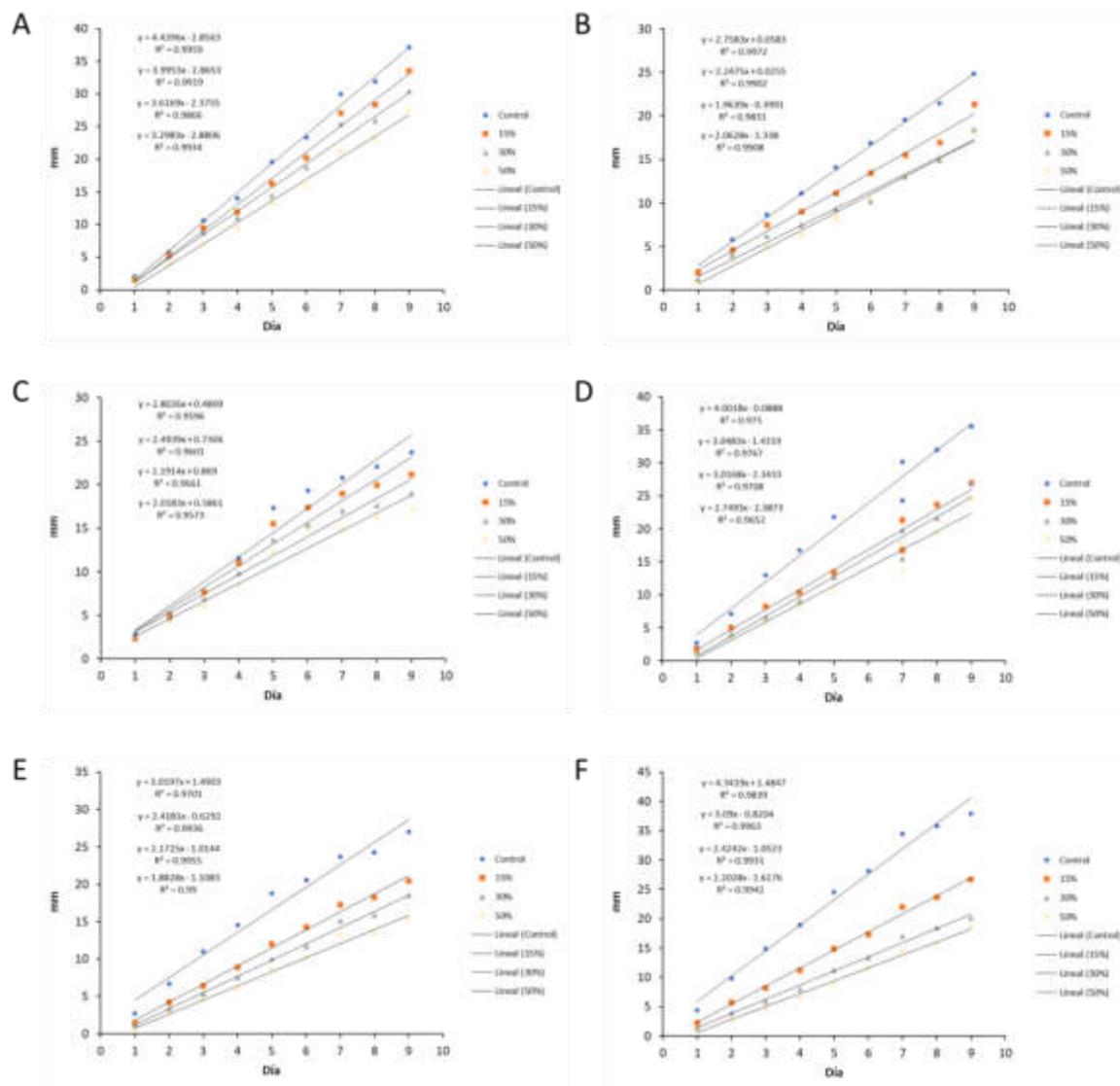


Figura 4. Curvas de crecimiento con diferentes concentraciones de sobrenadante de *Macrolepiota* sp. CS185. A) *Alternaria* sp. 1, B) *Alternaria* sp. 2, C) *Alternaria* sp. 3, D) *Alternaria* sp. 4, E) *Colletotrichum* sp. 1, F) *Colletotrichum* sp. 2.

Con respecto a la velocidad de crecimiento por día, los aislados *Alternaria* sp. 1 y *Colletotrichum* sp. 2 registraron los máximos valores ($P \leq 0.05$) con 4.44 y 4.34 $\text{mm} \cdot \text{d}^{-1}$ en el tratamiento 0% del sobrenadante (Cuadro 5). Al considerar las velocidades de crecimiento de los tratamientos (Figura 3), fue estimado un porcentaje relativo de inhibición en la tasa de crecimiento (Cuadro 5). *Alternaria* sp. 1 mostró los menores porcentajes relativos de inhibición en la velocidad del crecimiento ($P \leq 0.05$) de 10.01,

18.47 y 25.71% para los tratamientos 15 y 30%, respectivamente. Mientras que *Alternaria* sp. 2 fue el menos afectado por el tratamiento 50%, ya que se observó una inhibición relativa del 19.99%.

Cuadro 5. Velocidad de crecimiento y porcentajes relativos de inhibición.

Aislado*	0%		15%		30%		50%	
	VCM (mm/d)	PRI _{VCM} (%)						
<i>Alternaria</i> sp. 1	4.44 ^{aA}	0.00 ^{aD}	4.00 ^{aB}	10.01 ^{eC}	3.62 ^{aC}	18.47 ^{eB}	3.30 ^{aD}	25.71 ^{eA}
<i>Alternaria</i> sp. 2	2.58 ^{cA}	0.00 ^{aD}	2.25 ^{bA}	12.83 ^{dC}	1.96 ^{bA}	23.83 ^{cA}	2.06 ^{bA}	19.99 ^{fB}
<i>Alternaria</i> sp. 3	2.80 ^{bcA}	0.00 ^{aD}	2.49 ^{bB}	11.01 ^{eC}	2.19 ^{bC}	21.81 ^{dB}	2.02 ^{bD}	27.98 ^{dA}
<i>Alternaria</i> sp. 4	4.00 ^{abA}	0.00 ^{aD}	3.05 ^{abB}	23.83 ^{bC}	3.02 ^{abC}	24.61 ^{cB}	2.75 ^{abD}	31.30 ^{cA}
<i>Colletotrichum</i> sp. 1	3.02 ^{bcA}	0.00 ^{aD}	2.42 ^{bB}	19.92 ^{cC}	2.17 ^{bC}	28.06 ^{bB}	1.88 ^{bD}	37.65 ^{bA}
<i>Colletotrichum</i> sp. 2	4.34 ^{aA}	0.00 ^{aD}	3.09 ^{abB}	28.83 ^{aC}	2.42 ^{abC}	44.17 ^{aB}	2.20 ^{abD}	49.27 ^{aA}

*= hongos poscosecha aislados de frutos de higos, VCM=velocidad de crecimiento del micelio, PRI_{VCM}=porcentaje relativo de inhibición en la velocidad del crecimiento diario, mm/d =milímetros por día. ^{a-f} Diferentes literales en la misma columna denotan diferencias estadísticamente significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

Por otra parte, *Colletotrichum* sp. 2 tuvo los mayores porcentajes de relativos de inhibición ($P \leq 0.05$) en la tasa de crecimiento con 28.83 (15%), 44.17 (30%) y 49.27 (50%). Esto resultados sugieren una mayor susceptibilidad de los aislados de *Colletotrichum*. En la Figura 5 se muestra el efecto sobre el crecimiento de las diferentes concentraciones de sobrenadantes. Estas diferencias entre la actividad antagonica de los sobrenadantes de *Macrolepiota* sp. CS185 podría ser explicada por la producción de metabolitos con diferentes bioactividades (como antagonismo o antibiosis) sobre distintos géneros de hongos fitopatógenos, como ha sido descrito para *Irpex lacteus* (Pineda-Suazo *et al.*, 2021). Cabe mencionar que los basidiomicetos son reconocidos por producir metabolitos secundarios bioactivos principalmente dirigidos a la medicina tradicional, pero poco aprovechados en el sector agrícola, a pesar de la gran variedad química de estos metabolitos antifúngicos bioactivos que

pueden ser de alto (péptidos) o bajo peso molecular (terpenoides, esteroides, ácidos orgánicos, etc.) y de potencial aplicación (Sivanandhan *et al.*, 2017).

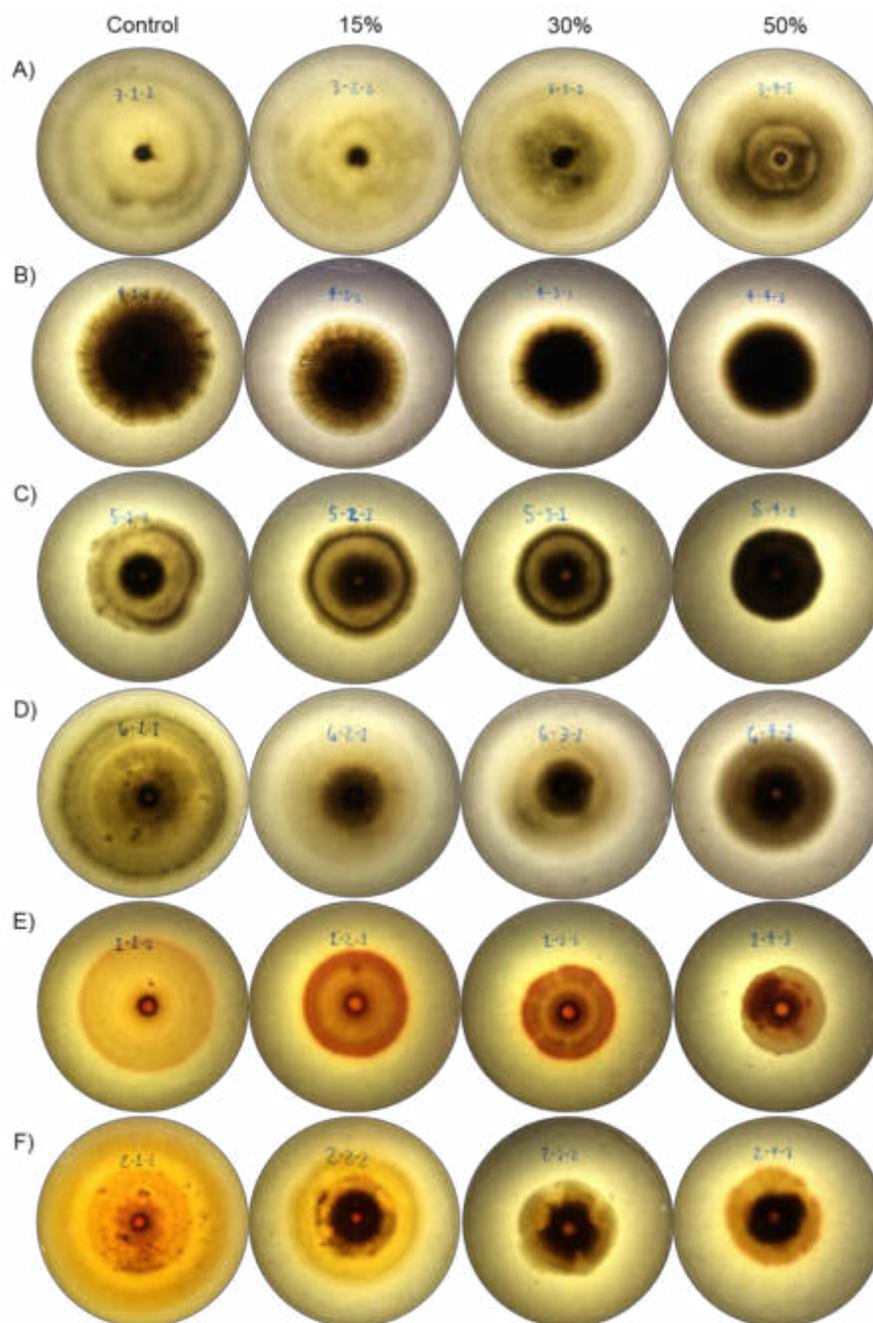


Figura 5. Efecto antagonístico de las diferentes concentraciones del sobrenadante de *Macrolepiota* sp. CS185, al día siete de cultivo en el medio PDA. A) *Alternaria* sp. 1, B) *Alternaria* sp. 2, C) *Alternaria* sp. 3, D) *Alternaria* sp. 4, E) *Colletotrichum* sp. 1 y F) *Colletotrichum* sp. 2.

5.4. Cinética de la producción de la actividad antagónica de los sobrenadante de *Macrolepiota* sp. CS185

Al evaluar el efecto antagónico de los sobrenadantes de *Macrolepiota* sp. CS185 en la etapa previa, se utilizaron sobrenadantes obtenidos a partir de cultivos con 18 días de incubación. Para descartar que la disminución de la actividad antagónica observada en los sobrenadantes con respecto a lo obtenido en las confrontaciones múltiples estuviera asociada a la edad del cultivo del antagonista, fue realizada una curva de inhibición con sobrenadantes obtenidos en un rango de 0 a 40 días. A partir de los cuales fueron preparadas placas al 30% con cada uno de los sobrenadantes.

En esta fase fueron seleccionadas *Alternaria* sp. 1, *Alternaria* sp. 2, *Colletotrichum* sp. 1 y 2 en base a los resultados obtenidos en el ensayo previo. El análisis de varianza (Cuadro 6) para los %In de los sobrenadantes provenientes de cultivos con diferentes períodos de incubación, tuvo diferencias estadísticamente significativas ($P \leq 0.01$) para la edad del cultivo, el tiempo y los hongos poscosecha aislados. Sin embargo, al igual que el ensayo anterior fue observada una triple interacción entre estos factores.

Cuadro 6. Cuadrados medios del análisis de varianza para el porcentaje de inhibición de los sobrenadante de diferentes edades.

F. V.	gl	CM
Tratamiento (Tt)	7	8353.04**
Tt > Repetición (Rep)	32	36.88
Tiempo (T)	7	2303.63**
Tt x T	49	156.79**
Tt > Rep x T	224	6.55
Hongo (H)	3	1182.75**
H > T	28	263.67**
H > T	28	69.15**
H > Tt > T	217	56.22**
Error	768	9.51
CV		11.84

F.V.= fuente de variación; gl= grados de libertad; CM= cuadrados medios; Tt= tratamiento (edad del sobrenadante); Rep= repetición; Tpo= tiempo; Hon= hongos poscosecha aislados de frutos de higos; CV= coeficiente de variación. **, $P \leq 0.01$.

Con respecto a la cinética de la producción de la actividad antagónica fue realizada con los valores de los porcentajes de inhibición de los sobrenadantes obtenidos durante los ochos primeros días de cultivo. Si bien se esperaba encontrar un patrón común entre los aislados poscosecha de un mismo género (un sobrenadante *Macrolepiota* sp. CS185 con una edad específica donde se presenta la máxima actividad), en cambio todos los aislados presentaron distintos patrones.

En el caso de *Alternaria* sp. 1 (Figura 6 A) los mayores valores de actividad inhibitoria fueron observados del día tres al seis (>60%). Sin embargo, no fue asociado a una edad específica, ya que al día tres de cultivo y con el sobrenadante obtenido al día 15 (SN15), se observó un %In de 64.94% ($P \leq 0.01$). Mientras que al día cuatro y cinco de cultivo, la mayor actividad fue reportada en el sobrenadante del día 25 (SN25) con 63.5 y 62.4%, respectivamente. Al día seis, los sobrenadantes de los días 30 y 40 tuvieron una inhibición del 63.62 y 61.23%, respectivamente. Esto podría explicar los bajos %In (<25%) observados en la fase anterior con sobrenadantes de 18 días de

edad y con la misma concentración (30%). *Alternaria* sp. 2 presentó la máxima actividad inhibitoria entre los días 4 y 7, distinguiéndose de *Alternaria* sp. 1. Además de menores valores de %In (<60%). Otra diferencia observada fue la actividad del sobrenadante del día 20 (SN20) con un %In del 53.74% y 54.28 al día 4 y 7 de cultivo, respectivamente (Figura 6B). Aunque ambos aislados de *Alternaria* sp. comparten al día seis la mayor actividad antagónica del sobrenadante SN25.

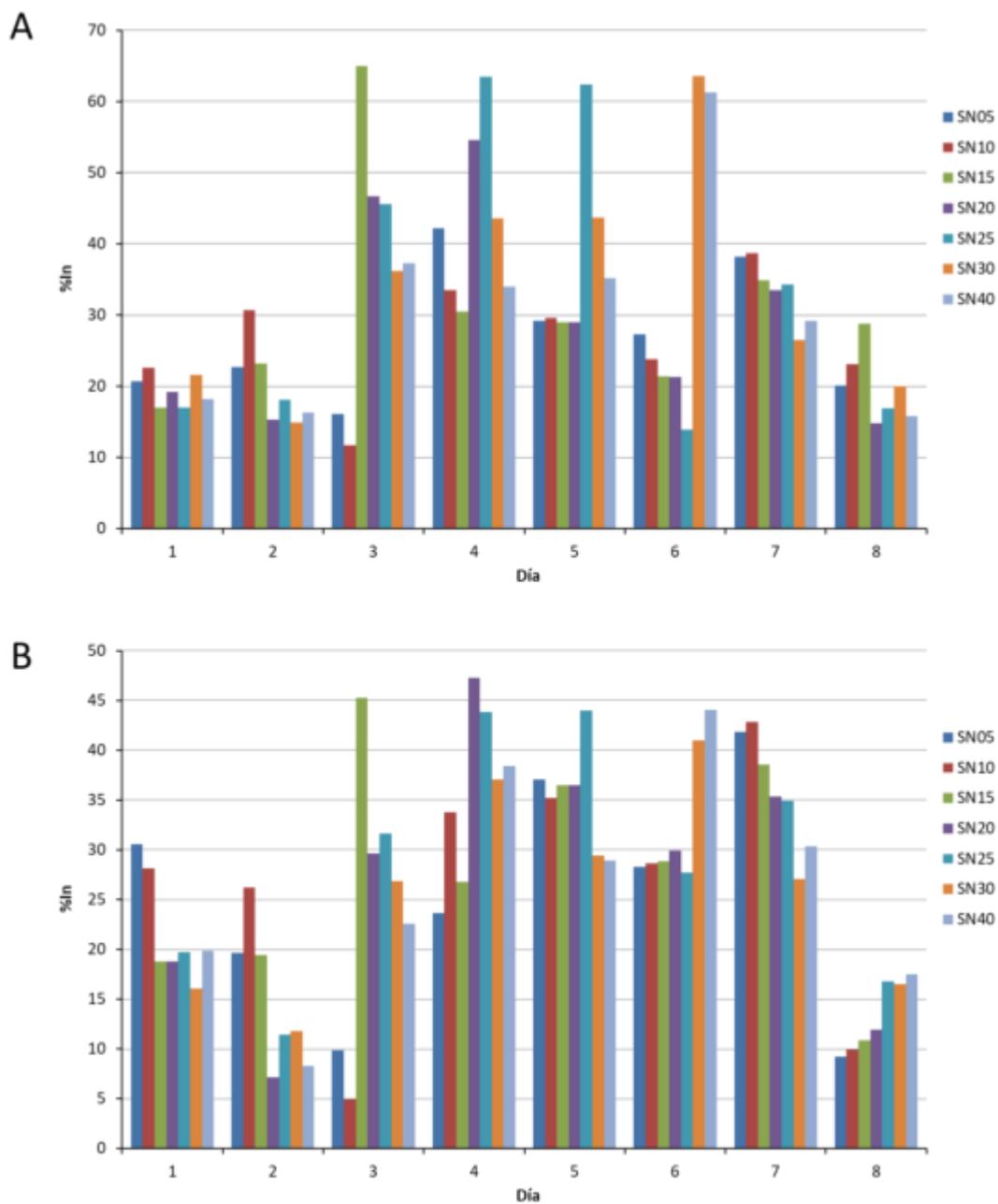


Figura 6. Efecto de la edad de sobrenadantes sobre la actividad antagónica contra los aislados de *Alternaria*. Donde A corresponden a los valores observados para *Alternaria* sp. 1 y B) *Alternaria* sp. 2.

El efecto de la edad del cultivo sobre la actividad antagónica para los aislados fue diferente (Figura 7). No obstante, fue observado un comportamiento tipo campana a partir del día 2, con una máxima actividad antagónica al día 4, que decrece al día 6 y posteriormente muestra un ligero incremento al día 7 con los sobrenadantes SN25. De igual forma el sobrenadante SN30 mostró similar comportamiento de la actividad antagónica. Sin embargo, al día 6 se presentó el pico de máxima actividad.

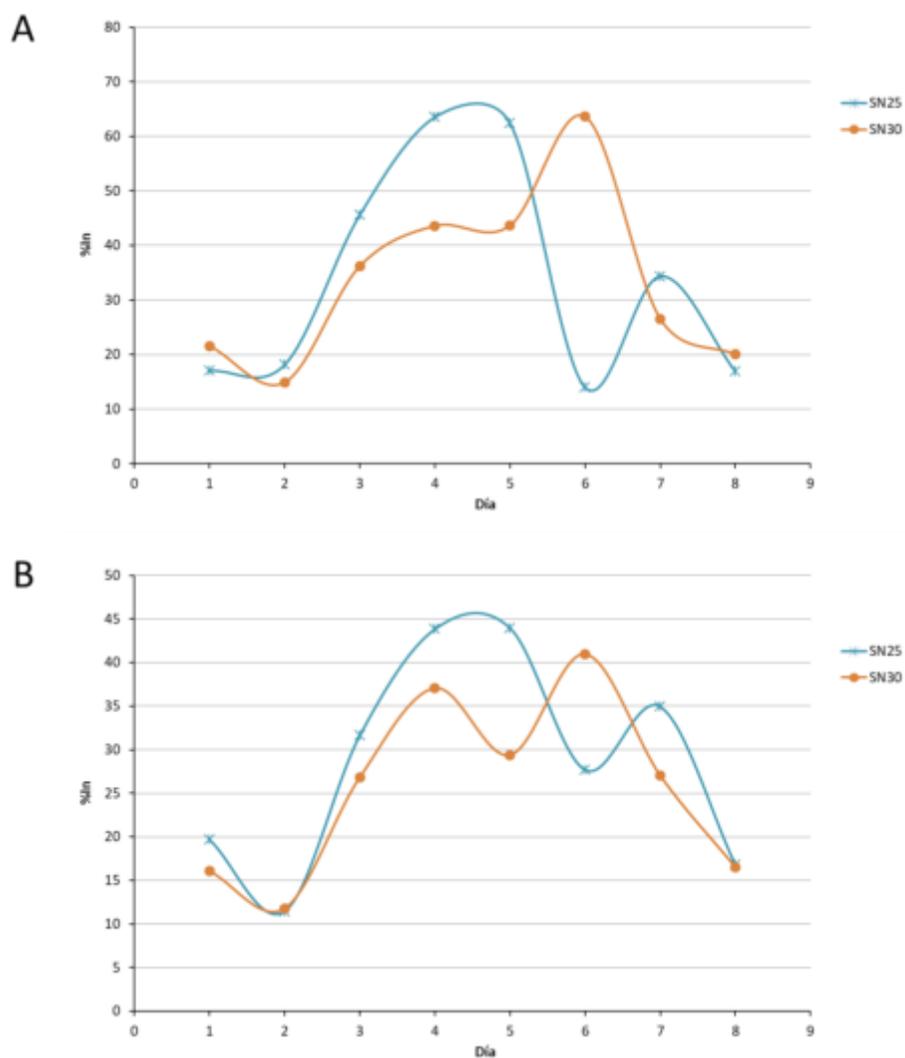


Figura 7. Comportamiento de la actividad antagónica de los sobrenadantes SN25 y SN30. Donde A) corresponde a *Alternaria* sp. 1 y B) *Alternaria* sp. 2.

Para los aislados de *Colletotrichum* también fueron observadas diferencias en el efecto de la actividad antagónica según la edad del sobrenadante de *Macrolepiota* sp. CS185 (Cuadro 6). La mayor inhibición de estos aislados fue entre los días 4 y 7 (Figura 8), pero similar a lo observado en los aislados de *Alternaria*. Esta actividad no presentó perfil típico de inhibición ni un sobrenadante con la mayor actividad.

La mayor actividad antagónica para el día 4 de cultivo fue observada en el medio suplementado con el sobrenadante SN20 para ambos aislados de *Colletotrichum* (>50%). Al día 5, el sobrenadante SN25 tuvo la mayor actividad antagónica con un 50%, mientras que al día 6 fue estimada una inhibición del crecimiento de aproximadamente 60% con el sobrenadante SN30.

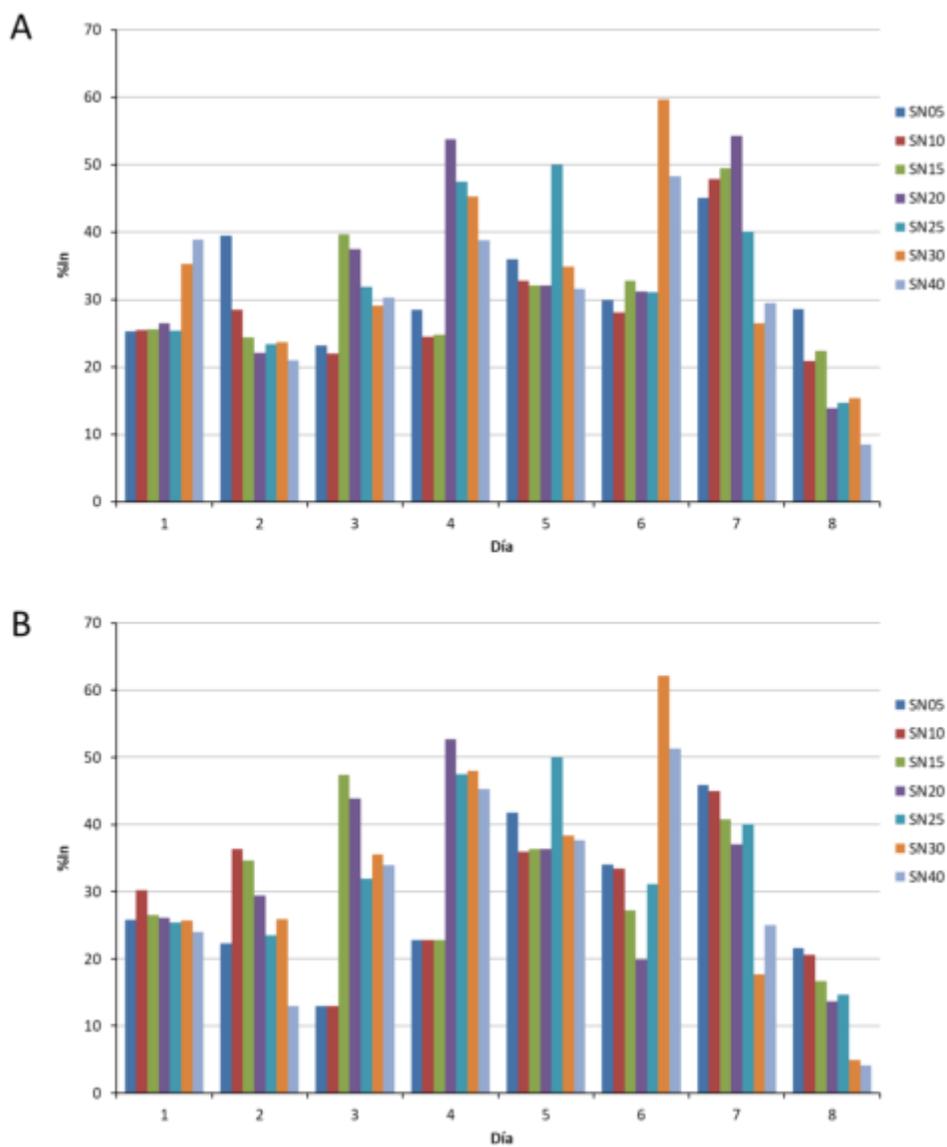


Figura 8. Efecto de la edad de sobrenadantes sobre la actividad antagónica contra los aislados de *Colletotrichum* Donde A) corresponden a los valores observados para *Colletotrichum* sp. 1 y B) *Colletotrichum* sp. 2.

Los sobrenadantes SN25 y SN30 tuvieron un comportamiento igual sobre los aislados de *Colletotrichum* (Figura 9). No obstante, estos mostraron el mismo patrón de actividad antagónica que fue observado en *Alternaria* sp. 1 y 2, donde el sobrenadante SN25 tuvo el mayor efecto inhibitorio al día 5 de cultivo y el SN30 al día 6.

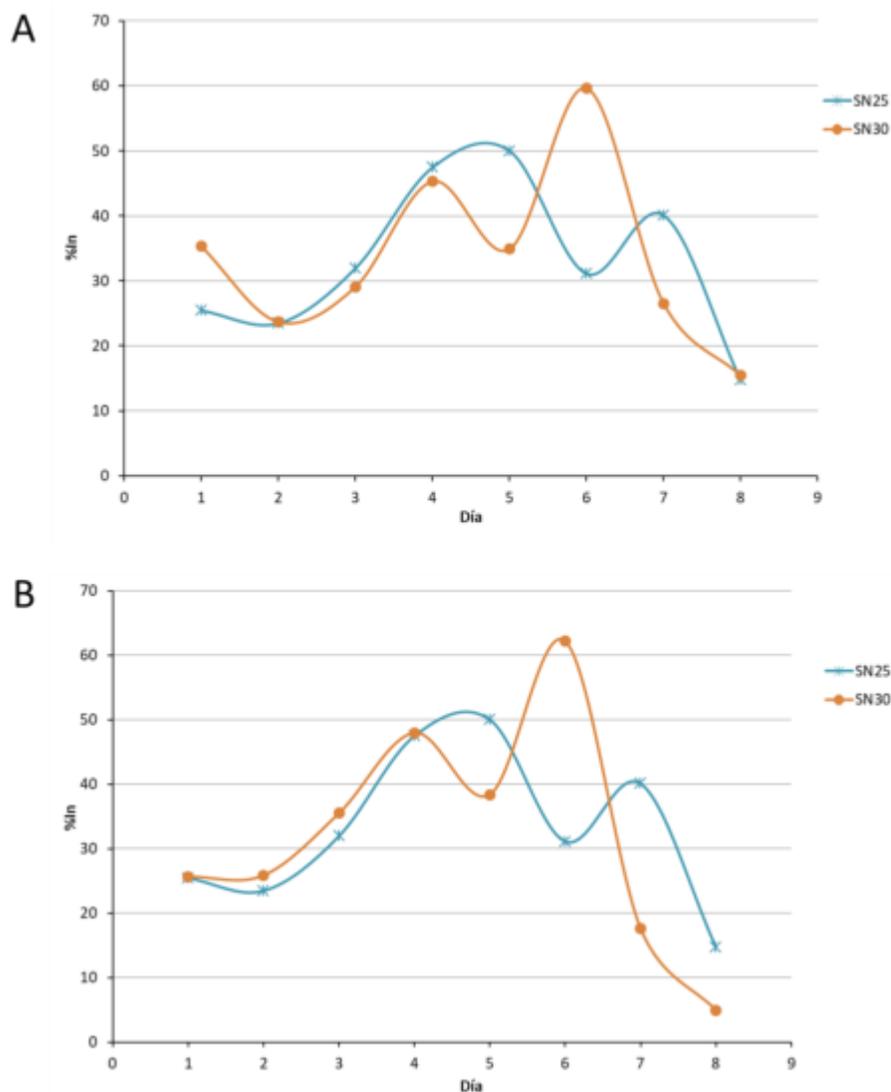


Figura 9. Comportamiento de la actividad antagónica de los sobrenadantes SN25 y SN30. Donde A) corresponde a *Colletotrichum* sp. 1 y B) *Colletotrichum* sp. 2.

Con respecto a los %In observados para los aislados de *Alternaria* en los medios suplementados con el 50% de los sobrenadantes *Macrolepiota* sp. CS185, éstos fueron menores a lo reportado en condiciones similares de ensayo para *A. solani* cultivada en un medio suplementado al 50% con el sobrenadante de *S. commune*. Mientras que, los aislados de *Colletotrichum* expuestos al sobrenadante de *Macrolepiota* sp. CS185 tuvieron una inhibición del crecimiento similar a los resultados

de *Colletotrichum gloeosporioides* y *Colletotrichum dematium* bajo la acción del sobrenadante de *S. commune* (Dutta *et al.*, 2019). Sin embargo, el potencial antagónico de los *Macrolepiota* sp. CS185 fue mayor a lo reportado para otros sobrenadantes de basidiomicetos que inhibieron menos del 40% a *Alternaria brassicicola* y menos del 7% de *Colletotrichum higginsianum* (Chen y Huang, 2010). Estas diferencias entre géneros y cepas también han sido descritas para extractos orgánicos de basidiomicetos (Spremo *et al.*, 2017). Las cuales podrían ser explicadas por la expresión de genes de adaptación y de defensa de los fitopatógenos, que le permiten tolerar las defensas del huésped, modificar el entorno del huésped o alterar su apariencia (Ikeda *et al.*, 2019).

Cabe destacar, que los bajos %In registrados en el análisis con diferentes concentraciones del sobrenadante con respecto a las confrontaciones duales, pueden ser explicados por la edad de los sobrenadantes de *Macrolepiota* sp. CS185 que fueron obtenidos al día 18, mientras que la máxima actividad inhibitoria fue observada a partir del día 20 al 30 (Figuras 6 y 8). Lo cual se reflejó en valores semejantes a los mencionados para las confrontaciones duales para todos los aislados.

Por otro lado, ya que no fue observado un comportamiento típico de una cinética de inhibición en las diferentes concentraciones, fueron estudiadas las velocidades de crecimiento micelio (VCM) y fue estimado un porcentaje relativo de inhibición del crecimiento (PRI_{VCM}) a partir de éstas. En las curvas de crecimiento se observó comportamiento lineal dentro de los primeros 7 días de cultivo en los controles (0% de sobrenadante) de los aislados de *Alternaria* y *Colletotrichum* (Figura 10). Sin embargo, los tratamientos SN20, SN25 y SN30 mostraron un comportamiento no lineal para los

cuatro hongos, siendo más evidente en los aislados de *Alternaria* y coincidiendo con el patrón de la cinética de inhibición.

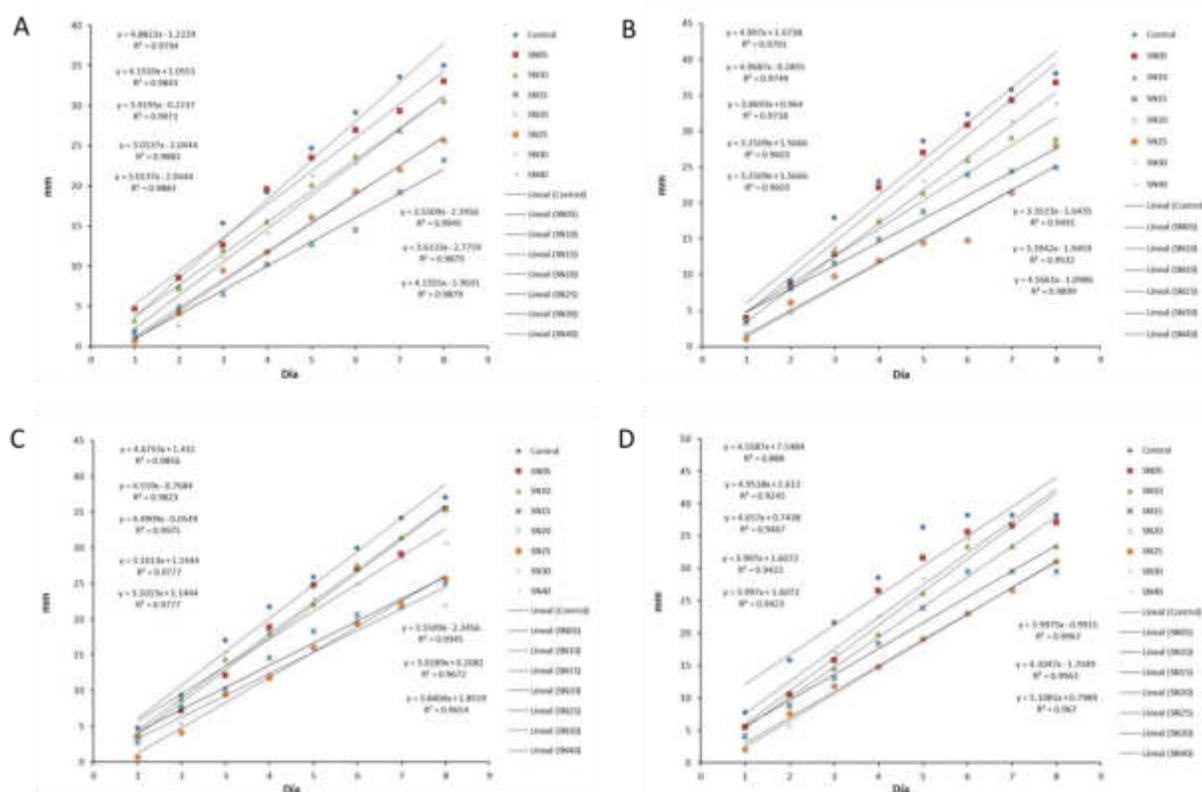


Figura 10. Velocidades de crecimiento micelial. Donde A) corresponde a *Alternaria* sp. 1, B) *Alternaria* sp. 2, C) corresponde a *Colletotrichum* sp. 1 y D) *Colletotrichum* sp. 2.

En el Cuadro 7 son mostradas las velocidades de crecimiento micelial donde se observan diferencias significativas ($P \leq 0.05$) entre los diferentes tratamientos para los aislados. Al analizar las VCM de *Alternaria* sp. 1, las mayores tasas de crecimiento se presentaron en los sobrenadantes SN5, SN10 y SN40, esto podría deberse a que a los días 5 y 10 del cultivo de *Macrolepiota* sp. CS185, se estarían llevando a cabo los procesos del metabolismo primario. Sugiriendo así, que a partir del día 15 comenzaría el metabolismo secundario, y con ello la producción de metabolitos antagónicos. Lo que explica los altos valores de PRI_{VCM} para SN15, SN20, SN25 y SN30 ($P \leq 0.05$),

aunque los dos primeros tuvieron el mayor valor numérico (34.94%), mostrando una ligera disminución y manteniendo la actividad antagónica alrededor del 32%, para finalmente perderse gran parte de esta actividad en el sobrenadante SN40 (8.62%).

Por otra parte, *Alternaria* sp. 2 y *Colletotrichum* sp. 2 aparentemente mostraron mayor resistencia a la acción de *Macrolepiota* sp. CS185, al no presentar diferencias estadísticas ($P > 0.05$) en las tasas de VCM, lo que podría estar asociado con la heterogeneidad del crecimiento de los hongos entre replicas. Sin embargo, los valores de los PRI_{VCM} mostraron diferencias estadísticamente significativas ($P \leq 0.05$). Para *Alternaria* sp. 2, los medios con los sobrenadantes SN15, SN20 y SN25 presentaron la mayor actividad antagónica con 12.33% ($P \leq 0.05$).

Los sobrenadantes SN15, SN20 y SN30 tuvieron la mayor actividad antagónica ($P \leq 0.05$) sobre *Colletotrichum* sp. 1 con 38.27, 38.27 y 37.29 %, respectivamente (Cuadro 7 y Figura 11). Para ambos aislados de *Colletotrichum* sp., la disminución en la actividad observada en los cultivos con el sobrenadante SN25 podría estar asociada a la volatilización de metabolitos antifúngicos como terpenos (Xu *et al.*, 2021), ya que ha sido reportada la presencia de sesquiterpenos en los sobrenadantes de *Macrolepiota* sp. CS185 (Hernández-Ochoa *et al.*, 2019). Otra posibilidad es la producción de más de un compuesto antagónico y que el comportamiento atípico observado tanto en los patrones de la cinética de inhibición (Figura 7 y 9) como en los PRI_{VCM} (Cuadro 7) sea explicado por los diferentes tiempos de producción de estos (Xu *et al.*, 2021; Han *et al.*, 2018).

Cuadro 7. Velocidades de crecimiento micelio y porcentaje relativo de inhibición del crecimiento.

Tt	<i>Alternaria sp. 1</i>		<i>Alternaria sp. 2</i>		<i>Colletotrichum sp. 1</i>		<i>Colletotrichum sp. 2</i>	
	VCM (mm/d)	PRI _{VCM} (%)	VCM (mm/d)	PRI _{VCM} (%)	VCM (mm/d)	PRI _{VCM} (%)	VCM (mm/d)	PRI _{VCM} (%)
Control*	4.50 ^a	0.00 ^d	4.56 ^a	0.00 ^c	4.88 ^a	0.00 ^e	4.67 ^a	0.00 ^e
SN05	4.97	0.57 ^d	4.95 ^a	0.00 ^c	4.16 ^{ab}	14.87 ^d	4.56 ^a	2.48 ^{de}
SN10	3.87 ^{ab}	22.57 ^b	4.66 ^a	0.00 ^c	3.92 ^{bc}	19.72 ^c	4.49 ^a	3.94 ^d
SN15	3.25 ^b	34.94 ^a	3.40 ^a	12.33 ^a	3.01 ^d	38.27 ^a	3.10 ^a	33.66 ^a
SN20	3.25 ^b	34.94 ^a	3.40 ^a	12.33 ^a	3.01 ^d	38.27 ^a	3.10 ^a	33.66 ^a
SN25	3.35 ^b	32.91 ^a	3.40 ^a	12.33 ^a	3.55 ^{bcd}	27.27 ^b	3.55 ^a	24.05 ^b
SN30	3.39 ^b	32.08 ^a	4.11 ^a	9.97 ^b	3.06 ^{cd}	37.29 ^a	3.03 ^a	35.21 ^a
SN40	4.57 ^{ab}	8.62 ^c	5.11 ^a	0.00 ^c	4.01 ^{ab}	17.79 ^c	3.84 ^a	17.86 ^c

Tt =tratamientos con diferentes concentraciones del sobrenadante *Macrolepiota sp.* CS185. *= control negativo (ausencia de sobrenadantes; 0%). VCM=velocidad de crecimiento del micelio. PRI_{VCM}=porcentaje relativo de inhibición en la velocidad del crecimiento diario, mm/d =milímetros por día. ^{a-f} Diferentes literales en la misma columna denotan diferencias estadísticamente significativas (Tukey, P ≤ 0.05).

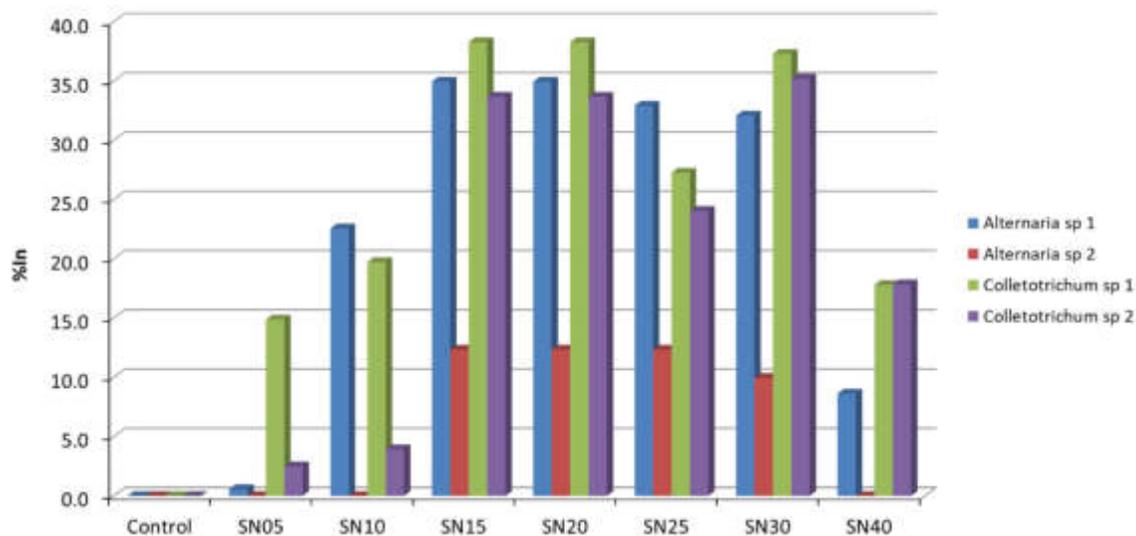


Figura 11. Porcentaje relativo de inhibición en la velocidad del crecimiento diario (PRI_{VCM}). Se muestra el efecto de los sobrenadantes con diferentes edades sobre los aislados de *Alternaria sp.* y *Colletotrichum sp.*

En la Figura 12 son presentados los efectos de la edad del sobrenadante sobre el crecimiento y la pigmentación de los aislados. Los sobrenadantes SN15, SN20 y SN30

mostraron los menores crecimientos, evidenciando los resultados de %In, VCM y PRI_{VCM} . También se destaca la susceptibilidad de *Alternaria* sp. 1 y *Colletotrichum* sp. 1 en comparación a sus respectivos controles. Si bien, fue evidente la reducción de tamaño en los tres tratamientos (mostrando un comportamiento similar), la producción de pigmentos fue diferente. Lo cual podría ser explicado por la producción de más de un metabolito responsable de la actividad antagónica y con ello, diferentes mecanismos y blancos celulares (Huang *et al.*, 2012; Aqueveque *et al.*, 2017; Han *et al.*, 2018). Estas hipótesis serán investigadas en futuros trabajos.

Finalmente es importante resaltar la importancia de los basidiomicetos como fuentes de metabolitos bioactivos de propiedades antimicrobianas, insecticidas y nematocidas de gran interés para el sector agrícola, debido a su facilidad de cultivo y rentabilidad. Contribuyendo además a reducir los efectos no deseados de los productos químicos sintéticos, como resistencias y contaminación ambiental (Sivanandhan *et al.*, 2017).

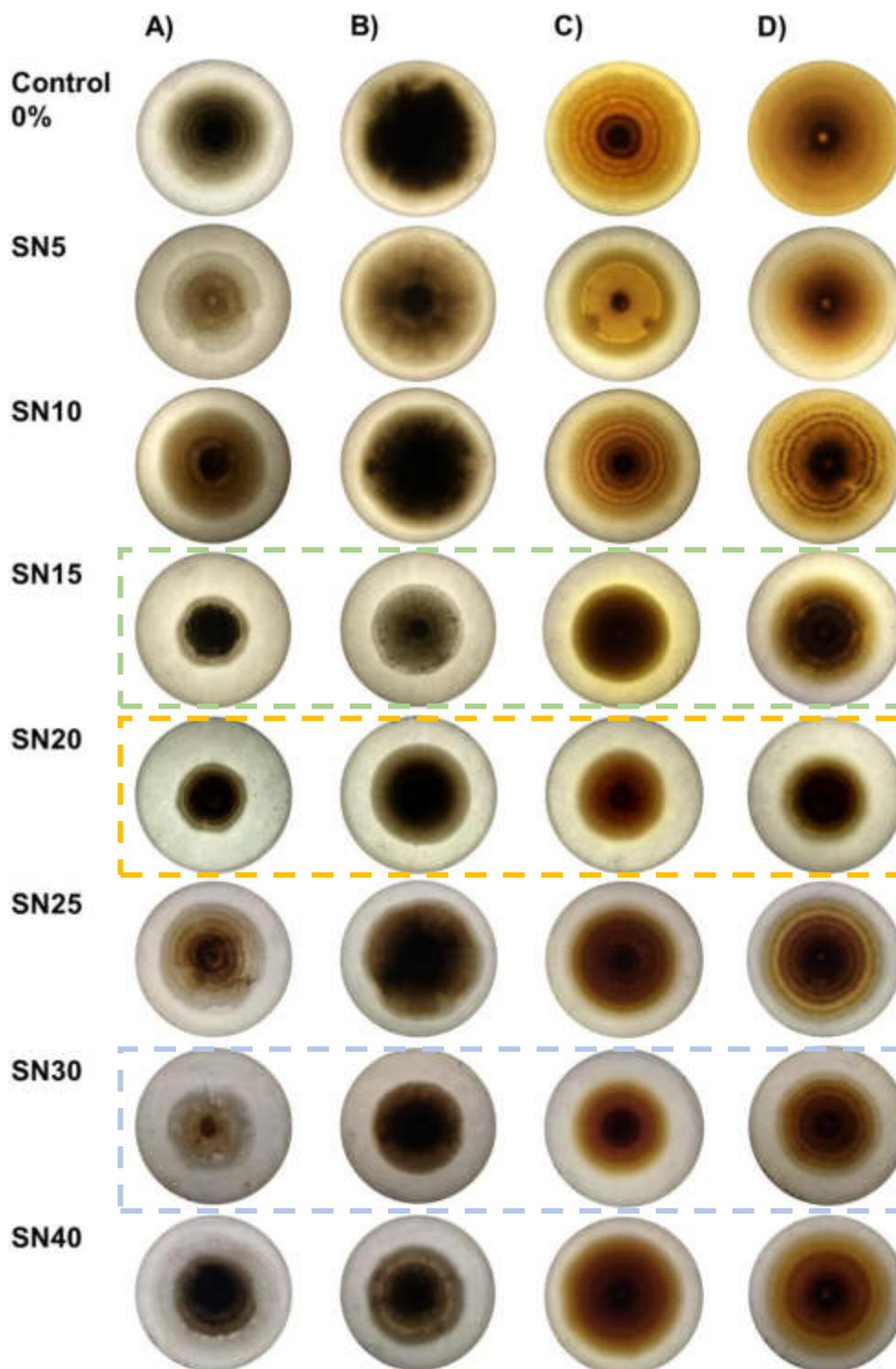


Figura 12. Efecto de los sobrenadantes de *Macrolepiota* sp. CS185 en el desarrollo y pigmentación de las colonias. Donde A) corresponde a *Alternaria* sp. 1, B) *Alternaria* sp. 2, C) *Colletotrichum* sp. 1 y D) *Colletotrichum* sp. 2.

6. CONCLUSIONES

Los resultados de esta investigación indicaron que, los cuatro aislados de *Alternaria* sp. y los dos de *Colletotrichum* sp. producen enzimas degradadoras de pared celular vegetal con diferentes patrones. De igual forma, los seis aislados evidenciaron diferentes repuestas de crecimiento e inhibición a la presencia de los cultivos o de los sobrenadantes de *Macrolepiota* sp. CS185. Siendo *Alternaria* sp. 1 y *Colletotrichum* sp. 2 los aislados más susceptibles. Si bien, los sobrenadantes de *Macrolepiota* sp. CS185 mostraron potencial antagónico sobre los géneros *Alternaria* y *Colletotrichum*, éste dependió de la edad del cultivo del antagonista. Finalmente, los patrones de inhibición observados en las curvas de producción de la actividad antagónica sugieren la posible producción de más de un metabolito bioactivo.

7. RECOMENDACIONES PARA FUTUROS TRABAJOS

La identificación de los metabolitos con actividad antagónica, así como la optimización de las condiciones de cultivo para una producción necesarias para la validación de su aplicación como agentes de biocontrol a nivel de cultivo. En este sentido, se hace necesario la determinación de la fito y citotoxicidad de los sobrenadantes. Lo que permitiría el desarrollo de nuevos recubrimientos como alternativa para la conservación de frutos a nivel poscosecha.

8. BIBLIOGRAFÍA

- Abbas, E., Osman, A., & Sitohy, M. (2020). Biochemical control of *Alternaria tenuissima* infecting post-harvest fig fruit by chickpea vicilin. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(7), 2889-2897.
- Accademia dei Georgofili (2003). *Storia Dell'agricoltura Italiana*, vol. 1. Florencia: Accademia dei Georgofili.
- Alam, M. W., Malik, A., Rehman, A., Sarwar, M., Muhammad, S., Hameed, A., Alsamadany, H., Alzahrani, Y. & Ahmed, Z. (2021). First report of *Alternaria alternata* causing fruit rot on Fig (*Ficus carica*) in Pakistan. *Plant Disease*. <https://doi.org/10.1094/PDIS-01-21-0090-PDN>.
- Alkan, N., & Fortes, A. M. (2015). Insights into molecular and metabolic events associated with fruit response to post-harvest fungal pathogens. *Frontiers in Plant Science*, 6, 889.
- Allegra, A., Sortino, G., Inglese, P., Settanni, L., Todaro, A. & Gallotta, A. (2017). La eficacia del recubrimiento comestible de mucílago de *Opuntia ficus-indica* en el mantenimiento poscosecha de la fruta 'Dottato' fig (*Ficus carica* L.). *Envasado de Alimentos y Vida Útil*, 12, 135-141.
- Aloi, F., Riolo, M., Sanzani, S. M., Mincuzzi, A., Ippolito, A., Siciliano, I., Pane, A., Gullino, M. L. & Cacciola, S. O. (2021). Characterization of *Alternaria* species associated with heart rot of pomegranate fruit. *Journal of Fungi*, 7(3), 172.

- Anand, G., & Kapoor, R. (2018). Population structure and virulence analysis of *Alternaria carthami* isolates of India using ISSR and SSR markers. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 34(9), 1-14.
- Aqueveque, P., Céspedes, C. L., Becerra, J., Aranda, M., & Sterner, O. (2017). Antifungal activities of secondary metabolites isolated from liquid fermentations of *Stereum hirsutum* (Sh134-11) against *Botrytis cinerea* (grey mould agent). *Food and Chemical Toxicology*, 109, 1048-1054.
- Arvaniti, O. S., Samaras, Y., Gatidou, G., Thomaidis, N. S., & Stasinakis, A. S. (2019). Review on fresh and dried figs: Chemical analysis and occurrence of phytochemical compounds, antioxidant capacity and health effects. *Food Research International*, 119, 244-267.
- Benmagnhia, S., Meddah, B., Tir-Touil, A., & Hernández, J. A. G. (2021). Phytochemical analysis, antioxidant and antimicrobial activities of three samples of dried figs (*Ficus carica* L.) from the region of mascara. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 2021, 208-215.7
- Betchem, G., Johnson, N. A. N., & Wang, Y. (2019). The application of chitosan in the control of post-harvest diseases: A review. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 126(6), 495-507.
- Boubaker, H., Karim, H., El Hamdaoui, A., Msanda, F., Leach, D., Bombarda, I., Vanloot, P., Abbad, A., Boudyach, E. H. & Aoumar, A. A. B. (2016). Chemical characterization and antifungal activities of four *Thymus* species essential oils against postharvest fungal pathogens of citrus. *Industrial Crops and Products*, 86, 95-101.

- Çalışkan, O., & Polat, A. A. (2011). Phytochemical and antioxidant properties of selected fig (*Ficus carica* L.) accessions from the eastern Mediterranean region of Turkey. *Scientia Horticulturae*, 128(4), 473-478.
- Carmona-Hernández, S., Reyes-Pérez, J. J., Chiquito-Contreras, R. G., Rincon-Enriquez, G., Cerdan-Cabrera, C. R., & Hernandez-Montiel, L. G. (2019). Biocontrol of postharvest fruit fungal diseases by bacterial antagonists: a review. *Agronomy*, 9(3), 121.
- Chen, C., Cai, N., Chen, J., Peng, X., & Wan, C. (2018). Chitosan-based coating enriched with hairy fig (*Ficus hirta* Vahl.) fruit extract for “Newhall” navel orange preservation. *Coatings*, 8(12), 445.
- Chen, L., Zhu, Y. J., Fan, Z. J., Guo, X. F., Zhang, Z. M., Xu, J. H., Song, Y. Q., Yurievich, M. Y., Belskaya, N. P. & Bakulev, V. A. (2017). Synthesis of 1, 2, 3-thiadiazole and thiazole-based strobilurins as potent fungicide candidates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(4), 745-751.
- Chen, J. T., & Huang, J. W. (2010). Antimicrobial activity of edible mushroom culture filtrates on plant pathogens. *Plant Pathology Bulletin*. 4, 261-270
- Ćirić, A., Kruljević, I., Stojković, D., Fernandes, Â., Barros, L., Calhelha, R. C., ... & Glamočlija, J. (2019). Comparative investigation on edible mushrooms *Macrolepiota mastoidea*, *M. rhacodes* and *M. procera*: Functional foods with diverse biological activities. *Food & Function*, 10(12), 7678-7686.
- Colelli, G., & Amodio, M. L. (2020). Subtropical fruits: Figs. In *Controlled and Modified Atmospheres for Fresh and Fresh-Cut Produce* (pp. 427-434). Academic Press.7

- Crisosto, H., Ferguson, L., Bremer, V., Stover, E., & Colelli, G. (2011). Fig (*Ficus carica* L.). In *Postharvest Biology and Technology of Tropical and Subtropical Fruits* (pp. 134-160e). Woodhead Publishing.
- De Simone, N., Capozzi, V., Amodio, M. L., Colelli, G., Spano, G., & Russo, P. (2021). Microbial-based Biocontrol Solutions for Fruits and Vegetables: Recent Insight, Patents, and Innovative Trends. *Recent Patents on Food, Nutrition & Agriculture*, *12(1)*, 3-18.
- Ding, P., & Lee, Y. L. (2019). Use of essential oils for prolonging postharvest life of fresh fruits and vegetables. *International Food Research Journal*, *26(2)*.
- Dukare, A. S., Paul, S., Nambi, V. E., Gupta, R. K., Singh, R., Sharma, K., & Vishwakarma, R. K. (2019). Exploitation of microbial antagonists for the control of postharvest diseases of fruits: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *59(9)*, 1498-1513.
- Dutta, S., Woo, E. E., Yu, S. M., Nagendran, R., Yun, B. S., & Lee, Y. H. (2019). Control of anthracnose and gray mold in pepper plants using culture extract of white-rot fungus and active compound schizostatin. *Mycobiology*, *47(1)*, 87-96.
- El Ouali, Y., Manssouri, M., Bouyanzer, A., Majidi, L., Bendaif, H., Elmsellem, H., Shariati, M. A., Melhaoui, A. & Hammouti, B. (2017). Essential oil composition and antifungal activity of *Melissa officinalis* originating from north-Est Morocco, against postharvest phytopathogenic fungi in apples. *Microbial Pathogenesis*, *107*, 321-326.
- Elfarr, K., Zoffoli, J. P., & Latorre, B. A. (2018). Identification and characterization of *Alternaria* species associated with moldy core of apple in Chile. *Plant Disease*, *102(11)*, 2158-2169.

- Elik, A., Yanik, D. K., Istanbulu, Y., Guzelsoy, N. A., Yavuz, A., & Gogus, F. (2019). Strategies to reduce post-harvest losses for fruits and vegetables. *Strategies*, 5(3), 29-39.
- Erbiai, E. H., Pinto da Silva, L., Saidi, R., Lamrani, Z., Esteves da Silva, J. C. G., & Maouni, A. (2021). Chemical composition, bioactive compounds and antioxidant activity of two wild edible mushrooms *Armillaria mellea* and *Macrolepiota procera* from two countries (Morocco and Portugal). *Biomolecules*, 11, 575.
- Ertan, B., Görücüoğlu, P., Dağ, S., Göçmez, A., Aksoy, U., & Ertan, E. (2018, August). A research on the freezing conservation of 'Sarilop' figs. In *XXX International Horticultural Congress IHC2018: International Symposium on Strategies and Technologies to Maintain Quality 1275* (pp. 269-276).
- Fenta, L., Mekonnen, H., & Gashaw, T. (2019). Biocontrol potential of *Trichoderma* and yeast against postharvest fruit fungal diseases: A review. *World News of Natural Sciences*, 27, 153-173
- Fukushima-Sakuno, E. (2020). Bioactive small secondary metabolites from the mushrooms *Lentinula edodes* and *Flammulina velutipes*. *The Journal of Antibiotics*, 73(10), 687-696.
- Giraldo, E., López-Corrales, M., & Hormaza, J. I. (2010). Selection of the most discriminating morphological qualitative variables for characterization of fig germplasm. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 135(3), 240-249.
- Han, J. W., Oh, M., Lee, Y. J., Choi, J., Choi, G. J., & Kim, H. (2018). Crinipellins A and I, two diterpenoids from the basidiomycete fungus *Crinipellis rhizomaticola*, as potential natural fungicides. *Molecules*, 23(9), 2377.

- Hayati, R., Rahmawaty, M., & Lestari, T. N. (2021, February). Low temperature and duration on quality of fig fruit (*Ficus carica* L.). In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 667, No. 1, p. 012080). IOP Publishing.
- Hedawoo, G. B., Bijwe, H. V., & Maggirwar, R. C. (2017). Occurrence of mycobiota associated with *Ficus carica* L. *Weather*, 14, 38.
- Hernández, A., Ruiz-Moyano, S., Galván, A. I., Merchán, A. V., Nevado, F. P., Aranda, E., Serradilla, M. J., Córdoba, M. G. & Martín, A. (2021). Anti-fungal activity of phenolic sweet orange peel extract for controlling fungi responsible for post-harvest fruit decay. *Fungal Biology*, 125(2), 143-152.
- Hernández-Ochoa, J. S., Levin, L. N., Hernández-Luna, C. E., Contreras-Cordero, J. F., Niño-Medina, G., Chávez-Montes, A., López-Sandin, I. & Gutiérrez-Soto, G. (2020). Antagonistic potential of *Macrolepiota* sp. against *Alternaria solani* as causal agent of early blight disease in tomato plants. *Gesunde Pflanzen*, 72(1), 69-76.
- Hssaini, L., Hanine, H., Charafi, J., Razouk, R., Elantari, A., Ennahli, S., Hernández, F. & Ouaabou, R. (2020). First report on fatty acids composition, total phenolics and antioxidant activity in seeds oil of four fig cultivars (*Ficus carica* L.) grown in Morocco. *OCL*, 27, 8.
- Huang, R., Che, H. J., Zhang, J., Yang, L., Jiang, D. H., & Li, G. Q. (2012). Evaluation of *Sporidiobolus pararoseus* strain YCXT3 as biocontrol agent of *Botrytis cinerea* on post-harvest strawberry fruits. *Biological Control*, 62(1), 53-63.
- Ikeda, K., Park, P., & Nakayashiki, H. (2019). Cell biology in phytopathogenic fungi during host infection: Commonalities and differences. *Journal of General Plant Pathology*, 85(3), 163-173.

- Irfan, M., Mehmood, S., Irshad, M., & Anwar, Z. (2018). Optimized production, purification and molecular characterization of fungal laccase through *Alternaria alternata*. *Turkish Journal of Biochemistry*, 43(6), 613-622.
- Irfan, P. K., Vanjakshi, V., Prakash, M. K., Ravi, R., & Kudachikar, V. B. (2013). Calcium chloride extends the keeping quality of fig fruit (*Ficus carica* L.) during storage and shelf-life. *Postharvest Biology and Technology*, 82, 70-75.
- Jusoh, N. A. B. M., Ding, P., & Yeat, C. S. (2019). Performance of fig (*Ficus carica* L. Cv. Ipoh blue giant) fruit stored at various storage temperatures. *International Journal of Agriculture, Forestry and Plantation*, 8,9-11.
- Khaliq, G., Mohamed, M. T. M., Ali, A., Ding, P., & Ghazali, H. M. (2015). Effect of gum arabic coating combined with calcium chloride on physico-chemical and qualitative properties of mango (*Mangifera indica* L.) fruit during low temperature storage. *Scientia Horticulturae*, 190, 187-194.
- Kwiatos, N., Jędrzejczak-Krzepkowska, M., Krzemińska, A., Delavari, A., Paneth, P., & Bielecki, S. (2020). Evolved *Fusarium oxysporum* laccase expressed in *Saccharomyces cerevisiae*. *Scientific Reports*, 10(1), 1-11.
- Lakshmi, S. J., Roopa Bai, R. S., Sharanagouda, H., Ramachandra, C. T., Nadagouda, S., & Nidoni, U. (2018). Effect of biosynthesized zinc oxide nanoparticles coating on quality parameters of fig (*Ficus carica* L.) fruit. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(3), 10-14.
- Latinović, N., Radišek, S., & Latinović, J. (2014). First report of *Alternaria alternata* causing fruit rot on fig (*Ficus carica*) in Montenegro. *Plant Disease*, 98(3), 424-424.

- Levin, L. N., Ramos, A. M., Parisi, M., & Gally, M. E. (2007). Screening of *Colletotrichum* (Ascomycota) isolates, causal agents of soybean anthracnose, for laccase production. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 42(1-2), 71-77.
- Lin, S., Wu, T., Lin, H., Zhang, Y., Xu, S., Wang, J., Wu, B., Chen, Y., Lin, S., Lin, D., Wang, X., Zhao, X. & Wu, J. (2018). De novo analysis reveals transcriptomic responses in *Eriobotrya japonica* fruits during postharvest cold storage. *Genes*, 9(12), 639.
- Liu, Y., Galani Yamdeu, J. H., Gong, Y. Y., & Orfila, C. (2020). A review of postharvest approaches to reduce fungal and mycotoxin contamination of foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(4), 1521-1560.
- Mars, M. (2001, May). Fig (*Ficus carica* L.) genetic resources and breeding. *Acta Horticulturae International Symposium on Fig*, 605, 19-27. DOI: 10.17660/ActaHortic.2003.605.1
- Martinez-Damian, M. T., Omegar, C. A., & Oscar, C. A. (2020). Effect of modified atmosphere packaging on nutraceutical quality and overall appearance of figs stored at 1° C. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 48(4), 2292-2305.
- Martinez-Romero, D., Serrano, M., Carbonell, A., Castillo, S., Riquelme, F., & Valero, D. (2004). Mechanical damage during fruit post-harvest handling: technical and physiological implications. In *Production Practices and Quality Assessment of Food Crops*, Springer, Dordrecht. 233-252.
- Mendoza-Castillo, V. M., Vargas-Canales, J. M., Calderon-Zavala, G., Mendoza-Castillo, M. D. C., & Santacruz-Varela, A. (2017). Intensive production systems of

- fig (*Ficus carica* L.) under greenhouse conditions. *Experimental Agriculture*, 53(3), 339-350.
- Moccia, S., La Cara, F., Cervellera, C., Russo, G. L., & Volpe, M. G. (2021). Active edible coating to preserve fresh figs. *Chemical Engineering Transactions*, 87, 181-186.
- Montealegre, J., Oyarzún, J., Herrera, R., Berger, H., & Galletti, L. (2000). Fungi producing postharvest decay on brevas and fig fruits. *Boletín de Sanidad Vegetal, Plagas*, 26(3), 439-443.
- Munhuweyi, K., Mpai, S., & Sivakumar, D. (2020). Extension of avocado fruit postharvest quality using non-chemical treatments. *Agronomy*, 10(2), 212.
- Naveen, J., Navya, H. M., Hithamani, G., Hariprasad, P., & Niranjana, S. R. (2021). Pathological, biochemical and molecular variability of *Colletotrichum truncatum* incitant of anthracnose disease in chilli (*Capsicum annum* L.). *Microbial Pathogenesis*, 152, 104611.
- Paolucci, M., Di Stasio, M., Sorrentino, A., La Cara, F., & Volpe, M. G. (2020). Active edible polysaccharide-based coating for preservation of fresh figs (*Ficus carica* L.). *Foods*, 9(12), 1793.
- Peng, Y., Li, S. J., Yan, J., Tang, Y., Cheng, J. P., Gao, A. J., Yao, X., Ruan, J. J. & Xu, B. L. (2021). Research Progress on Phytopathogenic Fungi and Their Role as Biocontrol Agents. *Frontiers in Microbiology*, 12.
- Perez, E. F., Suaza Blandon, S. C., Alves-Silva, G., Lechner, B. E., & Silveira, R. M. B. (2018). Taxonomy and phylogeny of *Macrolepiota*: two new species from Brazil. *Mycologia*, 110(5), 930-940.

- Pineda-Suazo, D., Montero-Vargas, J. M., Ordaz-Ortiz, J. J., & Vázquez-Marrufo, G. (2021). Growth inhibition of phytopathogenic fungi and oomycetes by basidiomycete *Irpex lacteus* and identification of its antimicrobial extracellular metabolites. *Polish Journal of Microbiology*, 70(1), 131.
- Polat, A. A., & Caliskan, O. (2008). Fruit characteristics of table fig (*Ficus carica*) cultivars in subtropical climate conditions of the Mediterranean region. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 36(2), 107-115.
- Polat, A. A., & Caliskan, O. (2008). Fruit characteristics of table fig (*Ficus carica*) cultivars in subtropical climate conditions of the Mediterranean region. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 36(2), 107-115.
- Priya, K., Thiribhuvanamala, G., Kamalakannan, A., & Krishnamoorthy, A. S. (2019). Antimicrobial activity of biomolecules from mushroom fungi against *Colletotrichum capsici* (Syd.) Butler and Bisby, the fruit rot pathogen of Chilli. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 8(6), 1172-1186.
- Ramos, A. M., Gally, M., García, M. C., & Levin, L. (2010). Pectinolytic enzyme production by *Colletotrichum truncatum*, causal agent of soybean anthracnose. *Revista iberoamericana de micología*, 27(4), 186-190.
- Ragupathi, K. P., Renganayaki, P. R., Sundareswaran, S., Kumar, S. M., & Kamalakannan, A. (2021). Mycomolecules against *Alternaria solani* causing Early blight of tomato. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 9(1), 101-104.
- Rojo-Báez, I., Álvarez-Rodríguez, B., García-Estrada, R. S., León-Félix, J., Sañudo-Barajas, A., & Allende-Molar, R. (2017). Situación actual de *Colletotrichum* spp. en México: Taxonomía, caracterización, patogénesis y control. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 35(3), 549-570.

- Saki, M., ValizadehKaji, B., Abbasifar, A., & Shahrjerdi, I. (2019). Effect of chitosan coating combined with thymol essential oil on physicochemical and qualitative properties of fresh fig (*Ficus carica* L.) fruit during cold storage. *Journal of Food Measurement and Characterization*, *13*(2), 1147-1158.
- Samson, R. A., Houbraken, J., Thrane, U., Frisvad, J. C., & Andersen, B. (2019). *Food and Indoor Fungi*. Westerdijk Fungal Biodiversity Institute.
- Santamarina, MP, Ibáñez, MD, Marqués, M., Roselló, J., Giménez, S., & Blázquez, MA (2017). Bioactividad de los aceites esenciales en el control de hongos fitopatógenos y poscosecha. *Investigación de Productos Naturales*, *31*(22), 2675-2679.
- Sanzani, S. M., Reverberi, M., & Geisen, R. (2016). Mycotoxins in harvested fruits and vegetables: Insights in producing fungi, biological role, conducive conditions, and tools to manage postharvest contamination. *Postharvest Biology and Technology*, *122*, 95-105.
- Schöffler, A. (2018). Secondary metabolites of basidiomycetes. In *Physiology and Genetics* (231-275). Springer, Cham.
- Sharma, S., Rana, V. S., Pawar, R., Lakra, J., & Racchapannavar, V. (2021). Nanofertilizers for sustainable fruit production: a review. *Environmental Chemistry Letters*, *19*(2), 1693-1714.
- Siddique, S. S., Hardy, G. S. J., & Bayliss, K. L. (2018). Cold plasma: A potential new method to manage postharvest diseases caused by fungal plant pathogens. *Plant Pathology*, *67*(5), 1011-1021.

- Sidorova, I., & Voronina, E. (2019). Bioactive secondary metabolites of basidiomycetes and its potential for agricultural plant growth promotion. In *Secondary Metabolites of Plant Growth Promoting Rhizomicroorganisms*, Springer, Singapore, 3-26.
- Silva, K. D. R. R., & Sirasa, M. S. F. (2018). Antioxidant properties of selected fruit cultivars grown in Sri Lanka. *Food Chemistry*, 238, 203-208.
- Singh, D., & Sharma, R. R. (2018). Postharvest diseases of fruits and vegetables and their management. In *Postharvest Disinfection of Fruits and Vegetables*, Academic Press. 1-52.
- Sivanandhan, S., Khusro, A., Paulraj, M. G., Ignacimuthu, S., & Al-Dhabi, N. A. (2017). Biocontrol properties of basidiomycetes: An overview. *Journal of Fungi*, 3(1), 2.
- Solomon, A., Golubowicz, S., Yablłowicz, Z., Grossman, S., Bergman, M., Gottlieb, H. E., Altman, Z. K. & Flaishman, M. A. (2006). Antioxidant activities and anthocyanin content of fresh fruits of common fig (*Ficus carica* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(20), 7717-7723.
- Soto-Muñoz, L., Teixidó, N., Usall, J., Casals, C., & Torres, R. (2020). Aporte de las herramientas moleculares en el desarrollo de productos basados en microorganismos antagonistas, para el control de enfermedades poscosecha. *Revista Bio Ciencias*, 7, 15.
- Spremo, N. R., Tesanović, K. D., Rakić, M. S., Janjušević, L. N., Ignjatov, M., Bjelić, D., & Karaman, M. (2017). Antifungal activity of macrofungi extracts on phytopathogenic fungal strains of genera *Fusarium* sp. and *Alternaria* sp. *Zbornik Matice Srpske Za Prirodne Nauke*, (133), 231-240.
- Stover, E., Aradhya, M., Ferguson, L., & Crisosto, C. H. (2007). The fig: Overview of an ancient fruit. *HortScience*, 42(5), 1083-1087.

- Stracquadano, C., Luz, C., La Spada, F., Meca, G., & Cacciola, S. O. (2021). Inhibition of mycotoxigenic fungi in different vegetable matrices by extracts of *Trichoderma* species. *Journal of Fungi*, 7(6), 445.
- Thangaraj, P., Subbiah, K. A., Uthandi, S., & Amirtham, D. (2021). Antifungal volatiles from macrobasidiomycetes inhibits *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici. *Madras Agricultural Journal*, 108.
- Tzortzakis, N., & Chrysargyris, A. (2017). Postharvest ozone application for the preservation of fruits and vegetables. *Food Reviews International*, 33(3), 270-315.
- Usall, J., Ippolito, A., Sisquella, M., & Neri, F. (2016). Physical treatments to control postharvest diseases of fresh fruits and vegetables. *Postharvest Biology and Technology*, 122, 30-40.
- Usberti, F. C. S., & Ferraz, A. C. D. O. (2020). UV-C radiation on fresh fig quality. *Scientia Agricola*, 78.
- Velázquez-Silva, A., García-Díaz, S. E., Robles-Yerena, L., Nava-Díaz, C., & Nieto-Ángel, D. (2018). Primer reporte del género *Colletotrichum* spp. en frutos de pimienta gorda (*Pimenta dioica*) en Veracruz, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 36(2), 342-355.
- Vieira, T. M., Moldão-Martins, M., & Alves, V. D. (2021). Composite coatings of chitosan and alginate emulsions with olive oil to enhance postharvest quality and shelf life of fresh figs (*Ficus carica* L. cv. 'Pingo De Mel'). *Foods*, 10(4), 718.
- Villalobos, M. C., Serradilla, M. J., Martín, A., Hernández-León, A., Ruíz-Moyano, S., & de Guía Córdoba, M. (2017). Characterization of microbial population of breba and main crops (*Ficus carica*) during cold storage: Influence of passive modified

- atmospheres (MAP) and antimicrobial extract application. *Food Microbiology*, 63, 35-46.
- Wang, Z., Sui, Y., Li, J., Tian, X., & Wang, Q. (2020). Biological control of postharvest fungal decays in citrus: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1-10.
- Wei, Y., Pu, J., Zhang, H., Liu, Y., Zhou, F., Zhang, K., & Liu, X. (2017). The laccase gene (LAC1) is essential for *Colletotrichum gloeosporioides* development and virulence on mango leaves and fruits. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 99, 55-64.
- Wipusaree, N., Sihanonth, P., Piapukiew, J., Sangvanich, P., & Karnchanatat, A. (2011). Purification and characterization of a xylanase from the endophytic fungus *Alternaria alternata* isolated from the Thai medicinal plant, *Croton oblongifolius* Roxb. *African Journal of Microbiology Research*, 5(31), 5697-5712.
- Zhang, Z. Q., Chen, T., Li, B. Q., Qin, G. Z., & Tian, S. P. (2021). Molecular basis of pathogenesis of postharvest pathogenic Fungi and control strategy in fruits: progress and prospect. *Molecular Horticulture*, 1(1), 1-10.