

ACTIVIDAD ENZIMÁTICA LIGNINOLÍTICA DE DOS POBLACIONES DE *Ganoderma* spp. EN INTERACCIÓN CON *Trichoderma* spp.

Ligninolytic enzyme activities of two populations of *Ganoderma* spp. In interaction with *Trichoderma* spp.

Andrea MENDOZA-ARCEO, Wilberth CHAN-CUPUL*,
Juan Alberto OSUNA-CASTRO y María Isabel CARRILLO-DÍAZ

Universidad de Colima, km 40, Autopista Colima-Manzanillo, Tecomán, C.P. 28934, Colima, México.

*Autor para correspondencia: wchan@ucol.mx

(Recibido: junio 2021; aceptado: agosto 2022)

Palabras clave: lacasa, lignina peroxidasa, manganeso peroxidasa, cocultivo, antagonismo, control biológico.

RESUMEN

Los objetivos del presente estudio fueron evaluar la actividad enzimática ligninolítica (AEL = lacasa, manganeso peroxidasa [MnP]) y lipasa peroxidasa [LiP]) de dos poblaciones de *Ganoderma* spp. (ruderal y urbana), determinar el tipo de interacción fúngica de cada población en cocultivos con cepas de *Trichoderma* spp. y cuantificar la AEL en las interacciones. Se aislaron siete cepas ruderales y siete urbanas, se determinó y comparó su tasa de crecimiento diario (TCD) y su AEL. Con tres cepas de cada población con mejor TCD, se establecieron cocultivos con tres cepas de *Trichoderma* spp. (T85, T98 y T99). Las cepas ruderales presentaron más actividad MnP y LiP, pero menor TCD en comparación con las cepas urbanas. La actividad de la lacasa fue igual en ambas poblaciones. La interacción más común entre *Ganoderma* spp. y *Trichoderma* spp. fue la inhibición al contacto. Las cepas ruderales de *Ganoderma* spp. (4R y 9R) cuando crecen en monocultivo no presentaron actividad MnP; sin embargo, cuando interactúan con *Trichoderma*, la MnP se presentó (entre 150 a 3000 %) e incrementó la LiP (entre 13 al 51 %). En cepas urbanas de *Ganoderma* spp. la actividad lacasa (entre 8 a 183 %), MnP (entre 24 a 144 %) y LiP (entre 5 a 6268 %) aumentó en las interacciones con *Trichoderma*. La AEL en cada población fue variable, la interacción más común entre *Ganoderma* spp. y *Trichoderma* spp. fue el bloqueo al contacto con incrementos significativos en la AEL.

Key words: laccase, lignin peroxidase, manganese peroxidase, co-culture, antagonism, biological control.

ABSTRACT

The objectives of the present study were to evaluate the ligninolytic enzymatic activity (LEA = laccase, manganese peroxidase [MnP] and lipase peroxidase [LiP]) of two *Ganoderma* spp. populations (ruderal and urban), determine the type of fungal interaction of each population in co-cultures with *Trichoderma* spp. strains, and quantify the LEA in the interactions. Seven ruderal and seven urban strains were isolated, their daily growth rate (DGR) and LEA were determined and compared. With three strains from each population with the best DGR, co-cultures with three *Trichoderma* spp. strains were established (T85, T98 and T99). Ruderal strains produce more MnP and LiP activities, but have lower DGR compared to urban strains. Laccase activity was the same in both populations. The most common interaction between *Ganoderma* spp.

and *Trichoderma* spp. was the inhibition at contact. Ruderal strains of *Ganoderma* spp. (4R and 9R) when grown in monoculture did not show MnP activity; however, when they interact with *Trichoderma* spp., MnP was present (between 150 to 3000%) and increased LiP (between 13 to 51%) activities. In urban strains of *Ganoderma* spp. lacase (between 8 to 183%), MnP (between 24 to 144%) and LiP (between 5 to 6268%) activities increased in interactions with *Trichoderma* spp. The LEA in each population was variable, the most common interaction between *Ganoderma* spp. and *Trichoderma* spp. was block at contact with significant increases in LEA.

INTRODUCCIÓN

Ganoderma (Basidiomycota: Aphylloporales) es un género de hongos lignícolas, los cuales actúan como saprobios sobre la madera en descomposición y como parásitos de árboles en ambientes ruderales y urbanos. Algunas especies como *G. boninense*, *G. applanatum*, *G. resinaceum* y *G. adspersum* ocasionan grandes pérdidas económicas en la industria maderera, explotación palmícola y en diferentes tipos de cultivos arborícolas, al ser causantes de la pudrición basal del tallo (Schwarze y Ferner 2003). Además, poseen una distribución cosmopolita (Moncalvo y Buchanan 2008, Suárez-Medellín et al. 2012, Pinzón-Osorio y Pinzón-Osorio 2016). México cuenta con una amplia distribución de este género, existen más de 16 especies registradas en el territorio nacional. El estado de Sonora tiene el 50 % de las especies registradas para el país (Torres-Torres et al. 2015, López-Peña et al. 2016).

Las especies de *Ganoderma* han desarrollado distintas formas de vida que las hacen aptas para aprovechar los recursos de su entorno (Boddy y Hiscox 2016, Hiscox et al. 2017). Como organismos fúngicos, son capaces de degradar la materia orgánica a moléculas de agua, incluyendo las moléculas de lignina, celulosa y hemicelulosa. Esto gracias a su metabolismo, específicamente a la producción y acción de las enzimas ligninolíticas (EL) como la lacasa (EC 1.10.3.2), la lignina peroxidasa (LiP, EC 1.11.1.14), y la manganeso peroxidasa (MnP, EC 1.11.1.13, Xuan-Wei et al. 2013). La actividad de estas enzimas en el reino Fungi es una cualidad cepa-especie dependiente (Téllez-Téllez et al. 2012).

Sin embargo, se ha demostrado que los basidiomicetos, incluyendo *Ganoderma* (da Silva et al. 2010a, Maciel et al. 2013), pueden incrementar su actividad enzimática ligninolítica al estar expuestos a estresores (Piscitelli et al. 2011), cuya definición ecológica es cualquier actividad antrópica que resulte en un cambio ambiental que llevará al sistema u organismo estudiado fuera de su rango operativo normal (Sabater et al. 2019). Por lo tanto, el estrés asociado con la agricultura

y la urbanización, por ejemplo, la sedimentación, el cambio en la composición nutrimental del suelo y la contaminación, pueden modificar la composición de la comunidad fúngica y con ello su actividad enzimática y metabólica (Hiscox et al. 2010, Boddy y Hiscox 2016, Juvigny-Khenafou et al. 2020). No obstante, además de los estresores como inductores de EL, las interacciones hongo-hongo en cocultivo también inducen la producción de enzimas y metabolitos secundarios (Bader et al. 2010, Yu et al. 2021). A nivel micelio, estas interacciones pueden resultar en bloqueos a distancia, bloqueos al contacto y reemplazos totales o parciales (Badalyan et al. 2002).

Por otra parte, algunos hongos microscópicos filamentosos como *Trichoderma* spp. pueden ser útiles como agentes de control biológico contra especies fitopatógenas de *Ganoderma* (Naher et al. 2012a, Lee-Pei et al. 2016). Sin embargo, en la naturaleza, ambos géneros se encuentran en interacción causándose mutuamente un estrés biótico, el cual resulta en el incremento o decremento de la actividad enzimática ligninolítica o proteolítica según las especies involucradas (Fang-Sim et al. 2019, Muniroh et al. 2019). Al respecto, Ijoma et al. (2018) reportaron que *Trichoderma harzianum* es capaz de reemplazar a *Ganoderma lucidum* en un cultivo dual, y en la interacción, *G. lucidum* aumentó la actividad de la lacasa y la MnP como respuesta al reemplazo.

La información sobre interacciones fúngicas entre cepas (o poblaciones) de *Ganoderma* spp. y *Trichoderma* spp. es escasa, más si se trata de cepas aisladas en diferentes ambientes con actividad antrópica. Por lo tanto, la presente investigación establece la siguiente hipótesis: la población de *Ganoderma* spp. aislada de un ambiente urbano (mayor perturbación) posee mayor actividad enzimática ligninolítica, en comparación con la población aislada de un ambiente ruderal (menos perturbado). Además, *Trichoderma* spp. posee habilidad para reemplazar a *Ganoderma* spp. bajo condiciones in vitro. En consecuencia, los objetivos del presente estudio fueron: 1) evaluar la actividad enzimática ligninolítica de cepas de *Ganoderma* spp. colectadas y aisladas de dos ambientes estresores

(ruderal y urbano), 2) determinar el tipo de interacción fúngica de cada población de *Ganoderma* spp. con cepas de *Trichoderma* spp., como agentes de control biológico y 3) cuantificar la actividad de las EL en las interacciones entre las poblaciones de *Ganoderma* spp. y *Trichoderma* spp.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitios de colecta

Se colectaron carpóforos de dos poblaciones de *Ganoderma* spp. relacionadas con diferentes actividades antrópicas. Se consideró población urbana a las cepas aisladas de carpóforos colectados dentro de la ciudad de Colima, Colima, México. Mientras que las cepas aisladas de carpóforos colectados de árboles situados dentro áreas de cultivos agrícolas [p. e. palma de coco (*Cocos nucifera* L.), limón (*Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle) y papaya (*Carica papaya* L.)] se les denominó población ruderal. Los sitios de colecta se situaron entre los meridianos 103° 29' 20" y 104° 41' 42" de longitud O y entre los paralelos 18° 41' 12" y 19° 31' 00" de latitud, en el municipio de Tecomán, Colima, México.

Aislamiento de cepas de *Ganoderma* spp.

Los cuerpos fructíferos se desinfectaron como lo describe Chaparro et al. (2009). Los carpóforos se cortaron en trozos pequeños (0.5 x 0.5 cm) y se lavaron con: 1) hipoclorito de sodio 5 % (3 min), alcohol etílico 70 % (3 min) y agua destilada estéril (ADE) (3 min). Una vez desinfectados, en campana de flujo laminar, se colocaron hasta cinco trozos por caja de Petri en agar dextrosa papa (ADP, MCD Lab., Tlalnepantla, Edo. de México), suplementado con 100 ppm de cloranfenicol (97.0-103.0 % de pureza). Las cajas de Petri sembradas se incubaron por 10 días bajo condiciones de laboratorio a 26 ± 3 °C, 75 ± 5 % de humedad relativa y 10:14 h luz:oscuridad. El micelio se purificó en nuevas cajas de Petri. Se aislaron veinte cepas de *Ganoderma* spp. en cada uno de los ambientes (urbano y ruderal). Sin embargo, para los experimentos se emplearon siete cepas de cada ambiente, las cuales presentaron actividad enzimática ligninolítica. La pertenencia al género *Ganoderma* y al orden Polyporales (Basidiomycetes, Fungi) se corroboró con el micelio de los aislamientos al detectar fibulas, estructuras que se producen entre dos células binucleadas en el Phylum Basidiomycetes.

Tasa de crecimiento diaria (TCD)

La TCD de las cepas de las poblaciones urbana y ruderal se determinó en medio de cultivo Sivakumar

(Sivakumar et al. 2010). El medio se preparó disolviendo: glucosa (20 g/L), extracto de levadura (2.5 g/L), KH₂PO₄ (1.0 g/L), (NH₄)₂SO₄ (0.05 g/L), MgSO₄ (0.5 g/L), CaCl₂ (0.01 g/L), FeSO₄ (0.01 g/L), MnSO₄ (0.001 g/L), ZnSO₄ (0.001 g/L), CuSO₄ (0.001 g/L) y agar bacteriológico (20 g/L). En el centro de cajas de Petri (100 mm de Ø) con medio Sivakumar se sembró un disco de agar micelio, la TCD se obtuvo midiendo el crecimiento de los micelios empleando una escuadra milimétrica cada 24 h durante 10 días. Se emplearon seis repeticiones por cada cepa aislada. El bioensayo se desarrolló en las condiciones de laboratorio descritas anteriormente. La TCD se calculó con la fórmula: $TCD = [(R1 - R0) / (T1 - T0) / n]$, donde n = número de evaluaciones, R1 y R2 fueron el crecimiento radial del hongo (mm) en los tiempos T1 y T2 en días (Baldrian y Gabriel 2002).

Actividad enzimática ligninolítica de cepas urbanas y rurales de *Ganoderma* spp.

Se determinaron las actividades de EL (lacasa, MnP y LiP) en la población urbana y ruderal de *Ganoderma* spp. Para ello, se preparó un extracto enzimático libre de micelio. Se extrajeron diez discos (6 mm de Ø) de micelio agar de cajas de Petri con 12 días de crecimiento. Los discos micelio-agar se colocaron en un tubo Falcon de 25 mL, se les adicionó 10 mL de ADE. Los tubos se agitaron en vórtex (Ika, modelo Vortex Genius 3, Staufen, Alemania) por cinco minutos, después el extracto resultante se filtró con papel Whatman No. 1 por succión en bomba de vacío. El filtrado resultante se utilizó para determinar la actividad enzimática ligninolítica (Arámbula-Zúñiga 2017). Todos los reactivos que se utilizaron en el presente estudio fueron de Sigma-Aldrich®, San Luis, Missouri, EUA.

Actividad de la lacasa

Se cuantificó por la oxidación de ABTS [ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)]. El volumen total de la mezcla de reacción fue de 1 mL, se le agregaron 500 µL de extracto enzimático, 400 µL de acetato de sodio como amortiguador (0.1 M, pH 4.5) y 100 µL de ABTS (5 mM). La oxidación del sustrato se monitoreó por tres minutos en un espectrofotómetro (Luzeren®, LS6, EUA) a una longitud de onda de 420 nm, una mezcla de reacción sin ABTS se empleó como testigo. Una unidad de actividad enzimática de lacasa se definió como la cantidad de la lacasa que oxida 1 µmol de sustrato (ABTS)/mL/min. La actividad de la lacasa se expresó como unidad de actividad volumétrica (U/L, Sunil et al. 2011).

Actividad de la manganeso peroxidasa (MnP)

Se cuantificó por la oxidación de Mn^{+2} a Mn^{+3} siguiendo la metodología descrita por Gleen y Gold (1983). La reacción se realizó en 1 mL conteniendo 0.2 % de rojo fenol (50 μ L), 50 μ L de lactato de sodio 25 mM, 50 μ L de $MnSO_4$ 2 mM, 0.1 % de albúmina de huevo (50 μ L), 50 μ L de succinato de sodio 50 mM a pH 4.5 y 700 μ L de extracto enzimático. La reacción comenzó al agregarle 50 μ L de H_2O_2 2 mM y se detuvo después de cinco minutos al adicionarle 50 μ L de NaOH 2 N. La absorbancia se leyó a 610 nm y se contrastó contra un testigo sin H_2O_2 en la mezcla de reacción. El coeficiente de extinción molar del rojo de fenol oxidado es de 22 mM/cm. Una unidad se definió como la cantidad de MnP necesaria para oxidar 1 μ mol de rojo fenol/mL/minuto. La actividad de la MnP se expresó como actividad enzimática volumétrica (U/L).

Actividad de la lignina peroxidasa

Se determinó por la oxidación de alcohol veratrílico a veratrilo aldehído a 310 nm. El volumen de la mezcla de reacción fue de 2.5 mL y estuvo compuesta de 1.8 mL de extracto enzimático, 0.1 mL de alcohol veratrílico 50 mM, 0.5 mL tartrato de sodio 0.5 M como amortiguador (pH 3.0) y 0.1 mL de H_2O_2 10 mM a temperatura ambiente. Se consideró una unidad de actividad enzimática como la cantidad de enzima que oxida un μ mol de alcohol veratrílico/mL/min. La actividad de la LiP se expresó como actividad enzimática volumétrica (U/L) (Magalhães et al. 1996).

Diseño experimental y análisis de datos

Cada población de *Ganoderma* spp. se consideró un grupo independiente para su análisis estadístico. Asimismo, cada cepa dentro de cada grupo se tomó en cuenta como un tratamiento. Cada población consistió en siete individuos (réplicas). Mientras que cada aislamiento en cada población se estableció con seis réplicas. La actividad enzimática (lacasa, MnP y LiP) entre las dos poblaciones de *Ganoderma* fue analizada a través de una comparación de medias t-Student con una $p = 0.05$. Mientras que, dentro de cada grupo, se realizó un análisis de varianza y una comparación de medias empleando la diferencia mínima significativa (DMS, $p \leq 0.05$) para determinar cuáles de las cepas de cada población (tratamiento: intragrupo) son estadísticamente mayores productoras de enzimas. Estos análisis se efectuaron con los *software* Statgraphics y Prism 3.0 para Windows (GraphPad® Software, San Diego, California, EUA).

Interacciones fúngicas y antagonismo

Se eligieron las tres cepas con mayor actividad de la lacasa de cada población y se realizaron interacciones fúngicas con tres cepas de *Trichoderma* spp. (T85, T98 y T99). Las cepas fueron obtenidas de la colección de hongos entomopatógenos y antagonistas de la Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad de Colima. Las tres cepas de *Trichoderma* spp. fueron aisladas de suelo de cultivo de melón (*Cucumis melo* L.) y fueron reactivadas en cajas de Petri con ADP. Se realizaron nueve interacciones en total con seis repeticiones cada una. Las interacciones se realizaron en medio Sivakumar, en el lado izquierdo de la caja de Petri se depositó un disco de micelio agar (6 mm de Θ) de la cepa de *Ganoderma* spp. y se dejó crecer por cuatro días. Por el lado contrario de la caja de Petri, se depositaron 5 μ L de una solución de conidiosporas de *Trichoderma* spp. (1×10^7 conidiosporas/mL) en agua con Tween® al 0.05 %. Para realizar la solución de conidiosporas, se raspó la superficie de una colonia de *Trichoderma* spp. en caja de Petri con ADP agregando 10 mL de ADE con Tween 80 al 0.05 %, el producto se filtró a través de una gasa en un tubo cónico estéril (50 mL) para separar las conidiosporas del micelio y ADP. La concentración de conidiosporas se contabilizó en una cámara de Neubauer en microscópico invertido a 40X, la concentración requerida se ajustó con la fórmula $C_1V_1 = C_2V_2$. Las confrontaciones se incubaron por siete días en condiciones de laboratorio como se describió anteriormente.

Se determinó la capacidad de antagonismo de cada cepa utilizando la escala propuesta por Badalyan et al. (2004). Se establecieron tres tipos principales de interacciones (A, B, C) y cuatro subtipos (C_{A1} , C_{B1} , C_{A2} y C_{B2}), estos corresponden a: A = bloqueo al contacto en donde existe una inhibición mutua, en la que ninguna especie es capaz de crecer sobre la otra; B = bloqueo a distancia sin contacto micelial, en la que ambas especies se mantienen alejadas; C = reemplazo o sobrecrecimiento sin bloqueo inicial, en la que una especie es capaz de desplazar a otra por crecimiento micelial; C_{A1} = reemplazo parcial después del bloqueo al contacto, luego de una inhibición mutua, una especie es capaz de reemplazar a la otra; C_{A2} = reemplazo completo después del bloqueo al contacto, en la que una especie reemplaza completamente a otra después de un bloqueo al contacto; C_{B1} = reemplazo parcial después del bloqueo a distancia, en la que una especie es capaz de reemplazar a la otra luego de un bloqueo a distancia; C_{B2} = reemplazo completo después del bloqueo a distancia, en la que una especie es capaz de reemplazar completamente a otra después de un claro bloqueo a distancia.

De acuerdo con Badalyan et al. (2002), cada uno de los tipos y de los subtipos de interacción tiene un valor asignado de: A = 1, B = 2, C = 3, C_{A1} = 3.5, C_{B1} = 4, C_{A2} = 4.5, C_{B2} = 5. Con ello se calculó el índice de antagonismo (IA) para cada cepa utilizando la ecuación: IA = A (n × 2) + B (n × 2) + C (n × 3) + C_{A1} (n × 3.5) + C_{B1} (n × 4) + C_{A2} (n × 4.5) + C_{B2} (n × 5). Donde n = número (frecuencia) de cada tipo o subtipo de interacción.

Cuantificación de la actividad de EL en las interacciones.

Se cuantificó la actividad de la lacasa, MnP y LiP en cada una de las interacciones (tratamientos), como se describió anteriormente. Para la preparación del extracto enzimático, se tomaron los discos de micelio agar en el margen de la interacción de los micelios de ambas cepas.

Análisis de datos

Los datos de las actividades enzimáticas se analizaron mediante una comparación t-Student (p=0.05) entre la interacción *Ganoderma* spp. - *Trichoderma* spp. y el monocultivo de *Ganoderma* spp. Los análisis se realizaron con el software Statgraphics y Prism 3.0 para Windows (GraphPad® Software, San Diego, California, EUA).

RESULTADOS

Actividad enzimática y TCD de cepas ruderales de *Ganoderma* spp.

La actividad de la lacasa osciló entre 0.07 y 6.64 U/L en la población ruderal. Las cepas 4R y 5R de

Ganoderma spp. registraron la actividad más alta (F = 13.83, p = 0.00001) con 6.64 y 6.39 U/L, respectivamente (**Cuadro I**). Por el contrario, las cepas 1R (0.49 U/L), 3R (0.07 U/L), 7R (0.98 U/L) y 8R (0.31 U/L) presentaron los valores más bajos de actividad de la lacasa. Para la MnP, únicamente tres cepas mostraron actividad. Ésta fluctuó entre 0.34 y 1.15 U/L. Con la cepa 1R (1.15 U/L) se obtuvo la mayor actividad de la MnP (F = 3.58 y p = 0.0534) en comparación con la cepa 4R (0.34 U/L). La actividad de la LiP osciló de 6.93 hasta 9.95 U/L. Las actividades más altas se observaron en las cepas 5R, 7R, 8R y 9R (F = 5.81 y p = 0.0003) con valores de 9.08, 8.93, 9.43 y 9.95 U/L, respectivamente. Estos valores resultaron significativamente diferentes a los de las cepas con actividad más baja: 1R, 3R y 4R con 7.15, 7.09 y 6.93 U/L, respectivamente (**Cuadro I**). Para la TCD, las cepas 1R y 5R (F = 61.83 y p = 0.00001) mostraron el mayor valor con 0.91 y 0.92 cm/día, respectivamente (**Cuadro I**), mientras que el resto de las cepas evaluadas oscilaron entre 0.47 y 0.42 cm/día.

Actividad enzimática y TCD de cepas urbanas de *Ganoderma* spp.

La actividad de la lacasa osciló entre 0.03 y 4.16 U/L en la población urbana de *Ganoderma* spp. La cepa 18C registró la actividad más alta (F = 155.26 y p=0.0000) con 4.16 U/L (**Cuadro II**). Por el contrario, las cepas 9C y 10C presentaron las actividades más bajas con 0.03 y 0.06 U/L, respectivamente. Para la MnP, sólo seis de las siete cepas mostraron actividad, la cual fluctuó de 0.81 a 13.99 U/L. Las cepas 2C (13.6 U/L) y 7C (13.9 U/L) mostraron la mayor

CUADRO I. ACTIVIDADES ENZIMÁTICAS LIGNINOLÍTICAS Y TASA DE CRECIMIENTO DIARIO (TCD) DE CEPAS DE *Ganoderma* spp. AISLADAS DE UN AMBIENTE RUDERAL.

Cepas (R)	Lacasa (U/L)	MnP (U/L)	LiP (U/L)	TCD (cm/día)
1R	0.49±0.16 c	1.15±0.32 a	7.15±0.33 c	0.91±0.009 a
3R	0.07±0.00 c	0.67±0.15 ab	7.09±0.17 c	0.62±0.032 c
4R	6.64±1.24 a	0.34±0.09 b	6.93±0.07 c	0.72±0.032 b
5R	6.39±0.84 a	-	9.08±1.16 ab	0.92±0.007 a
7R	0.98±0.25 c	-	8.93±1.41 ab	0.47±0.027 d
8R	0.31±0.08 c	-	9.43±0.66 ab	0.48±0.032 d
9R	3.90±1.40 b	-	9.95±1.26 a	0.52±0.011 d
F*	13.83	3.58	2.02	61.83
p*	0.00001	0.0534	0.0896	0.00001

Medias (± error estándar) con diferente letra en una columna son significativamente diferentes entre sí (DMS, p ≤ 0.05, n = 6), MnP = manganeso peroxidasa, LiP = lignina peroxidasa, F* = prueba de Fisher y p* = probabilidad.

CUADRO II. ACTIVIDADES ENZIMÁTICAS LIGNINOLÍTICAS Y TASA DE CRECIMIENTO DIARIO (TCD) DE CEPAS DE *Ganoderma* spp. AISLADAS DE UN AMBIENTE URBANO.

Cepa (C)	Lacasa (U/L)	MnP (U/L)	LiP (U/L)	TCD (cm/día)
1C	0.71±0.104 c	5.43±0.141 b	1.15±0.193 c	2.09±0.009 b
2C	0.78±0.165 c	13.66±0.282 a	-	1.59±0.070 c
7C	1.12±0.228 c	13.99±0.117 a	0.36±0.119 d	1.96±0.114 b
8C	3.214±0.297 b	1.54±0.169 d	2.29±0.120 a	1.68±0.057 c
9C	0.03±0.007 d	0.81±0.153 e	-	2.17±0.104 b
10C	0.06±0.006 d	2.24±0.390 c	0.56±0.097 d	2.46±0.058 a
18C	4.16±0.070 a	-	1.70±0.122 b	2.07±0.048 b
F*	96.77	691.32	35.33	15.80
p*	0.00001	0.00001	0.00001	0.00001

Medias (± error estándar) con diferente letra en una columna son significativamente diferentes entre sí (DMS, $p \leq 0.05$, $n = 6$), MnP = manganeso peroxidasa, LiP = lignina peroxidasa, F* = prueba de Fisher y p* = probabilidad.

actividad enzimática ($F=691.32$ y $p = 0.0000$) en comparación con el resto de las cepas aisladas, cuyos valores oscilaron de 0.81 y 5.43 U/L (**Cuadro II**). Para la LiP, únicamente cinco de las siete cepas urbanas presentaron actividad, la cual fue de 0.36 hasta 2.29 U/L. La más alta se observó en la cepa 8C (2.29 U/L, $F = 35.33$ y $p = 0.0000$), mientras que las más bajas se encontraron en las cepas 7C (0.36 U/L) y 10C (0.56 U/L, **Cuadro II**). Para la TCD, el valor más alto se registró para la cepa 10C ($F = 15.80$ y $p = 0.0000$) con 2.46 cm/día (**Cuadro II**); por el contrario, las cepas con menor TCD fueron la 2C y la 8C con 1.59 y 1.68 cm/día, respectivamente. Por lo que la cepa 10C creció 1.5 veces más rápido que las cepas 2C y 8C.

Comparación inter grupos

La actividad de la lacasa entre las dos poblaciones de *Ganoderma* (ruderal = 2.69 U/L y urbana = 1.43 U/L) no presentó diferencia estadística significativa (t -Student = 1.0018, $p = 0.1712$, **Cuadro III**). Por el contrario, la actividad de la MnP (t -Student = -2.2036, $p = 0.0393$) y la LiP (t -Student = 11.96, $p = 1.50E^{-07}$) en las cepas de la población ruderal fue mayor en comparación con las cepas aisladas en el ambiente urbano; para la MnP y la LiP la actividad enzimática en las cepas ruderales fue de 8.22 y 8.36 U/L, respectivamente. Por otra parte, las cepas aisladas de la urbanidad exhibieron valores más bajos con 6.28 y 1.21 U/L para la MnP y la LiP, respectivamente. La TCD (t -Student = -10.03, $p = 7.69E^{-07}$) de la población aislada de la ciudad (2.0 cm/día) fue estadísticamente mayor a la aislada del ambiente ruderal (0.66 cm/día).

CUADRO III. ACTIVIDADES ENZIMÁTICAS (U/L) Y TASA DE CRECIMIENTO DIARIO (TCD) EN cm/día DE AISLAMIENTOS DE *Ganoderma* spp. DE DOS AMBIENTES DIFERENTES.

Variable	Ruderal	Ciudad	t-Student	p-valor
Lacasa	2.69	1.43	1.0018	0.1712 ^{ns}
MnP	8.22	6.28	-2.2036	0.0393*
LiP	8.36	1.21	11.96	1.50E-07***
TCD	0.66	2.0	-10.03	7.69E-07***

MnP = manganeso peroxidasa, LiP = lignina peroxidasa, TCD = tasa de crecimiento diario, ^{ns} = no significativo, * = significativo, *** = altamente significativo (DMS, $p \leq 0.05$, $n = 6$) y U/L = unidades internacionales por litro.

Interacciones fúngicas entre las cepas ruderales de *Ganoderma* spp. y *Trichoderma* spp.

La **figura 1** y el **cuadro IV** muestran los resultados de las interacciones fúngicas entre las cepas ruderales de *Ganoderma* spp. y *Trichoderma* spp. La cepa 4R mostró el mayor IA con 10.5, mientras que las cepas 5R y 9R obtuvieron valores 3.0 y 5.5, respectivamente. La interacción más común entre estos dos géneros fue la inhibición o bloqueo al contacto, mientras que la segunda interacción más común fue el reemplazo parcial después de una inhibición al contacto. Por lo tanto, *Trichoderma* puede detener y reemplazar a *Ganoderma* bajo las condiciones de estudio. Por ejemplo, *Ganoderma* sp. 4R es reemplazado parcialmente por *Trichoderma* sp. T98 (**Fig. 1**).

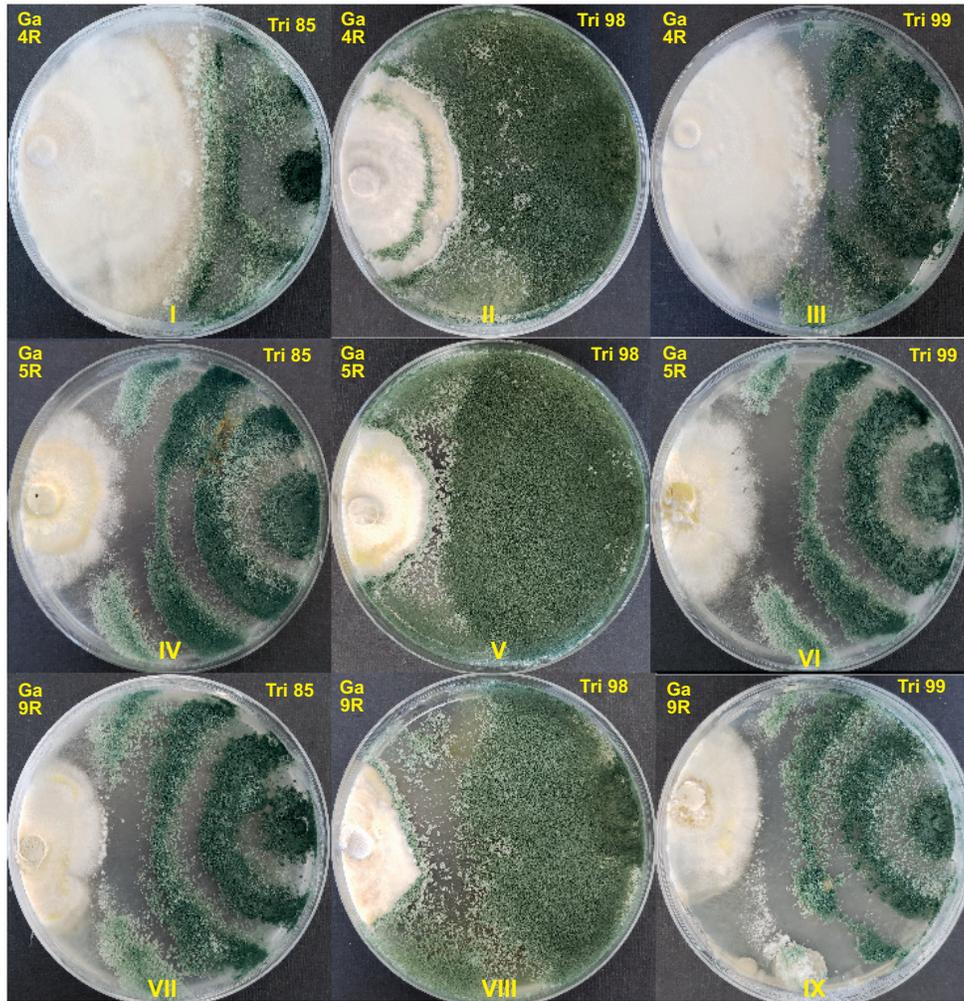


Fig. 1. Tipos de interacciones entre tres cepas de *Ganoderma* spp. aisladas de un ambiente ruderal, con diferentes cepas *Trichoderma* spp.: I) reemplazo parcial después de una inhibición al contacto entre *Ganoderma* sp. 4R y *Trichoderma* sp. 85, II) reemplazo parcial luego de una inhibición al contacto entre *Ganoderma* sp. 4R y *Trichoderma* sp. 98, III) reemplazo parcial después de una inhibición al contacto entre *Ganoderma* sp. 4R y *Trichoderma* sp. 99, IV) bloqueo al contacto entre *Ganoderma* sp. 5R y *Trichoderma* sp. 85, V) bloqueo al contacto entre *Ganoderma* sp. 5R y *Trichoderma* sp. 98, VI) bloqueo al contacto entre *Ganoderma* sp. 5R y *Trichoderma* sp. 99, VII) bloqueo al contacto entre *Ganoderma* sp. 9R y *Trichoderma* sp. 85, VIII) bloqueo al contacto entre *Ganoderma* sp. 9R y *Trichoderma* sp. 98 y IX) reemplazo parcial luego de una inhibición al contacto entre *Ganoderma* sp. 9R y *Trichoderma* sp. 99.

CUADRO IV. ÍNDICE DE ANTAGONISMO ENTRE CEPAS RUDERALES DE *Ganoderma* SPP. Y CEPAS DE *Trichoderma* spp.

<i>Ganoderma</i> spp.	<i>Trichoderma</i> spp.			IA
	85	98	99	
4R	C _{A1}	C _{A1}	C _{A1}	10.5
5R	A	A	A	3
9R	A	A	C _{A1}	5.5

IA = índice de antagonismo, A = inhibición al contacto, C_{A1} = reemplazamiento parcial después de una inhibición al contacto.

Interacciones fúngicas entre las cepas urbanas de *Ganoderma* spp. y *Trichoderma* spp.

La figura 2 y el cuadro V muestran los resultados de las interacciones fúngicas entre las cepas urbanas de *Ganoderma* spp. y *Trichoderma* spp. La cepa 7C obtuvo el mayor IA con 8.0, mientras que las cepas 8C y 18C tuvieron, ambas, valores 5.5. La interacción más común entre estos dos géneros fue la inhibición o bloqueo al contacto, mientras que la segunda interacción más común fue el reemplazo parcial después de una inhibición

al contacto. Por lo tanto, *Trichoderma* sp. puede detener y reemplazar a *Ganoderma* spp. bajo las condiciones de estudio (Fig. 2).

Actividad enzimática ligninolítica de las cepas ruderales de *Ganoderma* spp. en interacción con *Trichoderma* spp.

Las tres cepas ruderales de *Ganoderma* spp. dispuestas en interacción con tres cepas de *Trichoderma* spp., no incrementaron la actividad de la lacasa (Cuadro VI). Por otra parte, las cepas 4R y 9R de

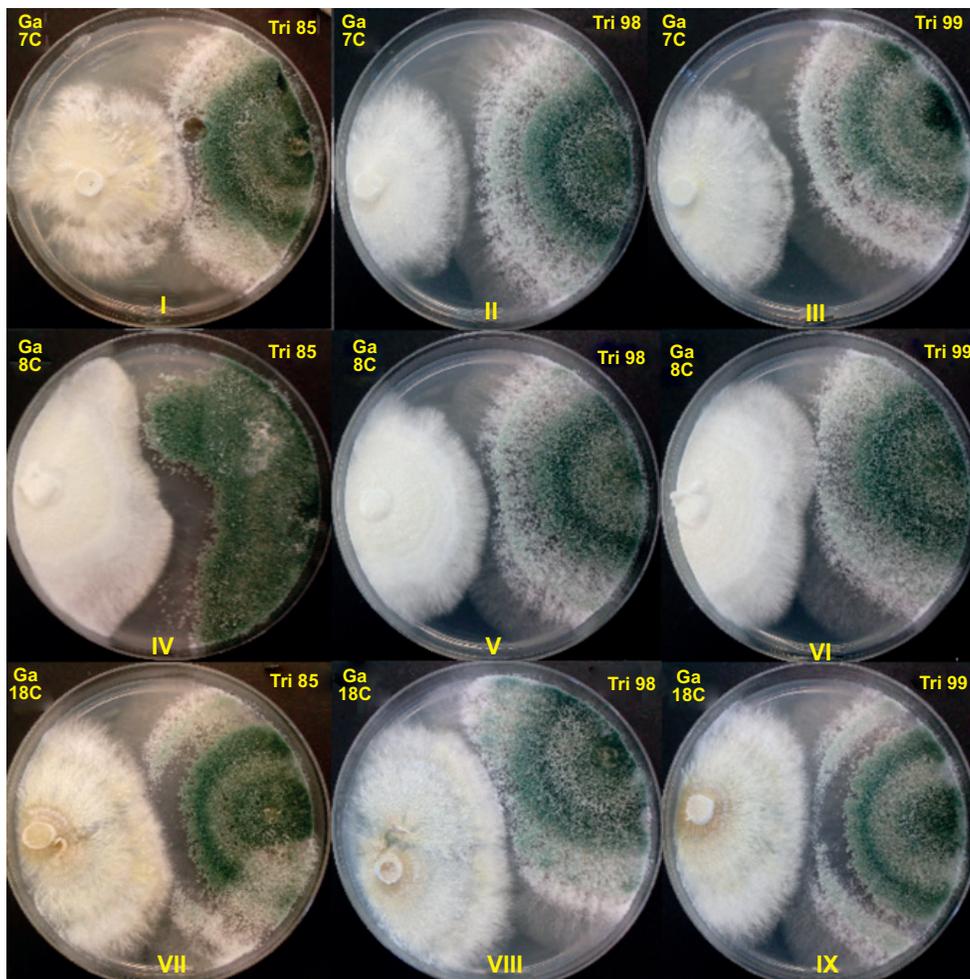


Fig. 2. Tipos de interacciones entre tres cepas de *Ganoderma* spp. aisladas de un ambiente urbano con cepas *Trichoderma* spp.: I) reemplazo parcial después de una inhibición al contacto entre *Ganoderma* sp. 7C y *Trichoderma* sp. 85, II) bloqueo al contacto entre *Ganoderma* sp. 7C y *Trichoderma* sp. 98 III) reemplazo parcial luego de una inhibición al contacto entre *Ganoderma* sp. 7C y *Trichoderma* sp. 99, IV) bloqueo al contacto entre *Ganoderma* sp. 8C y *Trichoderma* sp. 85, V) bloqueo al contacto entre *Ganoderma* sp. 8C y *Trichoderma* sp. 98, VI) reemplazo parcial después de una inhibición al contacto entre *Ganoderma* sp. 8C y *Trichoderma* sp. 99, VII) bloqueo al contacto entre *Ganoderma* sp. 18C y *Trichoderma* sp. 85, VIII) reemplazo parcial luego de una inhibición al contacto entre *Ganoderma* sp. 18C y *Trichoderma* sp. 98 y IX) bloqueo al contacto entre *Ganoderma* sp. 18C y *Trichoderma* sp. 99.

CUADRO V. ÍNDICE DE ANTAGONISMO ENTRE CEPAS URBANAS DE *Ganoderma* spp. Y CEPAS DE *Trichoderma* spp.

<i>Ganoderma</i> spp.	<i>Trichoderma</i> spp.			IA
	85	98	99	
7C	C _{A1}	A	C _{A1}	8.0
8C	A	A	C _{A1}	5.5
18C	A	C _{A1}	A	5.5

IA= índice de antagonismo, A=inhibición al contacto, C_{A1}=reemplazamiento parcial después de una inhibición al contacto.

Ganoderma spp. cuando crecen en monocultivo no presentaron actividad de MnP. Sin embargo, cuando se disponen en interacción con *Trichoderma* spp., las cepas de *Ganoderma* spp. tienen actividad de MnP. Las actividad de la MnP en la cepa 4R dispuesta en interacción con las cepas de *Trichoderma* spp. 85, 98 y 99, fue de 7.21, 25.81 y 3.95 U/L, respectivamente. Mientras que en la cepa 9R en interacción con *Trichoderma* spp., la actividades de la MnP fue de 3.48, 11.48 y 4.54 U/L, respectivamente. Mientras que para la cepa 5R de *Ganoderma* spp., las tres cepas de

Trichoderma spp. fueron capaces de incrementar la actividad de la MnP, los aumentos oscilaron de 1.54 a 30.01 veces más. Particularmente, la cepa *Trichoderma* sp. T98 provocó un incremento mayor en la actividad de la MnP en las tres cepas de *Ganoderma* spp. evaluadas.

Respecto a la LiP, *Ganoderma* sp. 4R incrementó ligeramente su actividad enzimática cuando se dispuso en interacción con las tres cepas de *Trichoderma* spp., los incrementos fueron de 0.17, 0.51 y 0.14 veces más, en las cepas T85, T98 y T99 de *Trichoderma*, respectivamente. Para *Ganoderma* sp. 5R, únicamente la cepa T98 de *Trichoderma* sp. logró incrementar la actividad de la LiP en 0.13 veces más. Finalmente, la cepa 9R no aumentó la actividad de la LiP por efecto de sus interacciones con *Trichoderma* spp.

Actividad enzimática ligninolítica de cepas urbanas de *Ganoderma* spp. en interacción con *Trichoderma* spp.

La actividad de la lacasa de las tres cepas urbanas de *Ganoderma* sp. en interacción con tres cepas de *Trichoderma* sp. se incrementó ligeramente (**Cuadro VII**). La cepa 7C de *Ganoderma* sp. incrementó la actividad de la lacasa entre 1.14 (*Trichoderma* T99) y 1.83

CUADRO VI. ACTIVIDADES ENZIMÁTICAS LIGNINOLÍTICAS EN INTERACCIONES ENTRE CEPAS RUDERALES DE *Ganoderma* spp. Y *Trichoderma* spp.

Interacciones	Lacasa (U/L)	Incremento	MnP (U/L)	Incremento	LiP (U/L)	Incremento
<i>Gan.</i> 4R	6.64±1.239 a	-	NP	-	6.93±0.076 c	-
<i>Gan.</i> 4R - <i>Tri.</i> 85	2.21±0.260 b	NI	7.21±3.103 b	7.21	8.11±0.691 b	0.17
<i>Gan.</i> 4R - <i>Tri.</i> 98	1.91±0.236 b	NI	25.81±0.221 a	25.81	10.51±0.051 a	0.51
<i>Gan.</i> 4R - <i>Tri.</i> 99	1.52±0.220 b	NI	3.95±0.610 bc	3.95	7.92±0.352 bc	0.14
F*	6.41	-	52.01	-	24.90	-
p*	0.0007*	-	0.00001*	-	0.0009*	-
<i>Gan.</i> 5R	6.39±0.824 a	-	0.64±0.309 b	-	9.08±1.168 b	-
<i>Gan.</i> 5R - <i>Tri.</i> 85	1.93±0.0333 b	NI	1.63±0.388 b	1.54	7.78±0.044 c	NI
<i>Gan.</i> 5R - <i>Tri.</i> 98	2.34±0.076 b	NI	19.85±1.294 a	30.01	10.33±0.198 a	0.13
<i>Gan.</i> 5R - <i>Tri.</i> 99	2.63±0.388 b	NI	2.45±0.578 b	2.82	6.90±0.090 c	NI
F*	10.18	-	192.13	-	1.87	-
p*	0.0010*	-	0.00001*	-	0.00001*	-
<i>Gan.</i> 9R	3.90±1.409 a	-	NP	-	9.54±0.418 a	-
<i>Gan.</i> 9R - <i>Tri.</i> 85	2.40±0.284 a	NI	3.48±1.110 b	3.48	7.51±0.114 bc	NI
<i>Gan.</i> 9R - <i>Tri.</i> 98	2.31±0.111 a	NI	11.48±2.047 a	11.48	8.35±0.489 b	NI
<i>Gan.</i> 9R - <i>Tri.</i> 99	1.41±0.619 a	NI	4.54±1.590 b	4.54	7.15±0.225 c	NI
F*	0.84	-	11.66	-	9.33	-
p*	0.1938	-	0.0027*	-	0.0055*	-

Medias (± error estándar) con diferente letra en una columna son significativamente diferentes (DMS, p ≤ 0.05, n = 6), MnP = manganeso peroxidasa, LiP = lignina peroxidasa, F* = prueba de Fisher, p* = probabilidad, * = valor significativo, NP = no presentó, NI = no incrementó, Gan = *Ganoderma* spp. y Tri = *Trichoderma* spp. U/L = unidades internacionales por litro.

CUADRO VII. ACTIVIDADES ENZIMÁTICAS LIGNINOLÍTICAS EN INTERACCIONES ENTRE CEPAS URBANAS DE *Ganoderma* spp. Y *Trichoderma* spp.

Interacciones	Lacasa (U/L)	Incremento	MnP (U/L)	Incremento	LiP (U/L)	Incremento
<i>Gan.</i> 7C	1.12±0.228 b	-	13.99±0.177 b	-	0.36±0.119 c	-
<i>Gan.</i> 7C - <i>Tri.</i> 85	2.85±0.488 a	1.54	1.30±0.182 d	NI	22.91±0.758 a	62.68
<i>Gan.</i> 7C - <i>Tri.</i> 98	3.17±0.218 a	1.83	7.70±2.111 c	NI	0.80±0.203 bc	1.22
<i>Gan.</i> 7C - <i>Tri.</i> 99	2.40±0.467 a	1.14	17.39±0.980 a	0.24	1.97±0.903 b	4.47
F*	8.86	-	54.26	-	475.57	-
P*	0.0028*	-	0.00001*	-	0.00001*	-
<i>Gan.</i> 8C	3.14±0.297 a	-	1.54±0.169 c	-	2.29±0.120 a	-
<i>Gan.</i> 8C - <i>Tri.</i> 85	3.42±0.744 a	0.08	5.44±0.316 a	2.53	1.43±0.154 b	NI
<i>Gan.</i> 8C - <i>Tri.</i> 98	3.44±0.229 a	0.09	0.89±0.517 c	NI	2.32±0.201 a	0.01
<i>Gan.</i> 8C - <i>Tri.</i> 99	3.69±0.857 a	0.17	3.77±0.776 b	1.44	0.86±0.404 b	NI
F*	0.22	-	24.01	-	10.77	-
P*	0.8804	-	0.00001*	-	0.0013*	-
<i>Gan.</i> 18C	4.16±0.070 b	-	NP	-	1.70±0.122 a	-
<i>Gan.</i> 18C - <i>Tri.</i> 85	5.67±0.500 a	0.36	0.89±0.508 ab	0.89	0.56±0.117 b	NI
<i>Gan.</i> 18C - <i>Tri.</i> 98	6.21±0.283 a	0.49	1.06±0.093 a	1.06	1.79±0.0109 a	0.05
<i>Gan.</i> 18C - <i>Tri.</i> 99	5.86±0.453 a	0.40	1.06±0.093 a	1.06	0.65±0.151 b	NI
F*	12.61	-	6.29	-	22.78	-
p*	0.0007*	-	0.0097*	-	0.0001*	-

Medias (± error estándar) con diferente letra en una columna son significativamente diferentes (DMS, $p \leq 0.05$, $n = 6$), MnP = Manganeso peroxidasa, LiP = lignina peroxidasa, F* = prueba de Fisher, p* = probabilidad, * = valor significativo, NP = no presentó, NI = no incrementó, Gan = *Ganoderma* spp. y Tri = *Trichoderma* spp. U/L = unidades internacionales por litro.

(*Trichoderma* T85) veces más en las interacciones fúngicas. Mientras que las cepas 8C y 18C de *Ganoderma* spp. tuvieron incrementos más bajos por efecto de las interacciones con *Trichoderma* spp., que oscilaron entre 0.08-0.17 y 0.36-0.49 veces más, respectivamente. La actividad de la MnP de la cepa 7C de *Ganoderma* sp., únicamente se incrementó (0.24 veces más) cuando se dispuso en interacción con *Trichoderma* sp. 99; mientras que, para la cepa 8C de *Ganoderma* sp., la actividad se incrementó 2.53 y 1.44 veces más por efecto de las interacciones con *Trichoderma* spp. T85 y T99, respectivamente. Por otra parte, la cepa 18C de *Ganoderma* sp. no presentó actividad de MnP cuando creció en monocultivo, sin embargo, las cepas de *Trichoderma* sp. indujeron la actividad de esta enzima en un rango de 0.89 (*Trichoderma* sp. 85) a 1.06 (*Trichoderma* sp. 98) veces más.

La actividad la LiP de *Ganoderma* sp. 7C se incrementó en las tres interacciones con *Trichoderma* sp., los valores fueron de 62.68, 1.22 y 4.47 veces más en las cepas T85, T98 y T99, respectivamente. Mientras que en las cepas 8C y 18C de *Ganoderma* sp, únicamente se encontró un ligero incremento por efecto de la interacción con *Trichoderma* sp. 98, el cual fue de 0.01 y 0.05 veces más, respectivamente.

DISCUSIÓN

En el presente estudio se puso a prueba la hipótesis de que la población urbana de aislados de *Ganoderma* spp., posee mayor actividad enzimática ligninolítica en comparación con la población ruderal, esta hipótesis se rechaza, ya que la población ruderal presentó mayor actividad de MnP y LiP, e igual actividad de lacasa. Una de las razones que podrían favorecer la habilidad para producir en mayor cantidad enzimas ligninolíticas en la población ruderal, es su exposición a estresores ambientales como los agroquímicos, los cuales se encuentran ampliamente distribuidos en los ambientes ruderales (Chaves-Bedoya et al. 2013). Uno de los principales estresores en hongos de la pudrición blanca (basidiomicetos) son los herbicidas, los cuales son persistentes en el suelo (Maciel et al. 2013). Al respecto, Maganhotto et al. (2004) reportaron que el herbicida propanil inhibió el crecimiento de la biomasa de *Ganoderma* spp., así como las actividades enzimáticas LiP y lacasa, pero al mismo tiempo incrementó la actividad de la MnP a los 13 días de cultivo.

Otras investigaciones demuestran que los herbicidas pueden incrementar satisfactoriamente la producción de enzimas ligninolíticas de los hongos de la pudrición blanca. Al respecto, Maciel et al.

(2013) observaron el aumento en la actividad de la lacasa de *Trametes* sp. luego de estar siete días en contacto con el herbicida picloram. En otros estudios, da Silva et al. (2010a), da Silva et al. (2010b) y da Silva et al. (2018), indicaron que *Ganoderma* spp. incrementa su actividad enzimática ligninolítica cuando está en contacto con los herbicidas bentazón y diuron. La biomasa de *G. lucidum* se redujo considerablemente cuando se incrementó la concentración de diuron (0-100 mM) y bentazón (0-25 mM) en el medio de cultivo. El estrés por bentazón en el hongo incrementó fuertemente la actividad de la lacasa (> 7 veces más) y no tuvo efecto sobre la de la MnP de *G. lucidum*. Mientras que el diuron incrementó fuertemente la actividad lacasa y MnP (> 7 veces, da Silva et al. 2010a).

En otro estudio, Chan-Cupul et al. (2014) evaluaron el efecto estresor de la atrazina (herbicida) en especies de hongos de la pudrición blanca, a diferencia de *Cymatoderma elegans* y *Pleurotus* sp. cepa 1, los especímenes *Pleurotus* sp. cepa 2, *Daedalea elegans* y *Pycnoporus sanguineus* inhibieron fuertemente su TCD cuando se cultivaron con 468 ppm de atrazina. Asimismo, se encontraron incrementos en la actividad de la lacasa por arriba de 1.5 veces en *P. sanguineus*. Los especímenes estudiados poseen alta actividad enzimática en cultivos axénicos, p. e. *Trametes maxima* (> 25 U/mg proteína), *D. elegans* (> 25 U/mg de proteína) y *P. sanguineus* (> 50 U/mg proteína), estas especies fueron aisladas de zonas ruderales con presencia de perturbación antrópica-agropecuaria.

Por otra parte, el género *Ganoderma* spp. tiene características ecológicas versátiles al poseer un hábito saprobio y fitopatógeno; algunas especies son de interés para su control biológico con hongos antagonistas como especies del género *Trichoderma* (Naher et al. 2012b, Sundram 2013a, Sundram 2013b). Sin embargo, en la bibliografía científica hay pocas investigaciones sobre el efecto de esas interacciones en la actividad enzimática ligninolítica de los géneros en cuestión, por lo tanto, el presente estudio representa una contribución al tema.

En cuanto a las interacciones de estos dos géneros, Badalyan et al. (2004) indicaron que *Ganoderma* spp. posee habilidad para enfrentar a *Trichoderma* spp. como micoparásito. En interacciones duales los autores observaron una inhibición al contacto, un reemplazo completo después del bloqueo al contacto y un reemplazo parcial después del bloqueo al contacto cuando *Ganoderma* sp. interactuó con *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma pseudokoningii* y *Trichoderma viride*, respectivamente, en todos los casos

Ganoderma sp. fue quien reemplazó a *Trichoderma* spp. En todas ellas *Ganoderma* sp. fue capaz de frenar y crecer sobre las especies de *Trichoderma*. En otro estudio, Badalyan et al. (2002) evaluaron interacciones fúngicas entre *G. lucidum* y cuatro hongos fitopatógenos: *Gaeumannomyces graminis* var. *Tritici*, *Bipolaris sorokiniana*, *Fusarium culmorum* y *Rhizoctonia cerealis*, los tipos de interacción observados fueron reemplazo completo después de un bloqueo al contacto (C_{A2}), reemplazo completo luego de un bloqueo al contacto (C_{A2}), reemplazo completo después de un bloqueo al contacto (C_{A2}) y reemplazo parcial luego de un bloqueo al contacto (C_{A1}), respectivamente. De nuevo, *G. lucidum* fue capaz de frenar y reemplazar a los hongos fitopatógenos filamentosos. Este resultado es similar a lo observado en las interacciones realizadas en este estudio, es decir, *Ganoderma* es un género de hongos versátiles y dominantes (difíciles de reemplazar). Los resultados de las interacciones evaluadas refuerzan el rechazo de la hipótesis planteada, ya que *Ganoderma* no fue reemplazado por *Trichoderma*, en su caso, sólo se observaron reemplazos parciales.

En un estudio previo, Chan-Cupul et al. (2018) reportaron que la inhibición al contacto es la principal interacción entre *P. sanguineus* y *T. maxima* y ocho hongos microscópicos de suelo. Destacando que *Trichoderma* sp. fue capaz de reemplazar parcialmente después de una inhibición al contacto a *P. sanguineus* (C_{A1}). Mientras que *T. maxima* fue reemplazado completamente después de un bloqueo a distancia por *Trichoderma* sp. (C_{B2}). Estos resultados son contrarios a los de la presente investigación porque *Ganoderma* spp. no pudo ser reemplazado completamente por *Trichoderma* spp. Posiblemente existan muchos factores bioquímicos que juegan un rol en la interacción entre estos dos géneros, tales como metabolitos secundarios, esteroides, enzimas ligninolíticas, enzimas quitinolíticas y peróxido de hidrógeno (Moreno et al. 2011, Naher et al. 2012a, Baby et al. 2015). Al mismo tiempo, no hay que dejar de tras los factores ecológicos implicados en este tipo de interacciones, ya que, tanto *Ganoderma* spp. como *Trichoderma* spp. son hongos saprobios que están implicados en la degradación de materia orgánica, entre ellos los componentes de la lignina como la celulosa y la hemicelulosa (Boddy y Hiscox 2016).

CONCLUSIONES

Las poblaciones ruderal y urbana de *Ganoderma* spp. Presentan la misma actividad de la lacasa,

pero con diferentes actividades de LiP y MnP, la población ruderal posee mayor actividad de MnP y LiP. Sin embargo, la población urbana posee mayor TCD que la ruderal en 2.03 veces más. El 55.5 por ciento de las interacciones entre *Ganoderma* spp. y *Trichoderma* spp. fueron el bloqueo al contacto micelial. Sólo en una interacción el micoparásito *Trichoderma* spp. claramente fue capaz de reemplazar parcialmente a *Ganoderma* spp. bajo las condiciones de estudio. Las cepas ruderales no intensificaron la actividad de la lacasa en las interacciones con *Trichoderma* spp., sin embargo, las enzimas MnP y LiP se elevaron de 1.54 a 30.01 y de 0.13 a 0.51 veces, respectivamente, por efecto de la interacción. Las cepas aisladas del ambiente urbano incrementaron de 0.17 a 1.83 veces la actividad de la lacasa cuando interactuaron con *Trichoderma* spp. La actividad de MnP y LiP de las interacciones entre *Ganoderma* spp. y *Trichoderma* spp. aumentó 2.53 y 62.68 veces, respectivamente.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a UC-MEXUS (Instituto para México y los Estados Unidos de la Universidad de California, EUA) por el financiamiento del proyecto “Mechanism of increasing ligninolytic enzymes activities of fungal co-cultures between white-rot fungi and soil borne micromycetes”, del cual derivó la presente investigación.

REFERENCIAS

- Arámbula-Zúñiga C.C. (2017). Interacciones interespecíficas entre hongos de la pudrición blanca y microscópicos de suelo: estrategia para incrementar la producción de enzimas ligninolíticas. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Colima, Tecmán, Colima, México, 62 pp.
- Baby S., Johnson A.J. y Govindan B. (2015). Secondary metabolites from *Ganoderma*. *Phytochemistry* 114 (1), 66-101. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2015.03.010>
- Badalyan S.M., Innocenti G. y Garibyan N.G. (2002). Antagonistic activity of xylotrophic mushrooms against pathogenic fungi of cereals in dual culture. *Phytopathologia Mediterranea* 41 (3), 200-225. https://doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-1668
- Badalyan S.M., Innocenti G. y Garibyan N.G. (2004). Interactions between xylotrophic mushrooms and mycoparasitic fungi in dual-culture experiments. *Phytopathologia Mediterranea* 43 (1), 44-48. https://doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-1733
- Boddy L. y Hiscox J. (2016). Fungal ecology: Principles and mechanisms of colonization and competition by saprotrophic fungi. *Microbiology Spectrum* 4 (6), 1-16. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.FUNK-0019-2016>
- Bader J., Mast-Gerlach E., Popovic M. K., Bajpai R. y Stahl U. (2010). Relevance of microbial coculture fermentations in biotechnology. *Journal of Applied Microbiology* 109 (2), 371-387. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04659.x>
- Baldrian P. y Gabriel J. (2002). Intraspecific variability in growth response to cadmium of the wood-rotting fungus *Piptoporus betulinis*. *Micologia* 94 (3), 428-436. <https://doi.org/10.1080/15572536.2003.11833208>
- Chan-Cupul W., Heredia-Abarca G., Rodríguez-Vázquez R., Salmones D., Gaitán-Hernández R. y Alarcón-Gutiérrez E. (2014). Response of ligninolytic macrofungi to the herbicide atrazine: dose-response bioassays. *Revista Argentina de Microbiología* 46 (4), 348-357. [https://doi.org/10.1016/S0325-7541\(14\)70094-X](https://doi.org/10.1016/S0325-7541(14)70094-X)
- Chan-Cupul W., Arámbula-Zúñiga C.C., Zhiliang F. y Heredia-Abarca G. (2018). Oxidative enzymes activities and hydrogen peroxide production in white-rot fungi and soil-borne micromycetes co-cultures. *Annals of Microbiology* 69 (1), 171-181. <https://doi.org/10.1007/s13213-018-1413-4>
- Chaparro D.F., Rosas D.C. y Varela A. (2009). Aislamiento y evaluación de la actividad enzimática de hongos descomponedores de madera (Quindío, Colombia). *Revista Iberoamericana de Micología* 26 (4), 238-243. <https://doi.org/10.1016/j.riam.2009.03.005>
- Chaves-Bedoya G., Ortiz-Moreno M.C. y Ortiz-Rojas L.Z. (2013). Efecto de la aplicación de agroquímicos en el cultivo de arroz sobre los microorganismos del suelo. *Acta Agronómica* 62 (1), 6-72.
- da Silva C.J., Brugnari T., de Sá-Nakanishi A.B., Castoldi R., Marques de S.C.G., Bracht A. y Peralta R.M. (2018). Evaluation of diuron tolerance and biotransformation by the white rot fungus *Ganoderma lucidum*. *Fungal Biology* 122 (6), 471-478. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2017.10.008>
- da Silva C.J., de Oliveira A.L., Marques de S.C.G., Bracht A. y Peralta R.M. (2010a). Effect of the herbicides bentazon and diuron on the production of ligninolytic enzymes by *Ganoderma lucidum*. *International Biodegradation and Biodegradation* 64 (2), 156-161. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2009.12.006>
- da Silva C.J., Marques de S.C.G., de Oliveira A.L., Bracht A., Ferreira C.M.A. y Peralta R.M. (2010b). Comparative removal of bentazon by *Ganoderma lucidum* in liquid and solid-state cultures. *Current Microbiology*

- 60 (1), 350-355. <https://doi.org/10.1007/s00284-009-9548-y>
- Fang-Sim C.S., Lin-Cheow Y., Ling-Ng S. y Yien-Ting A. S. (2019). Biocontrol agents of metal-tolerant endophytes against *Ganoderma boninense* in oil palm seedlings cultivated under metal stress. *Biological Control* 132 (1), 66-71. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2019.02.001>
- Gleen J.K. y Gold M.H. (1983). Decolorization of several polymeric dyes by the lignin-degrading basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*. *Applied Environmental Microbiology* 45 (6), 1741-1747. <https://doi.org/10.1128/AEM.45.6.1741.1983>
- Hiscox J., Baldrian P., Rogers H.J. y Boddy L. (2010). Changes in oxidative enzyme activity during interspecific mycelial interactions involving the white-rot fungus *Trametes versicolor*. *Fungal Genetics and Biology* 47 (6), 562-571. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2010.03.007>
- Hiscox J., Savoury M., Toledo S., Kingscott-Edmunds J., Bettridge A., Waili N.A. y Boddy L. (2017). Three-somes destabilise certain relationships: Multispecies interactions between wood decay fungi in natural resources. *FEMS Microbiology Ecology* 93 (3), 1-11. <https://doi.org/10.1093/femsec/fix014>
- Ijoma G.N., Selvarajan R. y Tekere M. (2018). The potential of fungal co-cultures as biological inducers for increased ligninolytic enzymes on agricultural residues. *International Journal of Environmental Science and Technology* 16 (1), 305-324. <https://doi.org/10.1007/s13762-018-1672-4>
- Juvigny-Khenafou N.P.D., Zhang Y., Piggott J., Atkinson D., Matthaei C.D., Van-Bael S. y Wu N. (2020). Anthropogenic stressors affect fungal more than bacterial communities in decaying leaf litter: a stream mesocosm experiment. *Science of the Total Environment* 716, 135053. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135053>
- Lee-Pei L.A., Yusof M.T., Ismail S.I., Yen-Pin B.T., Intan N.A., Azni M., Kamarudin N.H. y Sundram S. (2016). An in vitro study of the antifungal activity of *Trichoderma virens* 7b and a profile of its non-polar antifungal components released against *Ganoderma boninense*. *Journal of Microbiology* 54 (1), 732-744. <https://doi.org/10.1007/s12275-016-6304-4>
- López-Peña D., Gutiérrez A., Hernández-Navarro E., Valenzuela R. y Esqueda M. (2016). Diversidad y distribución de *Ganoderma* (Polyporales: Ganodermataceae) en Sonora, México. *Botanical Sciences* 94 (2), 431-439. <https://doi.org/10.17129/botsci.463>
- Maciel G.M., Dorneles I.F., de Sá-Nakanishi A.B., Isidoro H.C.W., Castoldi R., Comar J.F., Bracht A. y Peralta R.M. (2013). Response of *Ganoderma lucidum* and *Trametes* sp. to the herbicide picloram: Tolerance, antioxidants and production of ligninolytic enzymes. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 105 (2), 84-92. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2012.12.002>
- Magalhães D.B., de Carvalho M.E.D., Bon E., Neto J.S.A. y Kling S.H. (1996). Colorimetric assay for lignin peroxidase activity determination using methylene blue as substrate. *Biotechnology Techniques* 10 (4), 273-276. <https://doi.org/10.1007/BF00184028>
- Maganhotto de S.S.C.M., Soares de M.I. y de Oliveira, P.R. (2004). Ligninolytic enzyme production by *Ganoderma* spp. *Enzyme Microbiology and Technology* 37 (3), 324-329. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2004.12.007>
- Moncalvo J.M. y Buchanan P.K. (2008). Molecular evidence for long distance dispersal across the Southern Hemisphere in the *Ganoderma applanatum-australe* species complex (Basidiomycota). *Mycological Research* 112 (4), 425-436. <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2007.12.001>
- Moreno P.H., Martínez M.A. y Fujimoto Y. (2011). Aislamiento e identificación de dos esteroides y un triterpenoide del cuerpo fructífero de *Ganoderma lucidum* cultivado en Colombia. *Vitae* 18 (1), 11-15.
- Muniroh M.S., Nusaibah S.A., Vadamalai G. y Siddique Y. (2019). Proficiency of biocontrol agents as plant growth promoters and hydrolytic enzyme producers in *Ganoderma boninense* infected oil palm seedlings. *Current Plant Biology* 20, 100116. <https://doi.org/10.1016/j.cpb.2019.100116>
- Naher L., Tan S.G., Ho C.L., Yusuf U.K., Ahmad S.H. y Abdullah F. (2012a). mRNA expression of EgCHI1, EgCHI2, and EgCHI3 in oil palm leaves (*Elaeis guineensis* Jacq.) after treatment with *Ganoderma boninense* Pat. and *Trichoderma harzianum* Rifai. *Scientific World Journal* 2012, 647504. <https://doi.org/10.1100/2012/647504>
- Naher L., Yusuf U.K., Siddiquee S., Ferdous J. y Rahman M.A. (2012b). Effect of media on growth and antagonistic activity of selected *Trichoderma* strains against *Ganoderma*. *African Journal of Microbiology Research* 6 (48), 7449-7453. <https://doi.org/10.5897/AJMR12.1216>
- Pinzón-Osorio C.A. y Pinzón-Osorio J. (2016). Ampliación de la distribución geográfica de *Ganoderma austral* (Patouillard, 1889) (Aphyllophorales – Basidiomycota), para el departamento de Cundinamarca, Colombia. *Revista Biodiversidad Neotropical* 6 (1), 7-11. <https://doi.org/10.18636/bioneotropical.v6i1.180>
- Piscitelli A., Giardina P., Lettera V., Pezzella C., Sannia G. y Faraco V. (2011). Induction and transcriptional regulation of laccase in fungi. *Current Genomics* 12 (2), 104-112. <https://doi.org/10.2174/138920211795564331>

- Sabater S., Elosegí A. y Ludwig R. (2019). Defining multiple stressor implication. En: Multiple stressors in river ecosystems, status, impacts and prospects for the future. (S. Sabater, A. Elosegí y R. Ludwig Eds.) Elsevier, Amsterdam, Holanda, pp. 1-22. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811713-2.00001-7>
- Schwarze F.W.M.R. y Ferner D. (2003). *Ganoderma* on trees differentiation of species and studies of invasiveness. *Arboricultural Journal* 27 (1), 59-77. <https://doi.org/10.1080/03071375.2003.9747362>
- Sivakumar R., Rajedran R., Balakumar C. y Tamilvendan M. (2010). Isolation, screening and optimization of production medium for thermostable laccase production from *Ganoderma* sp. *International Journal of Engineering Science and Technology* 2 (12), 7133-7141. <https://doi.org/10.1134/S0003683808060100>
- Suárez-Medellín J., Luna-Rodríguez M., Mendoza G., Salinas A., Suárez Quiroz M.E. y Trigos A. (2012). Caracterización morfológica y molecular de una cepa silvestre mexicana perteneciente al género *Ganoderma*. *Revista Mexicana de Micología* 36 (1), 33-39.
- Sundram S. (2013a). First report: Isolation of endophytic *Trichoderma* from oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) and their in vitro antagonistic assessment on *Ganoderma boninense*. *Journal of Oil Palm Research* 25 (3), 368-372.
- Sundram S. (2013b). The effects of *Trichoderma* in surface mulches supplemented with conidial drenches in the disease development of *Ganoderma* basal stem rot in oil palm. *Journal of Oil Palm Research* 25 (3), 314-325.
- Sunil S.M., Renuka P.S., Pruthvi K., Swetha M., Malini S. y Veena S.M. (2011). Isolation, purification and characterization of fungal laccase from *Pleurotus* sp. *Enzyme Research* 2011, 248735. <https://doi.org/10.4061/2011/248735>
- Téllez-Téllez M., Sánchez C., Díaz R. y Díaz-Godínez G. (2012). Patrón zimográfico de las lacasas extracelulares de especies de *Pleurotus* crecidos en un medio no inductor. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 11 (3), 383-388.
- Torres-Torres M.G., Ryvarden L. y Guzmán-Dávalos L. (2015). *Ganoderma* subgenus *Ganoderma* in México. *Revista Mexicana de Micología* 41 (1), 27-45.
- Xuan-Wei Z., Wei-Ran C., Kai-Qi S. y Yong-Ming Z. (2013). Ligninolytic enzymes from *Ganoderma* spp: current status and potential applications. *Critic Reviews in Microbiology* 39 (4), 416-426. <https://doi.org/10.3109/1040841X.2012.722606>
- Yu G., Sun Y., Han H., Yan X., Wang Y., Ge X., Qiao B. y Tan L. (2021). Coculture, an efficient biotechnology for mining the biosynthesis potential of macrofungi via interspecies interactions. *Frontiers in Microbiology* 12, 663924. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.663924>