



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Facultad de Ciencias

Evaluación del efecto de la concentración de C y N orgánicos en las interacciones ecológicas entre micromicetes del bosque mesófilo de montaña en la Sierra Norte de Oaxaca, México

TESIS

Que para obtener el título de BIÓLOGA

PRESENTA:

Alejandra Barrios Flores

Tutora:

Dra. Patricia Vélez Aguilar



Ciudad de México. Octubre, 2021



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Hoja de biblioteca (se insertará en cuanto se cuente con el documento)

1.- Datos de la alumna Apellido paterno Apellido materno Nombre Teléfono Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Ciencias Carrera Número de cuenta	Barrios Flores Alejandra Biología 313122325
2.- Datos de tutora Grado Nombre Apellido paterno Apellido materno	Dra. Patricia Vélez Aguilar
3.- Datos del sinodal 1 Grado Nombres Apellido paterno Apellido materno	Dr. Bruno Manuel Chávez Vergara
4.- Datos del sinodal 2 Grado Nombres Apellido paterno Apellido materno	Dr. José Edmundo Rosique Gil
5.- Datos del sinodal 3 Grado Nombres Apellido paterno Apellido materno	Dr. Ulises Yunuén Rosas López
6.- Datos del sinodal 4 Grado Nombre Apellido paterno Apellido materno	Dra. Irene Sánchez Gallén
7.- Datos del trabajo escrito Título Número de páginas Año	Evaluación del efecto de la concentración de C y N orgánicos en las interacciones ecológicas entre micromicetes del bosque mesófilo de montaña en la Sierra Norte de Oaxaca, México 104 pp 2021

Esta investigación se realizó en el laboratorio C-121 del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, y formó parte del proyecto “Patrones de diversidad de los hongos microscópicos que habitan en ecosistemas amenazados de México: bosques de niebla” Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica, PAPIIT (Clave: IA201319).

DEDICATORIA

A MI FAMILIA

A mis padres y a mi hermana por acompañarme en esta etapa de mi vida.

A mi cuñado por apoyarme y alentarme tanto en mi vida personal como la académica. Además de ser un verdadero ejemplo a seguir.

A MIS AMIGOS

A Mauricio Santana por ser una gran persona que me acompañó y apoyó durante toda la carrera.

A Carlos Hernández por inspirarme a esforzarme por mis sueños, y alentarme a seguir aprendiendo.

A Jair García por ser mi mejor amigo y compartir tanto buenos y malos momentos conmigo.

A MIS PROFESORES

A la doctora Margarita Ojeda por ser una gran profesora que me impulsó a seguir estudiando.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México por brindarme la oportunidad de desarrollar una carrera profesional en sus instalaciones.

Al Instituto de Biología por abrirme las puertas y tener la posibilidad de desarrollarme académicamente en el área de microbiología.

A la Facultad de Ciencias por ser una institución comprometida en el desarrollo de futuros científicos.

A la Dra. Patricia Vélez Aguilar por ser una gran persona e investigadora. Además de abrirme las puertas de su laboratorio y permitirme conocer el maravilloso mundo de los hongos microscópicos.

A la Dra. Blanca Estela Hernández Baños y al taller: Sistemática molecular, filogeografía y genética de la conservación de vertebrados y plantas por apoyarme en la realización de esta tesis.

A las Dras. Laura Márquez y Nelly López, LaNaBio, por apoyarme en la secuenciación de las muestras de mi servicio social.

A la Dra. Lidia I. Cabrera Martínez, por su apoyo técnico durante el trabajo en el Laboratorio de Sistemática Molecular del Departamento de Botánica.

A la Biól. Irma Acosta Calixto y al Instituto de Ecología de la UNAM, por permitirme utilizar las cámaras ambientales para mi experimento.

Al Dr. Pedro Mercado, por su apoyo técnico durante el trabajo en el Laboratorio de Microscopía.

“El conocimiento de la verdad no alivia la tristeza que sentimos al perder un ser querido. Ni la verdad, ni la sinceridad, ni la fuerza, ni el cariño son capaces de curar esta tristeza. Lo único que puede hacerse es atravesar este dolor esperando aprender algo de él, aunque todo lo que uno haya aprendido no le sirva para nada la próxima vez que la tristeza lo visite de improvisto”

Haruki Murakami

RESUMEN

Globalmente el bosque mesófilo de montaña es un ecosistema con una distribución limitada. Se caracteriza por presentar una capa de neblina dominante a nivel del dosel, la cual promueve condiciones ambientales que favorecen el establecimiento de comunidades vegetales únicas, incluyendo árboles, helechos y epífitas. Como en otros ecosistemas forestales, los restos vegetales derivados de las especies presentes, constituyen el principal aporte de materia orgánica que es degradada por la microbiota del suelo, con lo cual se liberan elementos químicos como el carbono (C), nitrógeno (N) y fósforo (P) al sistema. Estudios recientes han demostrado que la degradación de este ecosistema por actividades antropogénicas afecta propiedades edáficas tales como la disponibilidad y concentración de los nutrientes, así como la composición y la actividad de la comunidad microbiana nativa. Sin embargo, aún se desconoce cómo interactúan los cambios en el ensamblaje de las comunidades fúngicas del suelo con la disponibilidad de nutrientes, particularmente C y N. El objetivo del presente trabajo fue evaluar las interacciones entre cuatro especies de micromicetes pertenecientes a diferentes gremios funcionales (*Clonostachys rosea* - fitopatógeno, *Trichoderma koningii* - micoparásito y *Tolyposcladium geodes* - entomopatógeno, y *Diaporthe novem* - saprótrofo), bajo concentraciones contrastantes de C y N. Para ello, se realizaron bioensayos pareados *in vitro* bajo condiciones contrastantes de C y N orgánicos y se estimaron tres índices de interacción (porcentaje de inhibición, *Overall Antagonism Index*, e índice de dominancia). Los resultados mostraron que *C. rosea*, *D. novem* y *T. koningii* son especies altamente demandantes de carbono. A diferencia de *T. geodes* que es una especie altamente demandante de nitrógeno. Por otro lado, los índices de interacción para las interacciones *in vitro* revelaron asociaciones que favorecerían el crecimiento de ambos organismos en co-cultivo, o en otros casos, los inhibía. Particularmente, las interacciones inter-específicas de antagonismo podrían ser relevantes para mantener las comunidades vegetales en el BMM, ya que se identificaron a *T. koningii* y *D. novem* como posibles reguladores del fitopatógeno *C. rosea* en condiciones ricas en carbono, ricas en carbono y nitrógeno, y pobres en carbono y nitrógeno. En conclusión, las condiciones de nutrientes son un factor importante que influye en las interacciones entre los micromicetes y los mecanismos de antagonismo entre éstos, lo cual podría tener importancia en la estructuración de las comunidades fúngicas del suelo.

ABSTRACT

Cloud forests represent an ecosystem with a limited distribution worldwide and in Mexico. It is characterized by a persistent cloud layer at the level of the vegetation, allowing the establishment of unique plant communities, including trees, ferns and epiphytes. Plant litter is the main component of the organic matter in cloud forests, being decomposed by soil microbiota, and releasing nutrients as carbon, nitrogen and phosphorus to the system. Recent studies have demonstrated that the degradation of cloud forests by anthropogenic activities, affects edaphic properties such as the nutrient availability and concentration, and these effects modify the native microbiota composition. However, the effect of these changes in nutrient conditions and the assembly of soil fungal communities remain unknown. The objective of the present work was to evaluate the interaction between four microfungal species belonging to different functional guilds (*Clonostachys rosea* - phytopathogenic, *Trichoderma koningii* - mycoparasite, *Tolyposcladium geodes* - entomopathogenic, and *Diaporthe novem* - saprotrophic), under contrasting conditions of nutrients (C y N). Paired *in vitro* bioassays were conducted under contrasting concentrations of carbon and nitrogen, and the data obtained were analyzed through three different indexes (percentage of inhibition, overall antagonism index, and dominance index). We observed that *C. rosea*, *T. koningii* y *D. novem* were highly carbon-demanding species. In contrast with *T. geodes* which strongly demandant of nitrogen for growth. The *in vitro* interactions showed that these associations stimulate the growth of both fungi in co-culture. Particularly, the inter-specific antagonism interactions could be relevant for maintaining plant communities, via the regulation of phytopathogenic species such as *C. rosea* by *T. koningii* and *D. novem*, under rich in carbon, rich in carbon and nitrogen, and poor in carbon and nitrogen conditions. In conclusion, the nutrients conditions are important factors influencing the development of biotic interactions and antagonism mechanisms, which could be important for the fungal community structure in the soil.

ÍNDICE

DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTOS	v
REFLEXIÓN	vi
RESUMEN	vii
ABSTRACT	viii
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Bosque mesófilo de montaña	1
1.2 Micromicetes	3
1.3 Rol de los micromicetes en los ciclos biogeoquímicos	5
1.4 Interacciones microbianas	7
2. ANTECEDENTES	9
2.1 Diversidad de micromicetes en el bosque mesófilo de montaña	9
2.2 Función de los micromicetes en los ciclos de nutrientes	11
2.3 Fundamentos teóricos para el estudio de las interacciones ecológicas en microorganismos	14
2.4 Resumen de las principales interacciones ecológicas entre micromicetes	15
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	18
4. HIPÓTESIS	18
5. OBJETIVOS	19
5.1 Objetivo general	19
5.2 Objetivos particulares	19
6. MÉTODO	19
6.1 Sitio de estudio	19
6.2 Identificación morfológica y molecular de los micromicetes seleccionados	21
6.3 Organismos de estudio	22
6.4 Bioensayos pareados <i>in vitro</i>	24
6.5 Análisis estadísticos de los datos	26
7. RESULTADOS	29
7.1 Identificación morfológica y molecular de los micromicetes seleccionados	29

7.2 Bioensayos <i>in vitro</i>	34
7.2.1 Área de los aislados en medios de cultivo con diferentes concentraciones de carbono y nitrógeno	34
7.2.2 Medio empobrecido en carbono	37
7.2.3 Medio enriquecido en carbono	42
7.2.4 Medio empobrecido en nitrógeno	49
7.2.5 Medio enriquecido en nitrógeno	54
8. DISCUSIÓN	59
8.1 Cambios en las interacciones en una escala temporal	61
8.2 Efecto de los nutrientes en las interacciones al final de los experimentos	63
8.3 Mecanismos antagónicos entre micromicetes de diferentes grupos funcionales	65
9. CONCLUSIONES	68
10. LITERATURA CITADA	69
11. APÉNDICES	88

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Bosque mesófilo de montaña

El Bosque mesófilo de montaña (BMM) es un ecosistema que se encuentra distribuido en sistemas montañosos, en altitudes entre los 500 y hasta los 3500 m.s.n.m (Rzedowski, 1994). Se caracteriza por presentar un alto porcentaje de humedad relativa atmosférica y una baja exposición de luz solar, debido a la recurrente formación de neblinas (Gual-Díaz y González-Medrano, 2014).

Su distribución global abarca desde los 23.5° N hasta los 35°S en algunas regiones de África, Asia y América, en países como México, Guatemala, Colombia, Venezuela, Ecuador, Perú, entre otros (Bubb *et al.*, 2004; Mulligan, 2010). Se estima que el área potencial del BMM representa el 0.26% de la cobertura terrestre del planeta (Bubb *et al.*, 2004), mientras que el porcentaje estimado de los BMM que se ha perdido es del 55% (Mulligan, 2010). A pesar de su distribución reducida, estos bosques albergan una alta diversidad de especies vegetales endémicas (Bubb *et al.*, 2004), y es considerado como un *hotspot* de diversidad de especies arbóreas, de helechos arborescentes y de plantas epífitas (CONABIO, 2010). Esto, gracias a factores tales como la presencia de nubes, altitud y patrones de lluvias, que permiten el establecimiento de la vegetación característica (Bubb *et al.*, 2004).

En México, el BMM se desarrolla generalmente en un clima templado húmedo con lluvias todo el año en los estados de San Luis Potosí, Veracruz, Oaxaca, Tamaulipas, Nuevo León, Chiapas, Tabasco y Guerrero (Gual-Díaz y González-Medrano, 2014). Este bioma, se distribuye de forma fragmentada a lo largo de la Sierra Madre Oriental y Occidental, así como en el Sistema Volcánico Transversal (CONABIO, 2010; Gual-Díaz y González-Medrano, 2014), y representa menos del 1% de superficie del territorio nacional (Bubb *et al.*, 2004). Su vegetación está compuesta por aproximadamente 6 790 especies de plantas vasculares (Villaseñor, 2010), de las cuales se estima que 2 500 especies son endémicas para el BMM de México (Rzedowski, 1994). La composición arbórea está conformada principalmente por especies del género *Liquidambar* (una especie), *Quercus* (88 especies), *Fagus* (una especie) y *Pinus* (20 especies) (Villaseñor, 2010); mientras que, la vegetación

del BMM también se caracteriza por presentar una alta abundancia de pteridofitas y plantas epífitas de la familia Orchidaceae, Bromeliaceae, Piperaceae y Araceae (CONABIO, 2010).

El BMM desempeña un rol importante en la provisión de servicios ecosistémicos a partir de su dinámica con el ciclo hidrológico. En este sistema, el ciclo del agua inicia con la transpiración en las plantas y la condensación del agua, (proceso conocido como evapotranspiración). Posteriormente, ocurre la precipitación, se produce escorrentía y el agua es absorbida por el suelo. Las raíces de los árboles mantienen la estructura del suelo, mientras que la cobertura de la vegetación lo protege de la erosión por la lluvia. Además, el suelo retiene los sedimentos y contaminantes lo que mejora la calidad del agua (Ekhuemelo *et al.*, 2016).

La deforestación es una de las principales amenazas que este ecosistema enfrenta a nivel mundial, debido a la explotación de los recursos maderables, y el uso de sus suelos para prácticas agrícolas y ganaderas (Gual-Díaz, M. y González-Medrano, 2014). El cambio del uso del suelo provoca una serie de consecuencias en su estructura, tales como su erosión y compactación (Shestak y Busse, 2005). Además, de la pérdida de la materia orgánica, por ejemplo, se ha observado que el BMM transformado a pastura presenta menor porcentaje de materia orgánica ($7.8\% \pm 3.6$) comparado con el bosque ($16.2\% \pm 2.3$) en el horizonte A del suelo (Tobón *et al.*, 2010), lo cual es relevante ya que el mantillo del BMM puede proveer nutrientes al suelo como nitrógeno ($93 \text{ kg ha}^{-1}\text{y}^{-1}$), fósforo ($6 \text{ kg ha}^{-1}\text{y}^{-1}$), calcio ($115 \text{ kg ha}^{-1}\text{y}^{-1}$), magnesio ($15 \text{ kg ha}^{-1}\text{y}^{-1}$) y potasio ($12 \text{ kg ha}^{-1}\text{y}^{-1}$) (Nadkarni y Matelson, 1992). Por otro lado, el carbono almacenado en la vegetación, puede ser liberado a la atmósfera en forma de CO_2 , lo que tiene una implicación importante en las reservas de carbono del suelo, ya que, se ha reportado que la transformación de un bosque a un cultivo podría disminuir 42% de su reserva de carbono (Guo y Gifford, 2002).

A su vez, se ha propuesto que el cambio climático repercutirá directamente sobre las características principales del BMM (altitud de la capa de nubes, temperatura, humedad y patrones de precipitación) (Campbell *et al.*, 2009; Looby y Treseder, 2018). Se predicen modificaciones en la estructura y diversidad de las comunidades de plantas, animales y hongos debido a la proliferación de especies fúngicas patógenas, alterando los procesos de descomposición y liberación de nutrientes a la solución del suelo (Campbell *et al.*, 2009;

Price *et al.*, 2013). Experimentos en campo han confirmado el incremento en la riqueza de hongos pertenecientes al phylum *Ascomycota* y grupos funcionales tales como patógenos y saprótrofos de la madera en condiciones de temperatura más cálidas y de menor humedad del suelo, con relación al control (localidad de BMM ubicada a 1850 m.s.n.m). Los autores de este trabajo concluyen que el incremento en especies saprótrofas podría impactar fuertemente el ciclo del carbono (Looby y Treseder, 2018). Por lo que se puede inferir que, el cambio climático repercutirá sobre los ciclos biogeoquímicos en este ecosistema.

1.2 Micromicetes

Los hongos son organismos eucariontes que se caracterizan por presentar estructuras alargadas conocidas como hifas con crecimiento apical (Herrera y Ulloa, 1990), las cuales, a diferencia de otros microorganismos, en algunos grupos taxonómicos pueden ser multinucleadas. Son organismos quimiorganótrofos, presentan una pared celular compuesta por quitina y polisacáridos, y se alimentan mediante mecanismos de absorción (Herrera y Ulloa, 1998; Cepero de García *et al.*, 2012). Los micromicetes (hongos microscópicos) se caracterizan por presentar estructuras reproductoras de tamaño microscópico, y se encuentran ampliamente distribuidos en todos los ecosistemas, naturales y manejados, explorados hasta la fecha (Cannon y Sutton, 2004). Son capaces de establecerse en sitios con una gran diversidad de sustratos, lo cual es facilitado por su capacidad de degradar materiales recalcitrantes como la lignina (Schappe *et al.*, 2019).

Estos hongos microscópicos se pueden clasificar en gremios o grupos funcionales de acuerdo con su estilo de vida y el uso de recursos (Faber, 1991), los cuales están estrechamente relacionados con las plantas, debido a que participan en procesos de descomposición y, les proveen nutrientes a estos organismos (Schappe *et al.*, 2019). Se han reconocido varios gremios (saprótrofos, patógenos y simbioses). Cada uno de estos, participa en procesos importantes dentro del ecosistema. Por ejemplo: los hongos saprótrofos degradan la materia orgánica y compuestos recalcitrantes como la lignina, liberando nutrientes en el suelo. Los hongos patógenos, pueden regular las comunidades de diferentes organismos mediante el establecimiento de interacciones que tienen un efecto desfavorable para el hospedero. Cabe mencionar, que dentro de este gremio, existen otros subgrupos

funcionales tales como los fitopatógenos que se alimentan de los tejidos vivos (biótrofo) o muertos (necrótrofo) de las plantas, provocando enfermedades a sus hospederos (Herrera y Ulloa, 1998). También, los hongos entomopatógenos provocan enfermedades a insectos u otros artrópodos, y durante el proceso de infección se pueden alimentar de la cutícula del hospedero (Chandler, 2017). Por otra parte, los hongos micoparásitos absorben sus nutrientes del micelio vivo (biótrofo) o muerto (necrótrofo) de otros hongos y son capaces de inhibir a los hongos fitopatógenos (Hiscox *et al.*, 2018). Por último, los hongos simbioses obtienen sus nutrientes del hospedero y, favorecen la obtención de recursos como nutrientes y agua para las plantas. Por lo tanto, en conjunto tienen un papel importante en la estructura del ecosistema (Davet, 2004; Dirk van Elsas *et al.*, 2006; Thormann, 2006; Burke *et al.*, 2011).

Gran parte de la diversidad taxonómica de hongos a nivel global aún es desconocida. Actualmente, el estimado global abarca de los 2.2 a los 3.8 millones de especies, calculadas con base en el número aproximado de especies que se podrían identificar mediante la secuenciación de muestras ambientales, métodos para la delimitación de especies y, otras contribuciones, a partir del trabajo de campo. Además de la relación 9.8:1 de hongos: plantas (considerando que se conocen 380 000 especies de plantas vasculares) (Hawksworth y Lücking, 2017). Sin embargo, a la fecha tal solo se han descrito 120 000 especies de hongos (Hawksworth y Lücking, 2017), de las cuales la mayoría pertenece a los phyla *Ascomycota* y *Basidiomycota* (Cuadros-Orellana *et al.*, 2013). Por otra parte, Schmit y Mueller (2007) estimaron que el 82% de las especies de hongos son microscópicas, considerando que el estimado mínimo total que reportan estos autores es de 712 285 especies en el mundo. Como parte del mismo trabajo, los autores reportaron que el número de especies de hongos microscópicos descritas es de: 3 196 especies para ambientes acuáticos, 2 750 especies de hongos asociados a insectos, 3 300 especies que habitan en el suelo y 35 000 especies asociadas a plantas terrestres (Schmit y Mueller, 2007).

Cabe destacar que las características metabólicas de los hongos han promovido su utilización en la biorremediación y biofertilización del suelo. Sin mencionar que, debido a la gran diversidad de compuestos bioactivos y metabolitos secundarios que producen, han sido empleados para la obtención de antibióticos (penicilina y cefalosporina) o inmunosupresores (Dirk van Elsas *et al.*, 2006). Por lo que la investigación de su diversidad y fisiología es

importante, ya que ampliaría las opciones para tratar enfermedades o restaurar ecosistemas. Por ejemplo, se ha propuesto a *Tolypocladium geodes* como posible agente para la bioremediación de suelos agrícolas contaminados por herbicidas (ej. acetoclor) (Erguven, 2018), y a *Trichoderma koningii* como agente de biocontrol que inhibe el crecimiento de *Sclerotium rolfii*, que es un hongo fitopatógeno de diversos cultivos, en la rizósfera del tomate (Tsahouridou y Thanassouloupoulos, 2002; Rodríguez *et al.*, 2011).

1.3 Rol de los micromicetes en los ciclos biogeoquímicos

La materia orgánica es el conjunto de residuos de origen animal, vegetal o microbiano que se depositan en el suelo (Davet, 2004). Presenta una gran variedad de moléculas orgánicas con diferente grado de complejidad como son la lignina, la quitina o la celulosa (Thormann, 2006); las cuales a su vez, están compuestas de elementos químicos (carbono, fósforo y nitrógeno) (Manahan, 2007).

El carbono (C) se encuentra en la atmósfera en forma gaseosa principalmente como CO₂; en la biosfera es un elemento estructural de diferentes biomoléculas (carbohidratos, lípidos y proteínas); en la pedosfera como parte de la necromasa humus y la biomasa microbiana en forma orgánica y en forma inorgánica como iones HCO₃⁻ y CO₃ o CO₂ disuelto (Bardgett, 2005). Por otro lado, el nitrógeno (N) es uno de los principales gases que conforman a la atmósfera. Se puede encontrar en forma de N₂, el cual posteriormente es transformado en amoníaco (NH₃) mediante la actividad enzimática de algunas bacterias fijadoras de nitrógeno. Algunos de los iones resultantes de los procesos en el ciclo del nitrógeno (ej. NH₄⁺ y NO₃⁻) son utilizados por los microorganismos y las plantas para su desarrollo y crecimiento (Stevenson y Cole, 1999). Finalmente, el fósforo (P) es un elemento que únicamente se encuentra en el suelo (Davet, 2004). Se origina a partir de los minerales, ya que cuando estos se intemperizan por ciertos procesos, se liberan iones fosfato (Tapia-Torres y García-Oliva, 2013). El fósforo es escaso en la solución del suelo, debido a que interactúa con elementos químicos como el hierro y el aluminio, lo que lo convierte en inaccesible para otros organismos (Davet, 2004).

Los elementos contenidos en los tejidos vegetales (ej. C, P y N) se liberan hacia la solución del suelo durante las primeras etapas del proceso de descomposición de la materia orgánica que llevan a cabo los hongos y bacterias. Estos microorganismos modifican la estructura química de las moléculas mediante el uso de enzimas (despolimerización) y una vez que se ha reducido su peso molecular las vuelven accesibles para otros organismos (Bardgett, 2005).

Los micromicetes edáficos obtienen sus nutrientes a partir de los residuos vegetales. Gracias a sus redes de hifas tienen la capacidad de transportar nutrientes de un lugar a otro (Thormann, 2006), optimizando su uso. Particularmente, el carbono se encuentra en grandes cantidades en la vegetación del bosque, la cual es degradada conforme al grado de complejidad en su estructura química (Dighton, 1995; Foster y Bhatti, 2006). Las principales enzimas que degradan compuestos vegetales como la celulosa son β -1-4-endoglucanasa, exoglucanasa y β -glucosidasa (van den Brink y de Vries, 2011), mientras que para la lignina se encuentran la lacasa y peroxidasa (Tsujiyama y Minami, 2005); por otra parte, se detectaron enzimas involucradas con la liberación del nitrógeno de la hojarasca como la β -N-acetilglucosaminidasa y peptidasa y, en el caso del fósforo, la fosfatasa (Romaní *et al.*, 2006). Posteriormente, los carbohidratos y otros compuestos de bajo peso molecular pueden ser transportados hacia el interior de la célula y formar parte de la biomasa microbiana y sus componentes celulares o, participar en el proceso de respiración celular y regresar a la atmósfera en forma de CO₂ (Davet, 2004).

Asimismo, los micromicetes pueden obtener nitrógeno a partir de la quitina de los exoesqueletos de los artrópodos o de proteínas presentes en el suelo. Durante este proceso utilizan enzimas como quitinasas extracelulares, proteasas y peptidasas. Al final, se obtienen moléculas más pequeñas como aminoácidos, amonio (NH₄⁺) y nitrato (NO₃⁻), los cuales son internalizados en la célula mediante proteínas transportadoras (Treseder y Lennon, 2015).

Finalmente, el fósforo, a diferencia del nitrógeno y el carbono, es un elemento poco disponible en la solución del suelo, se puede encontrar en forma inorgánica (ortofosfato, PO₄³⁻) u orgánica (Tapia-Torres y García-Oliva, 2013). Los hongos pueden liberar fosfatos a partir de compuestos orgánicos con enlaces éster mediante la actividad enzimática de las

fosfatasa extracelulares. Se tiene el precedente de que los microorganismos son capaces de secuestrar hasta el 35% de fósforo orgánico del suelo (Treseder y Lennon, 2015).

1.4 Interacciones microbianas

Las interacciones microbianas modelan la estructura de las comunidades y afectan las tasas de descomposición de la materia orgánica repercutiendo en los ciclos biogeoquímicos. Involucran una comunicación mediada por metabolitos extracelulares (ej. metabolitos secundarios) que, a su vez, pueden promover o inhibir el crecimiento de los interactuantes (Carreira *et al.*, 2020). Es por ello, que su estudio es crucial para comprender los mecanismos de ensamblaje y mantenimiento de las comunidades, así como los procesos ecosistémicos asociados.

Para estudiar el comportamiento de los microorganismos, se han desarrollado diferentes modelos y teorías. Una de ellas es la teoría del mercado microbiano. Ésta, explica las interacciones de mutualismo para organismos procariontes, bajo la premisa del intercambio de productos entre dos comerciantes, en los cuales se consideran diferentes aspectos como la calidad y la demanda de los productos (Werner, 2014). Otros ejemplos son las hipótesis de la Reina Roja y la Reina Negra. La Reina Roja explica que la interacción entre dos especies puede ejercer presiones selectivas sobre uno de los organismos, lo cual promoverá la selección de caracteres que le permitan sobrevivir o, de lo contrario, se extinguirá, y viceversa (Bonachela *et al.*, 2017). Al contrario, la hipótesis de la Reina Negra propone que un organismo será dependiente de otro, lo cual está asociado con mecanismos de pérdida de genes. Esto puede favorecer a que una especie carezca de ciertas características y, por lo tanto, siga dependiendo de otras especies (Mas *et al.*, 2016).

Gracias a los avances tecnológicos recientes para la secuenciación parcial o total de los genomas, se han desarrollado modelos nulos de interacción. Por ejemplo, el propuesto por Mitri y Foster (2013), donde se propone que el genotipo del interactuante, está estrechamente relacionado con el tipo de interacción (cooperación o competencia) que presentan los microorganismos, debido a que forma parte clave del fenotipo que adquieren. La cooperación se define como un fenotipo que incrementa el *fitness* o adecuación

(sobrevivencia y reproducción) de las células que se encuentran a su alrededor, a diferencia de la competencia, que se considera un fenotipo que disminuye el *fitness* de otras células (Mitri y Foster, 2013). Por lo que se espera, que en parches conformados por microorganismos con el mismo genotipo desarrollarán cooperación entre ellos; mientras que los microorganismos con distintos genotipos, podrían generar una interacción de competencia (Mitri y Foster, 2013). También, en las interacciones microbianas se ocupan otros términos, como antagonismo o neutralismo, para describir el tipo de interacción entre dos microorganismos, los cuales se pueden explicar como el impacto de una especie sobre el crecimiento de otra especie. En el caso de antagonismo indica que la especie dañada crecerá menos al estar creciendo con otra especie que separadas, por el contrario, cuando una especie está próxima a otra, pero no hay algún efecto significativo para ambos en su crecimiento, se le conoce como neutralismo (Barton y Northup, 2011; Song *et al.*, 2014).

Particularmente, el estudio de las interacciones entre hongos comenzó antes de 1950. En estos trabajos se identificaron cambios en la morfología de los hongos interactuantes y la producción de compuestos químicos que promovían o inhibían el crecimiento del competidor (Weindling, 1938). Por ejemplo, Nickerson y Jillson (1943) reportaron una interacción de antagonismo entre *Trichophyton rubrum* y *Candida albicans*, la cual se atribuía a la secreción de compuestos químicos. Posteriormente surgieron algunas aplicaciones de estos trabajos, como el uso de algunos hongos para controlar hongos patógenos o degradadores de madera, por ejemplo, Hulme y Shields (1972) observaron que *Trichoderma viride* tiene la capacidad de inhibir la actividad celulolítica de algunos hongos degradadores de madera en descomposición, lo que muestra su actividad de inhibición con determinados hongos, así como su posible utilización como agente de biocontrol.

Experimentalmente, se ha demostrado que en las interacciones entre micromicetes, durante las etapas iniciales, se desarrolla competencia y, posteriormente, hay una inhibición en el crecimiento o daño celular en uno de los competidores (Snajdr *et al.*, 2011). Se ha estudiado que esta inhibición es principalmente debido a la secreción de compuestos como los metabolitos secundarios (policétidos) o enzimas (β -1,3 glucanasa, proteasa y lipasa) (Elad *et al.*, 1982; Fatema *et al.*, 2018; Rodríguez *et al.*, 2011; Tsujiyama y Minami, 2005).

La capacidad de los hongos para producir enzimas y metabolitos secundarios durante las interacciones, ha sido de gran interés en el sector industrial y farmacéutico. Ya que facilitan procesos como la fabricación de papel o la generación de nuevos medicamentos como la penicilina, estatina, ciclosporina y ácido micofenólico (Hiscox *et al.*, 2018; Keller, 2019). A partir del interés por mejorar la salud humana, se han incrementado los estudios sobre metabolitos secundarios, de los cuales se conocen más de 750 metabolitos que poseen propiedades antifúngicas, antibacterianas o antitumorales (Keller, 2019). Por otra parte, el uso de los micromicetes como agentes de biocontrol ha permitido reducir el uso de pesticidas, evitar la contaminación del agua subterráneas y, en ocasiones, promover el crecimiento de las plantas. Este es el caso del género *Trichoderma*, el produce metabolitos con propiedades antifúngicas, los cuales inhiben el crecimiento del hongo fitopatógeno *Bipolaris oryzae* (Abdel-Fattah *et al.*, 2007).

2. ANTECEDENTES

2.1 Diversidad de micromicetes en el bosque mesófilo de montaña

Como se menciona brevemente en la sección introductoria de este trabajo, la diversidad de hongos se ha estimado entre 0.5 y 9.9 millones de especies en el mundo, la cual depende del método de estimación empleado (Cannon, 1997; May, 2000). Uno de los estimados más aceptados ha sido el de Hawksworth (1991), en el cual se reporta que, aproximadamente, existe una diversidad de 1.5 millones de especies de hongos (Figura 1A). Dicho estimado se basa en la relación que existe entre la diversidad de plantas y la diversidad de hongos para una región determinada (Hawksworth, 2001). A pesar de que ha sido cuestionado por otros autores, se ha demostrado que la diversidad de plantas y de algunos hongos están relacionadas (Mueller y Schmit, 2007). El uso de nuevas metodologías moleculares como la secuenciación amplió el panorama sobre la diversidad fúngica, por lo que actualmente se estima que la diversidad de hongos oscila entre los 2.2 a los 3.8 millones de especies, a partir de las cuales se conocen apenas 120 000 especies de hongos en el mundo (Hawksworth y Lücking, 2017). Para México se estima que hay alrededor de 200 000 especies (Guzmán, 1998), de los cuales

tan sólo 6 500 especies se conocen (Aguirre-Acosta *et al.*, 2014), y por lo tanto, el estado de conocimiento de la diversidad fúngica de México es aproximadamente del 3.25%. Como parte de la diversidad de hongos conocida (6 500 especies), 4 500 especies corresponden a macromicetes y 2 000 a micromicetes (Guzmán, 1998; Aguirre-Acosta *et al.*, 2014) (Figura 1B).

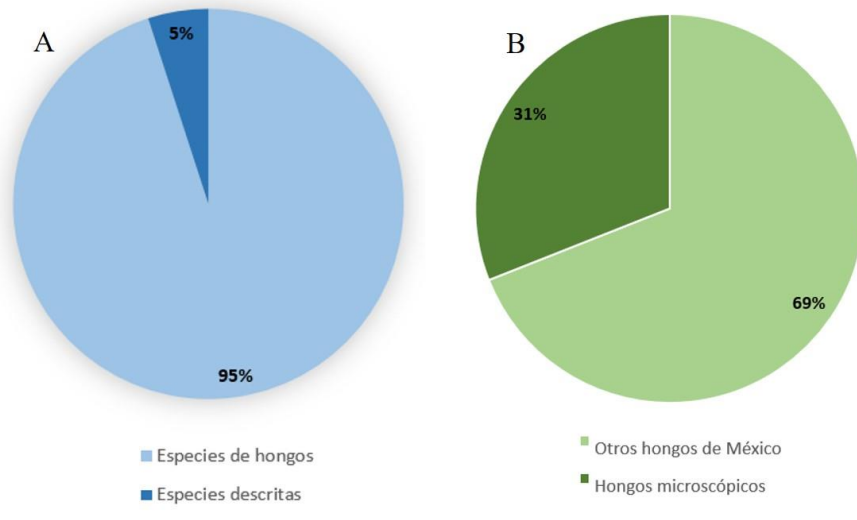


Fig. 1 Estado del conocimiento sobre la diversidad de especies de hongos (A) en el mundo y (B) en México.

México se considera como el país con el mayor número de registros y especies de hongos en el BMM de la región Neotropical del continente americano (Del Olmo-Ruíz *et al.*, 2017). Se han reportado un total de 2 289 registros de hongos, a partir de los cuales, se identificaron 1 274 especies (Del Olmo-Ruíz *et al.*, 2017). Sin embargo, el estudio de los hongos en este bioma se ha enfocado en especies macroscópicas, denotando así que la clase Agaricomycetes del phyla *Basidiomycota* es la más estudiada en Mesoamérica (Del Olmo-Ruíz *et al.*, 2017). Por otra parte, la revisión de Medel (2013), se enfoca en los *Ascomycota* de México registrados hasta el 2010, ya que el BMM es uno de los ecosistemas con mayor número de registros para estos hongos. En total para el BMM mexicano se conocen 107 especies de *Ascomycota*, de los cuales sólo 14 especies corresponden a hongos microscópicos, en su mayoría parásitos de plantas (entre los que destacan especies del género *Asteridiella*,

Irenopsis y *Meliola*). Además, el estado con mayor conocimiento sobre hongos en BMM es Veracruz, seguido de Tamaulipas y Morelos (Medel, 2013); sin embargo, existen algunos estados de México poco explorados, en cuanto a la diversidad fúngica del BMM, especialmente para los micromicetes, como es el estado de Oaxaca.

Los estudios en Oaxaca se han concentrado principalmente en hongos macroscópicos (Zamora-Martínez *et al.*, 2014; Villarruel Ordáz *et al.*, 2015; Raymundo *et al.*, 2020). Aunque, se cuenta con trabajos que evalúan la diversidad de micromicetes edáficos cultivables en localidades prístinas (Santiago Comaltepec), reportando hongos del phyla *Ascomycota* y *Morteriellomycota*, algunos de ellos pertenecientes a ciertos grupos funcionales, por ejemplo: entomopatógenos (*Beauveria*, *Metarhizium* y *Tolypocladium*), saprobios (*Diaporthe novem*), micoparásitos (especies del género *Trichoderma*) y fitopatógenos (*Clonostachys rosea*), los cuales desempeñan actividades importantes dentro del ecosistema del bosque (Leocadio Zarco, 2021).

2.2 Función de los micromicetes en los ciclos de nutrientes

El mantillo del BMM es una fuente de materia orgánica y nutrientes, el cual es triturada por microartrópodos edáficos y, degradada por hongos y bacterias (Bowes, 2010). Estos organismos rompen la estructura química de los restos vegetales mediante enzimas, lo que permite a otros organismos el acceso a los nutrientes (Bardgett, 2005). Posteriormente, los nutrientes son asimilados, y utilizados por microorganismos para su respiración, mientras que los residuos del metabolismo excretados como iones inorgánicos (ej. NH_4^+), los cuales son aprovechados por las plantas (Bowes, 2010).

Los hongos forman parte de la microbiota que participa activamente en los ciclos de los nutrientes, ya que estos microorganismos producen un conjunto de enzimas extracelulares (Tabla 1) que degradan compuestos vegetales en moléculas más simples (Bardgett, 2005; Nielsen, 2011). Estos nutrientes que se liberan en el suelo, posteriormente son empleados por otros microorganismos (ej. bacterias) o acumulados como biomasa fúngica, la cual posteriormente formará parte de la reserva de nutrientes en el suelo (Six, 2006).

Tabla 1. Principales enzimas fúngicas presentes en diversos gremios funcionales.

Hongos	Enzimas	Referencias
Saprótrofos	β -1,4-endoglucanasas, exoglucanasas y β -glucosidasa xilanasas	van den Brink y de Vries, 2011
Micoparásitos (<i>Trichoderma koningii</i>)	Quitinasas β -1,4-endoglucanasas, exoglucanasas y β -glucosidasa	Wood y McCrae, 1982 St <i>et al.</i> , 1996
Entomopatógenos	Quitinasas y proteasas	Leger <i>et al.</i> , 1986
Fitopatógenos	Celulasa, pectinasa, proteasa, lacasa, entre otras.	Esteves <i>et al.</i> , 2014

Alrededor del año de 1950, se realizaron diferentes estudios para evaluar las condiciones nutricionales asociadas al crecimiento fúngico. Dentro de estas, se identificaron elementos tales como el carbono, nitrógeno, fósforo y azufre (Byrde y Willets, 1977; Moore, 1998). Mientras que el magnesio, calcio y sodio en altas concentraciones impiden su crecimiento (Jones y Jennings, 1965). En los últimos años, se ha propuesto que los nutrientes como el nitrógeno y el fósforo están estrechamente relacionados con la composición de la microbiota del suelo. Zhang *et al.* (2018) observaron que el aumento en la concentración de nitrógeno puede disminuir la masa microbiana de los hongos, mientras que el fósforo orgánico puede modificar la composición de las comunidades microbianas (DeForest y Scott, 2010). También, se han realizado estudios en lugares impactados por la agricultura, en los cuales se ha registrado una baja abundancia de hongos microscópicos (Fraterrigo *et al.*, 2006).

Existen diferentes factores como la disponibilidad de nutrientes, el agua y los ciclos de nutrientes que ocurren entre la vegetación y el suelo, que contribuyen al funcionamiento del bosque (Sharma y Sharma, 2004), ya que los nutrientes influyen en la productividad primaria del bosque, y además, su disponibilidad depende de la cantidad y la composición química de la hojarasca que influye en la descomposición (calidad de la hojarasca) (Chapin III *et al.*, 2002; Foster y Bhatti, 2006; DeForest y Scott, 2010).

La meteorización de los minerales, consiste en un conjunto de procesos mecánicos o químicos que alteran a las rocas y minerales, el cual también será esencial, ya que nutrientes como el fósforo se obtienen principalmente del intemperismo de los minerales primarios (Foster y Bhatti, 2006; Schlesinger y Bernhard, 2013; Tapia-Torres y García-Oliva, 2013). De manera general, la disponibilidad de nutrientes se verá influenciada por diversos factores abióticos tales como la temperatura, debido a que puede promover la actividad microbiana. También, se ha visto que este factor tiene efectos indirectos sobre la humedad del suelo y la calidad y cantidad de materia orgánica, debido a que en un escenario con altas temperaturas, puede ocurrir una disminución en la humedad en el suelo y un incremento en la calidad de la hojarasca (Chapin III *et al.*, 2002).

Aunado a esto, la humedad del suelo juega un papel importante para los microorganismos. En esencia es necesaria para que lleven a cabo la descomposición (Cepero de García *et al.*, 2012). Sin embargo, cuando hay un exceso de humedad, el agua puede considerarse un medio limitante para que obtengan oxígeno. Por último, los minerales de arcilla que se encuentran en el suelo pueden interaccionar químicamente con la materia orgánica, las enzimas producidas por los microorganismos o los productos solubles de la descomposición, por lo que puede disminuir la tasa de descomposición (Chapin III *et al.*, 2002).

Particularmente, el carbono es el elemento más abundante en los bosques, seguido del nitrógeno, el fósforo y el potasio (Foster y Bhatti, 2006). Se ha observado que las concentraciones de estos nutrientes aumentan conforme incrementa la complejidad del tejido vegetal. Por lo que en un bosque establecido podremos encontrar proporciones de C:N desde 15:1 hasta 500:1, mientras que de C:P desde 25:1 hasta 1850:1 (Dighton, 1995). Esta gran diversidad y complejidad química de sustratos que se encuentran en el bosque, favorecerá el crecimiento y reproducción de los hongos. También permitirá la coexistencia de estos microorganismos mediante la repartición de nutrientes. Sin embargo, es importante tomar en cuenta la contribución de otras variables ambientales (temperatura, potencial del agua, concentración de O₂ y CO₂), en el resultado de las interacciones entre estos microorganismos (Magan *et al.*, 2003; Hiscox *et al.*, 2018).

Se ha observado que los requerimientos nutrimentales varían entre especies fúngicas, lo que depende de su capacidad de utilizar diferentes fuentes de carbono (Marín *et al.*, 1998). Sin embargo, en ocasiones existen especies que comparten recursos, resultando en interacciones de competencia (Magan *et al.*, 2003). Por lo tanto, ante una baja disponibilidad de nutrientes en estudios *in vitro*, se ha reportado que durante los primeros días, los microorganismos (hongos/bacterias) presentan interacciones de cooperación (Velez *et al.*, 2018). Posteriormente, estas interacciones tienden a modificarse y prevalecen interacciones de antagonismo fuertes (López Pacheco, 2019; Marini-Macouzet *et al.*, 2020). Por lo tanto, se puede inferir que la concentración y calidad de los nutrientes son un factor importante en la dinámica entre las comunidades microbianas.

2.3 Fundamentos teóricos para el estudio de las interacciones ecológicas en microorganismos

Las interacciones pareadas entre organismos se comenzaron a estudiar utilizando modelos matemáticos como el de Lotka-Volterra (Volterra, 1926; Lotka, 1932), el cual se basa en un par de ecuaciones que consideran el tamaño de las poblaciones, las tasas intrínsecas de incremento, sus capacidades de carga y coeficientes de competición, este último es una relación que considera el efecto de la especie 1 sobre el crecimiento de la especie 2 y, viceversa. En general, este modelo junto con los gráficos de isóclinas, sirven para predecir el resultado de una interacción interespecífica entre dos especies (Neal, 2004; Begon *et al.*, 2006).

Recientemente, se han empleado dichas bases teóricas para explicar las interacciones entre micromicetes (Hernández Monroy, 2019; López Pacheco, 2019). Dentro de estos trabajos, las principales teorías que se abordan son la Teoría de Genotipos (Mitri y Foster, 2013), la Hipótesis de la Reina Roja (Bonachela, 2017) y la Teoría del Mercado Microbiano (Werner, 2014). Se ha propuesto que durante las interacciones intraespecíficas (al ser de la misma especie) pueden ocurrir interacciones de cooperación, lo cual se explica con la Teoría del Mercado Microbiano (Werner, 2014) debido al intercambio de bienes o servicios entre dos especies (Hernández Monroy, 2019; López Pacheco, 2019). Mientras que, en las interacciones interespecíficas se ha observado que algunos organismos como *Penicillium sp.*

y *Sordariales* sp. tienen la capacidad de mantener su interacción de competencia durante 14 días; sin embargo, se desconoce si la interacción cambió posterior al día 14, ya que fue el último día en el que se evaluó el crecimiento de los micromicetes en co-cultivo (Hernández Monroy, 2019). Por otra parte, el Efecto Gadgil explica que la interacción entre hongos saprófitos y micorrízicos disminuye la tasa de descomposición de materia orgánica, esto lo comprobaron mediante experimentos en campo en los que emplearon zanjas, lo que provocaba una exclusión de los hongos ectomicorrízicos, y por ende, se observó que había una tasa de descomposición más alta que en las parcelas con los se encontraban ambos gremios funcionales (Fernandez y Kennedy, 2016).

El estudio de las interacciones entre hongos, se han enfocado en aquellos hongos (ej. *Trichoderma* sp.) que son considerados como agentes potenciales para el biocontrol por su capacidad para disminuir las poblaciones de los hongos fitopatógenos en plantas de interés comercial (Abdel-Fattah *et al.*, 2007). Con el fin de evaluar las interacciones entre micromicetes se han propuesto índices que emplean valores cuantitativos (ej. el porcentaje de inhibición y el *Overall Antagonism Index*) que permiten evaluar el porcentaje de inhibición de la colonia de una especie en co-cultivo con referencia a su área en monocultivo (Asthana y Shearer, 1990; Mishra, 2010). Por otro lado, hay índices como el índice de dominancia que emplean valores para categorizar las interacciones con base en datos sobre la inhibición de uno o ambos competidores y la cercanía de las colonias cuando se encuentran en co-cultivo (Magan y Lacey, 1984). Por ejemplo, Magan y Lacey (1984), identificaron que *Penicillium brevicompactum* y *Penicillium hordei* posiblemente eran las especies dominantes, usando su categorización de tipo de interacciones, dentro del grupo de hongos aislado de granos de trigo.

2.4 Resumen de las principales interacciones ecológicas entre micromicetes.

El estudio de las interacciones entre micromicetes se ha enfocado en aquellas que tienen un beneficio para el hombre (Elad *et al.*, 1983; Harris, 1999; Rodríguez *et al.*, 2011). Por ejemplo, se ha evaluado la capacidad de algunos hongos para disminuir la presencia y el efecto de los hongos patógenos sobre los cultivos agrícolas. El análisis de estas interacciones en medios sólidos, ha permitido identificar el tipo de interacciones que se desarrollan, de los

cuales se ha reconocido principalmente el antagonismo (Tabla 2). Este tipo de interacción implican la reducción del crecimiento del hongo patógeno, tomando como referencia el monocultivo o caja control y la producción de un halo de inhibición (Rodríguez *et al.*, 2011; Boughalleb-M´Hamdi *et al.*, 2018).

Por otro lado, se han estudiado aspectos ecológicos de un grupo en particular de hongos degradadores de madera (*Basidiomycota*), en los cuales se ha observado la influencia de factores abióticos como la temperatura, el potencial del agua y las concentraciones de O₂ y CO₂ en el resultado de las interacciones (Hiscox *et al.*, 2016; Hiscox *et al.*, 2018). Estos resultados se clasifican, dependiendo del porcentaje del territorio ocupado por ambos hongos, en: *deadlock* o remplazo (total, parcial o mutuo), los cuales nos permiten evaluar la capacidad combativa de los hongos mediada por mecanismos antagónicos (Hiscox *et al.*, 2015; Hiscox *et al.*, 2018).

Estos mecanismos están estrechamente relacionados con la producción de compuestos volátiles o difusibles y enzimas, los cuales forman parte fundamental de la protección del territorio o, en su defecto, el combate con otros microorganismos (Hiscox *et al.*, 2018). Sin embargo, conforme transcurre el tiempo de la interacción los nutrientes se van agotando, entonces la disponibilidad de nutrientes tienen un papel importante para mantener estos mecanismos y la permanencia del hongo en su espacio (Hiscox *et al.*, 2016; Hiscox *et al.*, 2018).

Tabla 2. Ejemplo de los principales tipos de interacción entre micromicetes reportados en la literatura.

Organismos en interacción	Grupo funcional	Tipo de interacción	Referencia
<i>Coniothyrium minitans</i> / <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	Fitopatógeno/ Fitopatógeno	Inhibición	Whipps y Magan, 1987
<i>Clonostachys rosea</i> / <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	Micoparásito/Fitopatógeno	Inhibición	Rodríguez <i>et al.</i> , 2011
<i>Trichoderma koningii</i> / <i>Rhizoctonia solani</i>	Micoparásito/Fitopatógeno	Antagonismo	Harris, 1999
<i>Trichoderma hamatum</i> / <i>Rhizoctonia solani</i>	Micoparásito/Fitopatógeno	Parasitismo	Elad <i>et al.</i> , 1983
<i>Fusarium solani</i> / <i>Purpureocillium lilacinum</i>	Patógeno/Nematófago	Antagonismo	López Pacheco, 2019
<i>Tolypocladium geodes</i> / <i>Fusarium oxysporum</i>	Entomopatógeno/Fitopatógeno	Antagonismo	Fryar <i>et al.</i> , 2005
<i>Monodictys pelagica</i> / <i>Beverwykella pulmonaria</i>	Saprobio/saprobio (se encuentran sobre restos vegetales bajo el agua)	Neutralismo (no afecta su crecimiento comparando con el control)	Fryar <i>et al.</i> , 2005
<i>Annulatacus velatisporus</i> / <i>Pleurophragmium</i> sp.	Saprobio/Saprobio	<i>A. velatisporus</i> disminuye su crecimiento	Fryar <i>et al.</i> , 2005

En conclusión, la actividad antagónica de los hongos es importante para inhibir a los hongos fitopatógenos (Elad *et al.*, 1983; Harris, 1999; Rodríguez *et al.*, 2011). Actualmente, los principales estudios sobre interacciones en BMM son entre bacterias, asiladas de la rizósfera de algunas especies de árboles que pertenecen a la familia Lauraceae, y hongos fitopatógenos

como *Fusarium solani* y *Fusarium oxysporum*, los cuales se demostró que son inhibidos, entre el 6 al 31%, por algunos aislados de estas bacterias (Reverchon *et al.*, 2019). Sin embargo, han sido poco estudiadas las interacciones entre micromicetes del BMM, especialmente, entre los miembros representativos de diferentes grupos funcionales.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El BMM es un ecosistema constantemente amenazado por actividades humanas como la agricultura y la ganadería. Estas actividades alteran las condiciones de nutrientes del suelo; lo cual potencialmente podría repercutir en la composición de la microbiota nativa y sus procesos ecosistémicos asociados. Sin embargo, aún se desconocen las interacciones ecológicas que se establecen entre los micromicetes edáficos pertenecientes a diversos gremios funcionales de este ecosistema; así como su respuesta a cambios en las condiciones de nutrientes. Es por esto, que la evaluación del efecto que tienen variaciones en la concentración de C y N orgánicos en el crecimiento e interacciones fúngicas, es crucial para entender y predecir los procesos de estructuración de las comunidades bajo diversos escenarios de perturbación.

4. HIPÓTESIS

El crecimiento fúngico variará con respecto a las condiciones de nutrientes evaluadas. Es decir, a mayor concentración de C y N orgánicos aumentará la formación de biomasa. Por lo que se espera que las interacciones prevalentes sean de antagonismo/competencia bajo condiciones empobrecidas.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de condiciones contrastantes de carbono y nitrógeno orgánicos en las interacciones inter- e intraespecíficas entre micromicetes edáficos del bosque mesófilo de montaña (BMM) pertenecientes a cuatro distintos gremios funcionales.

5.2 Objetivos particulares

- Corroborar la identificación taxonómica de los micromicetes mediante técnicas moleculares y la evaluación de caracteres morfológicos.
- Evaluar a través de bioensayos *in vitro* de interacción pareada, la formación de la biomasa fúngica bajo concentraciones contrastantes de carbono y nitrógeno orgánicos.
- Caracterizar las interacciones mediante el uso de índices especializados.

6. MÉTODO

6.1 Sitio de estudio

El estado de Oaxaca está ubicado al sureste de México y abarca el 4.8% del territorio mexicano. Es considerado como uno de los estados con mayor diversidad biológica, debido a su alta heterogeneidad espacial que favorece la presencia de diferentes tipos de climas y de suelos (Monroy Gamboa *et al.*, 2015). La localidad de estudio se encuentra en el municipio de Santiago Comaltepec ubicado en la Sierra Norte de Oaxaca, que forma parte de la Sierra Madre Occidental (H. Ayuntamiento Municipal de Santiago Comaltepec; Ixtlán, Oaxaca, 2010).

Los factores abióticos que caracterizan a esta localidad son la altitud y la precipitación. La altitud se ubica entre los 100 hasta 3 200 m.s.n.m., lo que favorece el establecimiento de diferentes tipos de vegetación (bosque de pino, bosque tropical perennifolio y bosque

mesófilo de montaña); la temperatura promedio anual es de 18°C, mientras que, la precipitación se ha reportado entre los 2 000 y 4 000 mm anuales, la época de lluvias abarca desde el mes de junio hasta noviembre. En cuanto a las características edáficas, se sabe que el tipo de suelo predominante en Santiago Comaltepec es el Luvisol (51.83%), seguido del Cambisol (41.43%), Umbrisol (4.73%), Fluvisol (1.26%) y por último el Acrisol (0.75%) (INEGI, 2005; H. Ayuntamiento Municipal de Santiago Comaltepec; Ixtlán, Oaxaca, 2010; Delgado-Serrano *et al.*, 2015). El sitio de estudio se encuentra ubicado dentro del BMM del Cerro El Relámpago y gracias al manejo del bosque por las comunidades aledañas a este ecosistema, este lugar se considera como un bioma conservado (Delgado-Serrano *et al.*, 2015).

La comunidad de Santiago Comaltepec se basa en un sistema de costumbres, cuya autoridad máxima y designada para establecer el uso de recursos y el bosque es la Asamblea General de comuneros. Se emplea una estrategia conocida como “Community-Based Natural Resources Management” (CBNRM), cuyo objetivo es la coexistencia entre las personas y la naturaleza. Además, tienen planes de uso de suelo y programas de manejo forestal, así como derechos de propiedad otorgados por PROCEDE en 2008. Dentro del territorio se han delimitado 10 300 ha bajo protección forestal, lo que ha promovido el reconocimiento internacional por su estado de conservación (Delgado-Serrano *et al.*, 2015). En trabajos previos, Leocadio Zarco (2021) y Álvarez López (2021) se caracterizaron las condiciones de nutrientes (totales, disponibles y microbianos) del sitio de estudio (Tabla 3).

Tabla 3. Valores promedio de los nutrientes del suelo del sitio de estudio, tomado de Leocadio Zarco (2021) y Álvarez López (2021).

Condiciones	Promedio
C:N:P totales	256:18:1
C:N:P disponibles	85:5:1
C:N:P microbianos	75:8:1

6.2 Identificación morfológica y molecular de los micromicetes seleccionados

Los micromicetes seleccionados para el presente trabajo forman parte de la colección de micromicetes del laboratorio C-121 del Instituto de Biología, UNAM. Por lo que, para evaluar su viabilidad, los aislamientos fueron transferidos a medio Agar Papa Dextrosa (PDA). Una vez corroborado su crecimiento activo, se describieron las características macroscópicas de las colonias, considerando: morfología (plana, agrupada, con pliegues regulares o irregulares), textura (polverulenta, vellosa, algodonosa o aterciopelada), así como la pigmentación en el anverso y reverso del cultivo (García y Cordoba, 1988; Sharma y Pandey, 2010).

Para evaluar caracteres morfológicos de estructuras microscópicas, se utilizó la técnica modificada de microcultivos en medio PDA (Riddell, 1950) (Figura 2). Esta técnica se realiza sobre la superficie de un cubo del medio de cultivo, el cual se inocular con esporas o fragmentos de hifas en los vértices, y finalmente, se coloca un cubreobjetos sobre el cubo. Los microcultivos fueron incubados a temperatura ambiente durante un periodo de 3 a 14 días para identificar estructuras fúngicas como conidióforos y conidios, los cuales fueron utilizados como caracteres diagnósticos para corroborar la asignación taxonómica. A lo largo de ese periodo, se realizaron preparaciones semipermanentes con glicerina y se observaron en el microscopio óptico con el objetivo de 40X; además, se tomó registro fotográfico de las estructuras fúngicas.

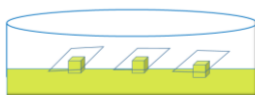


Fig. 2. Diagrama de los microcultivos realizados con los micromicetes.

También, se realizó un BLAST de las secuencias de la región ITS (ITS1-5.8S-ITS2; White *et al.*, 1990) de los aislados fúngicos del BMM de Santiago Comaltepec en Oaxaca obtenidos previamente (Leocadio Zarco, 2021), las cuales se compararon con la base de datos de referencia UNITE (versión v8.2; Nilsson *et al.*, 2019). La asignación taxonómica molecular se realizó con base en el porcentaje de similitud entre las secuencias de referencia y nuestras

secuencias de interés, para asignar a nivel especie se ocupó un porcentaje entre 98-100%, 94-97% para género, y 80-93% para orden (Millberg *et al.*, 2015). Posteriormente, se realizó una reconstrucción filogenética de *Diaporthe novem* empleando el algoritmo de máxima verosimilitud del programa MEGA (versión 11.0.4, Kumar *et al.*, 2018), cuyo método fue Bootstrap (500 réplicas), el cual nos permitió conocer el soporte interno, es decir, la frecuencia con la que se presentó cierto arreglo de las secuencias (Mort *et al.*, 2000), y el modelo de sustitución: Kimura 2-parámetros, con el propósito de tener una mayor resolución a nivel género y/o especie.

6.3 Organismos de estudio

Como anteriormente se mencionó, Leocadio Zarco (2021) evaluó la diversidad de micromicetes en el BMM del municipio de Santiago Comaltepec en Oaxaca. A partir de esta investigación se conformó una colección de micromicetes provenientes del BMM en el Laboratorio C-121 del Instituto de Biología. A partir de esta, se eligieron las siguientes especies representativas de los grupos funcionales: 1) *Clonostachys rosea* (fitopatógeno), 2) *Diaporthe novem* (saprótrofo), 3) *Tolyposcladium geodes* (entomopatógeno), y 4) *Trichoderma koningii* (micoparásito). Los últimos tres micromicetes fueron aislados de la rizósfera de *Alsophila salvinii*, mientras que *C. rosea* se encontraba como fitopatógeno en las frondas. A continuación, se resumen la taxonomía y las características biológicas de los micromicetes seleccionados.

Reino: Fungi (Bartling, 1830)

Phylum: Ascomycota (Caval.-Sm., 1998)

Clase: Sordariomycetes (O.E. Erikss. y Winka, 1997)

Orden: Hypocreales (Lindau, 1897)

Familia: Bionectriaceae (Samuels y Rossman, 1999)

Género: *Clonostachys* (Corda, 1839)

Especie: *Clonostachys rosea* ((Link) Schroers, Samuels, Seifert & W. Gams, 1999)

Hongo saprobio que se encuentra distribuido en diferentes regiones del mundo (ej. Tropicales y templadas), así como en bosques y en zonas de cultivo (Toledo *et al.*, 2006; Rodríguez *et al.*, 2011). Se ha empleado como control biológico contra hongos fitopatógenos (*Sclerotinia sclerotiorum*, *Verticillium dahliae* y *Botrytis cinerea*) por su actividad micoparásita (Toledo *et al.*, 2006; Cota *et al.*, 2008). También, se ha reportado como fitopatógeno de la haba, la remolacha azucarera, una especie de orquídea (*Gastrodia elata*) y la haba de soya, provocando principalmente pudriciones en sus raíces (Bienapfl *et al.*, 2012; Afshari y Hemmati, 2017; Haque y Parvin, 2020; Lee *et al.*, 2020).

Reino: Fungi (Bartling, 1830)

Phylum: Ascomycota (Caval.-Sm., 1998)

Clase: Sordariomycetes (O.E. Erikss. y Winka, 1997)

Orden: Diaporthales (Nannf., 1932)

Familia: Diaporthaceae (Höhn. ex Wehm., 1926)

Género: *Diaporthe* (Fuckel, 1867)

Especie: *Diaporthe novem* (J.M. Santos, Vrandečić & A.J.L. Phillips, 2011)

Hongo de importancia agrícola, provoca daños en los cultivos de frijol (F. Huang *et al.*, 2013). Este hongo desarrolla diferentes roles ecológicos sobre la planta, en ocasiones se puede encontrar como patógeno, en otros como endófitos, y en la materia orgánica depositada en el suelo como saprobio (Danggomen *et al.*, 2013).

Reino: Fungi (Bartling, 1830)

Phylum: Ascomycota (Caval.-Sm., 1998)

Clase: Sordariomycetes (O.E. Erikss. y Winka, 1997)

Orden: Hypocreales (Lindau, 1897)

Familia: Ophiocordycipitaceae (G. H. Sung, J.M. Sung, Hywel-Jones & Spatafora, 2007)

Género: *Tolypocladium* (W. Gams, 1971)

Especie *Tolypocladium geodes* (W. Gams, 1971)

Este género forma parte de los hongos entomopatógenos (Soares Jr. *et al.*, 1985), particularmente *Tolypocladium geodes* ha sido reportado en el suelo de bosques de abetos (Söderström, 1975). Además, se ha observado que esta especie es antagónica de hongos fitopatógenos, saprobios y entomopatógenos (Lundgren *et al.*, 1978).

Reino: Fungi (Bartling, 1830)

Phylum: Ascomycota (Caval.-Sm., 1998)

Clase: Sordariomycetes (O.E. Erikss. y Winka, 1997)

Orden: Hypocreales (Lindau, 1897)

Familia: Hypocreaceae (De Not., 1844)

Género: *Trichoderma* (Pers., 1794)

Especie *Trichoderma koningii* (Oudem., 1902)

Especie considerada micoparasítica de *Sclerotinia sclerotiorum* (Trutmann y Keane, 1990) y antagonista de otros hongos patógenos como *Rhizoctonia solani* (Harris, 1999). Se ha reportado la presencia de este hongo en el suelo del bosque y en campos agrícolas (Trutmann y Keane 1990).

6.4 Bioensayos pareados *in vitro*

Para evaluar las interacciones potenciales entre los micromicetes seleccionados, se realizaron bioensayos *in vitro*. Los controles se establecieron como monocultivos de cada uno de los organismos en cada medio (Tabla 4), mientras que en las placas experimentales se inocularon en co-cultivo fragmentos de micelio. Para el diseño del medio se eligió el medio CP, cuya composición consiste en 10 g. de extracto de levadura L⁻¹, 11 g. de D (+)-glucosa L⁻¹, 10 g. de NaCl L⁻¹ y 15 g. de agar L⁻¹ (Velez *et al.*, 2018; Marini-Macouzet *et al.*, 2020), ya que debido a estructura química nos permitió modificar las variables que nos interesaban, es decir, las concentraciones de carbono, o de nitrógeno en el medio. Posteriormente se escogieron compuestos como la sacarosa (C₁₂H₂₂O₁₁; peso molecular 342.30 g/mol; Aguilar Rivera *et al.*, 2012) y triptona (C₃H₅NO; peso molecular 71.08 g/mol; Fisher scientific), ya que son compuestos usualmente elegidos en las prácticas de microbiología como fuente de carbono y nitrógeno, respectivamente, para los medios de cultivo. Posteriormente, se

revisaron algunos manuales de microbiología, lo que nos permitió conocer la cantidad de sacarosa y triptona que generalmente contienen los medios de cultivo. A partir de estos datos se decidieron modificar la cantidad de sacarosa, que es nuestra fuente principal de carbono, y de triptona que provee nitrógeno y carbono, y se calculó la relación C:N, que representa la proporción de la cantidad de carbono con respecto a la cantidad de nitrógeno en el medio (Tabla 4; Brust, 2019). Para cada medio se utilizaron 42 cajas Petri de cristal (12 para controles y 30 para interacciones pareadas) y, en total para los bioensayos, se elaboraron cuatro medios de cultivo sólido con diferentes concentraciones de carbono y nitrógeno (Tabla 4).

Tabla 4. Composición química de cada medio de cultivo empleado para los bioensayos *in vitro*. Se utilizó agar al 1.5% en todos los casos.

Medio	Abreviación	Sacarosa (g)		Triptona (g)		Relación C:N
Enriquecido en carbono	C+	15		10		5.80
		6.31 g C	0 g N	5.06 g C	1.96 g N	
Empobrecido en carbono	C-	2		10		3.01
		0.84 g C	0 g N	5.06 g C	1.96 g N	
Enriquecido en nitrógeno	N+	10		15		3.99
		4.20 g C	0 g N	7.59 g C	2.95 g N	
Empobrecido en nitrógeno	N-	10		2		13.35
		4.20 g C	0 g N	1.01 g C	0.39 g N	

Los bioensayos se desarrollaron en cajas Petri por triplicado. En el envés de la caja se marcaron dos círculos de un tamaño determinado separados a una distancia de 3mm, que es la distancia mínima estandarizada que permite el crecimiento de los hongos y evita que se inhiban en una etapa temprana de su crecimiento (Figura 3). Posteriormente, se inocularon dos fragmentos de micelio de la zona de crecimiento de 25mm² cada uno, de diferentes especies en las interacciones interespecíficas y de la misma especie en las interacciones intraespecíficas, dentro de cada círculo marcado. Las condiciones ambientales a las que fueron incubados los bioensayos, fueron de acuerdo a la temperatura promedio y humedad mínima reportadas en el BMM. Las cajas se incubaron en cámaras ambientales en el Instituto de Ecología de la UNAM con ciclos de luz y oscuridad 12 horas cada uno y a temperatura de 18 °C, la cual es la temperatura promedio reportada en BMM de Santiago Comaltepec,

Oaxaca (Pacheco-Cruz *et al.*, 2020). También se controló la humedad, la cual oscilaba entre 70-75% aproximadamente (porcentaje de humedad mínima reportada para el BMM; Pérez Farrera *et al.*, 2010), y se midió con un medidor de humedad y temperatura digital HT-86. Se realizó un registro fotográfico del envés y anverso de las cajas en los días 3, 5, 7, 10, 12, 14 en condiciones idénticas de luz en cada toma. El número de días que se desarrolló el experimento, se decidió con base en el tiempo que *T. koningii* y *D. novem* necesitaban para crecer sobre todo la superficie del medio de cultivo PDA en las pruebas de viabilidad.

Las fotos fueron procesadas con el programa ImageJ (versión 1.52a; Schneider *et al.*, 2012), para medir el área total de los aislados en milímetros. A partir de los datos de área total obtenidos para cada uno de los hongos en las interacciones pareadas y controles, se promedió el área de las tres replicas para obtener la media de los datos. Posteriormente, se elaboraron tablas con dichos promedios, se graficaron y se calculó la desviación estándar.

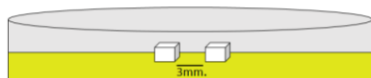


Fig. 3. Diagrama de los bioensayos de las interacciones.

6.5 Análisis estadísticos de los datos

Se calcularon cuatro índices de interacción para evaluar patrones de crecimiento y diferenciar los tipos de interacción entre los micromicetes. Primero, se empleó el porcentaje del área total (propuesto en el presente trabajo), que compara el área total de un aislado en el medio rico en carbono (C+), o rico en nitrógeno y carbono (N+) con el área de la misma especie el medio pobre en carbono (C-), o pobre en nitrógeno y carbono (N-). Por lo que, a continuación se muestra y describen las dos fórmulas ocupadas para obtener este porcentaje:

$$Pa = \left(100\% - \frac{(ac)(100\%)}{aC} \right)$$

Donde Pa es el porcentaje del área total de diferencia entre el medio pobre en nutrientes en comparación con el medio rico en nutrientes, ac es el área total del aislado en medio C- y aC, el área total del aislado en el medio C+.

$$Pa = \left(100\% - \frac{(an)(100\%)}{aN} \right)$$

Donde Pa es el porcentaje del área total de diferencia entre el medio pobre en nutrientes en comparación con el medio rico en nutrientes, an es el área total del aislado en medio N- y aN, el área total del aislado en el medio N+. En ambas fórmulas, los valores positivos indican que el porcentaje del área total disminuye en el medio pobre en nutrientes con respecto a uno rico, y los valores negativos, indican que el área del aislado es mayor en un medio pobre en nutrientes que en uno rico.

Posteriormente, se calculó el porcentaje de Inhibición (PII) de Mishra (2010), que indica el porcentaje de inhibición o estimulación del crecimiento de una determinada especie de micromicete al estar en co-cultivo con otra especie. En este caso, se empleó la siguiente fórmula en la que PII indica el porcentaje de inhibición; GI, el área total del hongo en interacción; Gc, el área total del control y, ambas, II y Ic, indican el área del inóculo que, en todos los casos, tenía un área aproximada de 25 mm². Los valores obtenidos se interpretaron de la siguiente manera: los valores negativos representaron las interacciones de cooperación, los valores cercanos al cero (del cero al diez) indicaron neutralismo, y los valores positivos, antagonismo (Marini-Macouzet *et al.*, 2020).

$$PII = \left(1 - \frac{GI - II}{Gc - Ic} \right) (100)$$

También, se obtuvieron los valores del *Overall Antagonism Index* (OAI) de resistencia y de antagonismo (Asthana y Shearer, 1990). El OAI es la suma del porcentaje de inhibición calculado para cada especie en interacción. El OAI de resistencia representa la

habilidad general de una especie para resistir la inhibición por parte de los demás; mientras que, el OAI de antagonismo indica la habilidad general de un hongo para inhibir o estimular el crecimiento de las otras especies (Asthana y Shearer, 1990). Por lo que, los valores positivos representaron antagonismo, los valores cercanos al cero (del cero al diez) indicaron neutralismo, y valores negativos, cooperación (Marini-Macouzet *et al.*, 2020). En ambos casos, la fórmula usada para calcular el Overall Antagonism Index (OAI) es la siguiente:

$$OAI = \sum PII$$

En donde el OAI representa la suma de los porcentajes de inhibición (PII) y el PII es el porcentaje de inhibición del crecimiento de un hongo, el cual considera el área del control y el área total del hongo en interacción.

Finalmente, se identificaron algunos rasgos morfológicos en las fotografías. Por ejemplo la presencia de exudados, halos de inhibición y cambio de coloración del medio, los cuales nos permitirán identificar patrones que relacionen estas observaciones con antagonismo hacia la otra especie. Se analizaron las fotografías del último día de los bioensayos y los porcentajes de inhibición para reconocer si había antagonismo mientras el micelio de las especies estaba en contacto, a lo cual llamamos antagonismo con contacto, o si el antagonismo ocurrió sin contacto entre las especies, denominado como antagonismo a distancia (Boddy, 2000; Hiscox *et al.*, 2018). Posteriormente, se calculó el índice de dominancia (Magan y Lacey, 1984), que representa la habilidad de una especie para dominar en ciertas condiciones ambientales (Marín *et al.*, 1998). Para ello se clasificaron las interacciones según Magan y Lacey (1984) en: entrecruzamiento (codificado como 1); antagonismo mutuo con contacto (codificado como 2); antagonismo mutuo a distancia (codificado como 3); antagonismo con contacto hacia una especie, en esta categoría una especie continúa creciendo e inhibe a la otra especie, por lo que se le considera a esta especie como dominante (codificado como 4), mientras que el crecimiento de la otra especie en el co-cultivo se inhibe (codificado como 0), y la última categoría consiste en el antagonismo a distancia hacia una especie, la especie dominante continúa creciendo (codificado como 5), mientras que la otra especie es inhibida por la especie dominante (codificado como 0).

$$\text{Índice de dominancia} = \sum (\text{del valor dado a cada tipo tipo de interacción})$$

En el índice de dominancia se obtiene de la suma de los valores dados para cada tipo de interacción específicamente para cada especie en combinación con las demás especies. Los valores obtenidos se interpretan de la siguiente manera: si la especie obtiene valores entre 18 y 12 se puede considerar que la especie es la más competitiva, y además, como presentó interacciones con valores de 4 o 5, se podría inferir que esta especie podría dominar entre las especies evaluadas. Por el otro lado, si las interacciones presentan generalmente valores de 2 o 3 sólo se interpreta que las especies son competitivas y, por último, si los valores son principalmente de 0, 1, o en pocas ocasiones 2 o 3 representa que la especie es poco competitiva (Magan y Lacey, 1984).

7. RESULTADOS

7.1 Identificación morfológica y molecular de los micromicetes seleccionados

Los micromicetes *T. koningii* y *C. rosea* presentaron algunas características microscópicas en común (Tabla 6), como son las hifas septadas hialinas, así como estructuras de reproducción asexual tales como conidióforos y sus conidios. En particular, *T. geodes* y *D. novem* no formaron estructuras reproductivas, durante las dos semanas en las que se analizaron los microcultivos, por lo que la validación de su determinación taxonómica dependió del análisis de la región ITS (Figura 4 y Tabla 5).

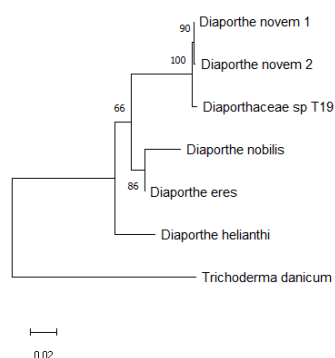


Fig. 4. Reconstrucción filogenética de *D. novem* creada mediante el programa MEGA versión 11.0.4. Usando el análisis de máxima verosimilitud, el método Bootstrap (500 réplicas) y el modelo de sustitución: Kimura-dos parámetros. Nuestra secuencia

evaluada fue denominada como *Diaporthaceae* sp. T19, mientras que el resto de las secuencias fueron obtenidas de la base de datos UNITE.

Especie: *Clonostachys rosea* ((Link) Schroers, Samuels, Seifert & W. Gams, 1999)

Descripción: La colonia tenía un aspecto algodonoso compactado, una coloración blanca, y en el envés de la caja se observó una leve pigmentación de color naranja en el medio PDA (Figura 5). En este medio se reportó un crecimiento relativamente lento, aproximadamente el micelio de la colonia tardó dos semanas en cubrir toda la superficie de la caja. En cuanto a las observaciones microscópicas se reconocieron hifas hialinas con septos; además de conidióforos y conidios con un aspecto elipsoide.

Especie: *Diaporthe novem* (J.M. Santos, Vrandečić & A.J.L. Phillips, 2011)

Descripción: *Diaporthe novem* desarrolló colonias de color blanco y de consistencia algodonosa. En cuanto las estructuras microscópicas, sólo se observaron hifas septadas y ramificadas, que a diferencia de las hifas de los demás hongos (*Tolypocladium geodes*, *Trichoderma koningii* y *Clonostachys rosea*) son más gruesas y melanizadas (Figura 6).

Especie *Tolypocladium geodes* (W. Gams, 1971)

Descripción: *Tolypocladium geodes* presenta colonias de color blanco con consistencia algodonosa compacta. Como parte de las características microscópicas *Tolypocladium* presenta hifas septadas hialinas (Figura 7).

Especie *Trichoderma koningii* (Oudem., 1902)

Descripción: La colonia de esta especie presentó una consistencia algodonosa, el micelio era de color blanco, presentaba anillos de crecimiento, y en el envés de la caja no se observaba algún cambio de coloración del medio PDA. Mientras que, en las observaciones realizadas con el microscopio óptico se identificaron hifas septadas hialinas; además de conidióforos ramificados con fiálides con forma de botella y conidios globosos (Figura 8).

Tabla 5. Asignación taxonómica molecular de los micromicetes seleccionados.

Secuencia de referencia UNITE	% Similitud	e-value	Número de acceso UNITE	Identidad	Número de acceso NCBI
<i>Clonostachys rosea</i>	99	0	MN511326	<i>Clonostachys rosea</i>	MT109000
<i>Clonostachys rosea</i>			KX421414		
<i>Clonostachys</i> sp.			KP998525		
<i>Clonostachys</i> sp.			KM265525		
<i>Clonostachys rosea</i>			MH859090		
<i>Diaporthe novem</i>	99	0	MH864503.1	<i>Diaporthaceae</i> sp.	MT108997
<i>Diaporthe novem</i>			MH299960.1		
<i>Diaporthe novem</i>			MH299958.1		
<i>Diaporthe novem</i>			MH020798.1		
<i>Phomopsis</i> sp.			FN597586.1		
<i>Tolypocladium geodes</i>	99	0	MH859919	<i>Tolypocladium geodes</i>	MT108995
<i>Tolypocladium</i> sp.			KU556539		
<i>Tolypocladium geodes</i>			JX507694		
<i>Trichoderma koningii</i>	100	0	Z79628	<i>Trichoderma koningii</i>	MT109010
<i>Trichoderma koningii</i>			X93983		
<i>Trichoderma koningii</i>			MN516479		
<i>Trichoderma koningii</i>			MN516476		
<i>Trichoderma koningii</i>			MN516475		

□

Fig. 5. Características macroscópicas y microscópicas de *C. rosea*.

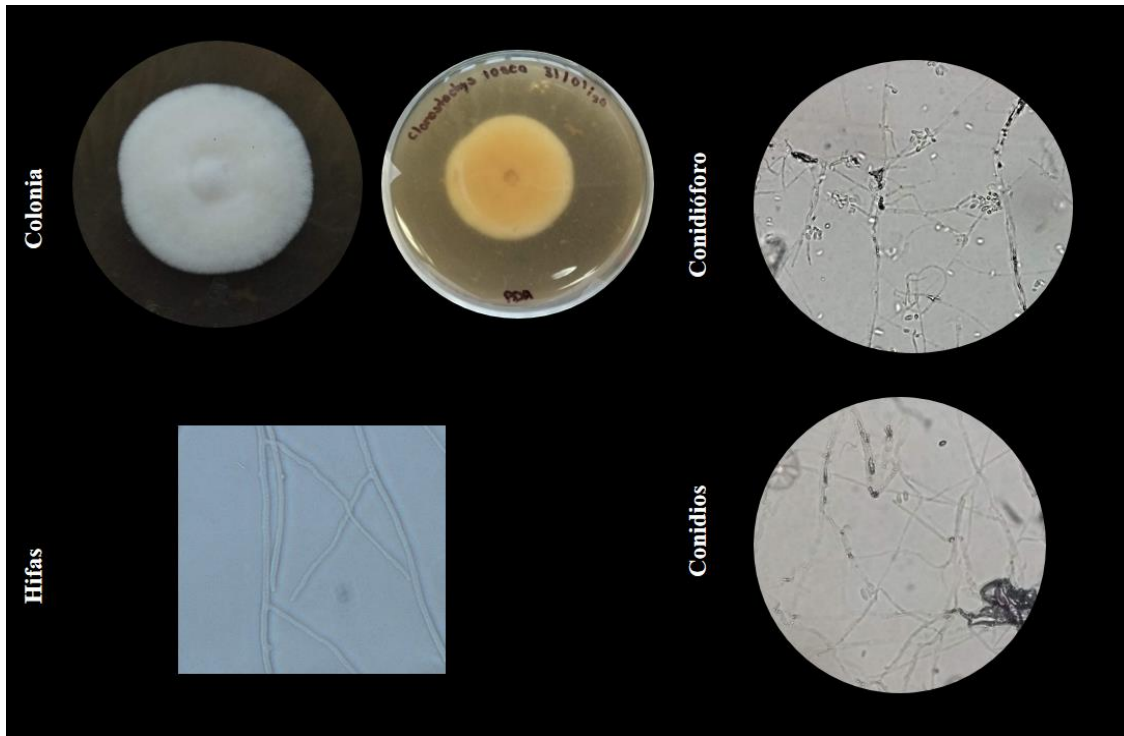


Fig. 6. Características macroscópicas y microscópicas de *D. novem*.

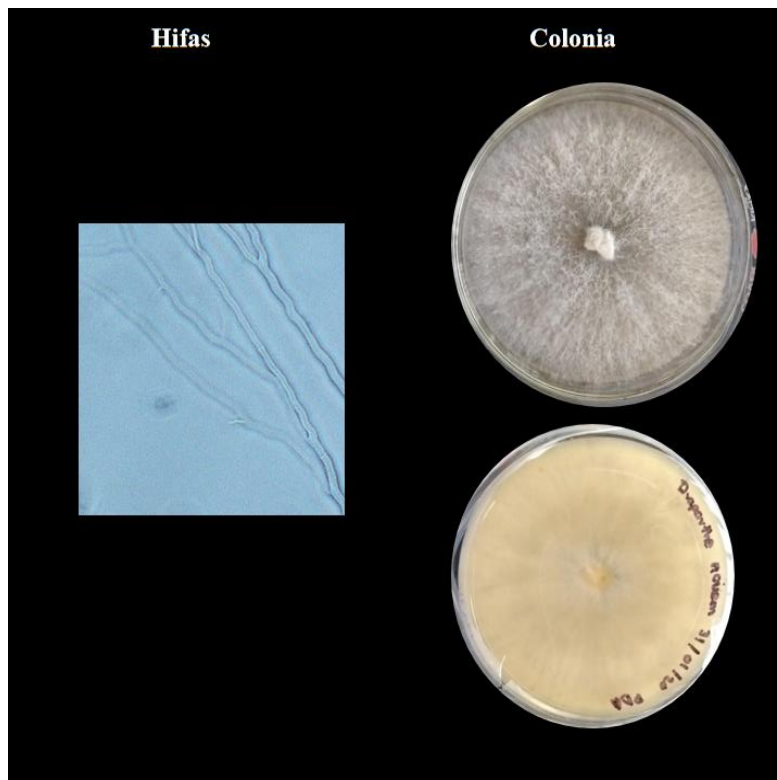


Fig. 7. Características macroscópicas y microscópicas de *T. geodes*.

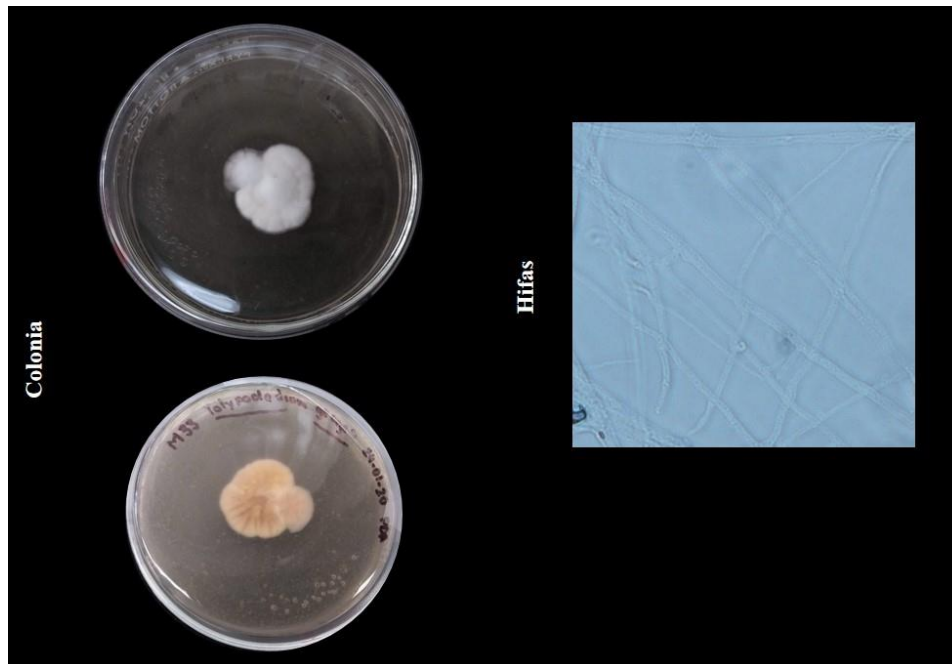


Fig. 8. Características macroscópicas y microscópicas de *T. koningii*.

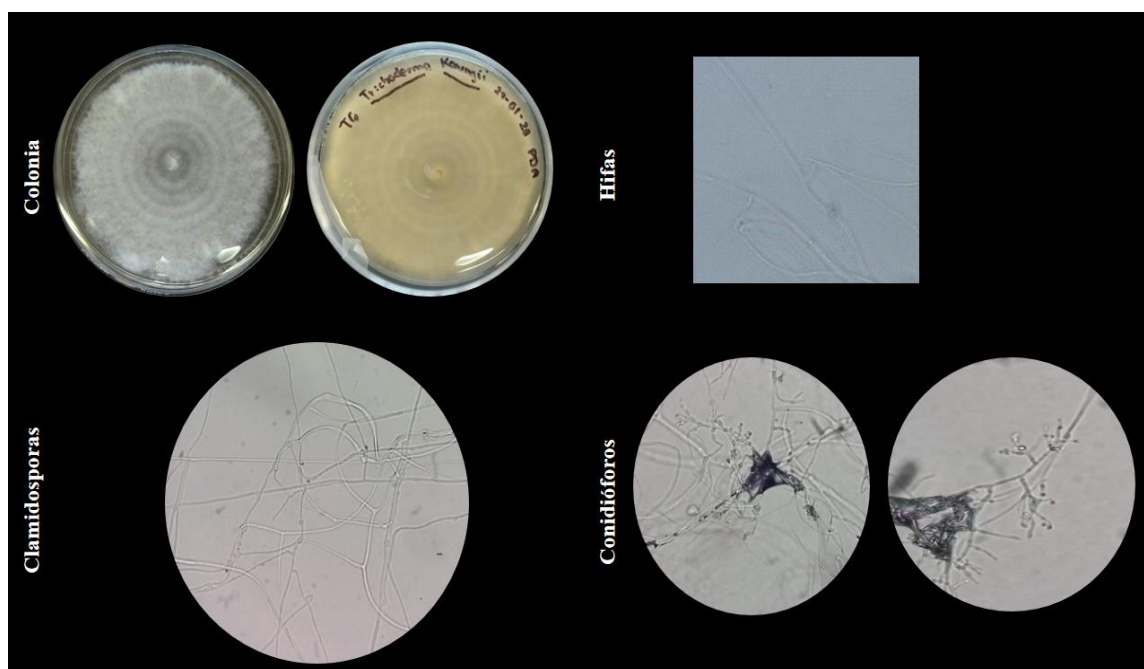


Tabla 6. Características morfológicas de los micromicetes seleccionados.

	Prueba de viabilidad	Hifas	Estructuras de reproducción	Estructuras de resistencia
<i>T. koningii</i>	✓	Hialinas Septadas	Conidióforos/ Conidios	Clamidosporas
<i>C. rosea</i>	✓	Hialinas Septadas	Conidióforos/ Conidios	—
<i>T. geodes</i>	✓	Hialinas Septadas	—	—
<i>D. novem</i>	✓	Melanizadas Septadas	—	—

7.2 Bioensayos *in vitro*

7.2.1 Área de los aislados en medios de cultivo con diferentes concentraciones de carbono y nitrógeno

Dentro de los controles se observó que los medios con diferentes concentraciones de C y N, tienen efectos heterogéneos en el crecimiento fúngico (Figura 9), pero no en las características macroscópicas de las colonias. Al comparar las gráficas del medio enriquecido (C+) y el empobrecido (C-) en carbono, se identificaron diferencias en el área de los controles de *T. koningii*, *C. rosea* y *D. novem*. Consideramos que, las gráficas muestran diferencias entre sí, cuando no se sobrelapan las barras de error con desviación estándar. Utilizando el porcentaje del área total, se observó que el área de estos tres hongos anteriormente mencionados en el medio C-, específicamente el día 14, disminuye un 73%, 34% y 20%, respectivamente, comparados con el medio C+. Mientras que, en el caso de *T. geodes*, el área de la colonia disminuye un 50%, pero se observa un sobre lape de las barras de error de C+ y C-, por lo que no se considera que haya diferencias.

A diferencia, en los medios con diferentes concentraciones en nitrógeno (N+ y N-), los hongos que presentaron diferencias notables fueron *C. rosea* y *T. geodes*. Este último hongo disminuyó un 46% del área de su colonia en concentraciones pobres en nitrógeno y carbono (medio empobrecido en nitrógeno), con respecto al medio enriquecido en nitrógeno. Por otro lado, el porcentaje del área total de *C. rosea* era negativo, lo que indica que el área total en medio N+ era menor que en el medio N-.

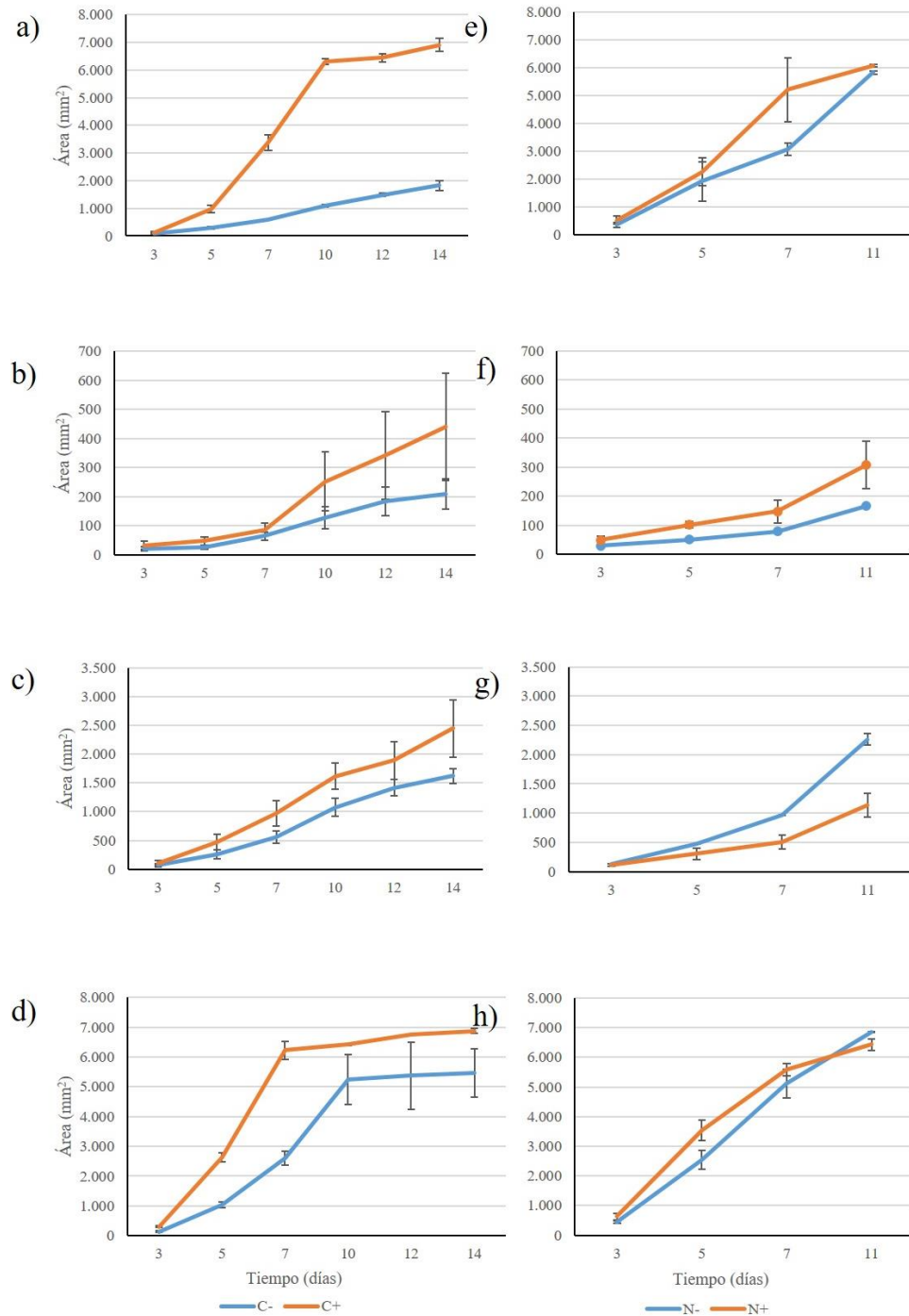


Fig. 9. Área promedio de los micromicetes en diferentes condiciones de nutrientes, a-d corresponden al medio con las concentraciones de C contrastantes (C- = 5.9 g C L⁻¹, C+ = 11.37 g C L⁻¹) y e-h corresponden al medio de nitrógeno (N- = 0.39 g N L⁻¹, 5.21 g C L⁻¹; N+ = 2.95 g N L⁻¹, 11.79 g C L⁻¹). Controles de *T. koningii* (a, e), *T. geodes* (b, f), *C. rosea* (c, g) y *D. novem* (d, h). Las barras de error representan la desviación estándar de los datos del área total de las réplicas (n=3).

Resumen (medio empobrecido y enriquecido en carbono)

A continuación, se presentan los resultados más relevantes encontrados en los bioensayos *in vitro* en el medio empobrecido en carbono (C-), el cual contiene 5.9 g C L⁻¹ y 1.96 g N L⁻¹, y en el medio enriquecido en carbono (C+) con 11.37 g C L⁻¹ y 1.96 g N L⁻¹. En las gráficas, se observó que *T. koningii* disminuyó su área al estar en co-cultivo con todos hongos evaluados en el medio C-, en contraste con el medio C+, en el cual sólo ocurrió cuando estaba creciendo en los ensayos pareados con él mismo y *D. novem*; además, cabe resaltar que, la presencia de *T. koningii* disminuyó el área de cada uno de los hongos en el medio C+, lo que indica que la concentración de carbono en el medio para que *T. koningii* es importante para que inhiba a las demás especies. Por otra parte, los valores obtenidos del índice OAI de antagonismo mostraron que *C. rosea* fue la especie con valores más altos en el medio C-, lo que se le atribuye al antagonismo hacia *T. koningii*, *D. novem* y *C. rosea*, mientras que, en el medio C+, *T. koningii* obtuvo elevados valores de OAI, esto concuerda con los resultados de las gráficas de área en las que se observó que, *T. koningii* inhibió a las demás especies.

En el caso de los porcentajes de inhibición, se identificó un mayor número de casos de cooperación (cada caso está representado por una flecha en la [Figura 10](#)) el día 5 en el medio C-, mientras que, se registraron sólo 9 casos de este tipo de interacción en el medio C+. Por otra parte, el número de casos de antagonismo fue mayor (13 casos) en el medio C+ que, en el medio C- (8 casos) en el día 11. Por lo tanto, en ambos medios se observó una tendencia hacia el incremento de casos de antagonismo conforme avanzaba el tiempo del experimento.

En cuanto a las observaciones de pigmentación durante los bioensayos, la presencia de pigmentación naranja y amarilla producida por *C. rosea* y *D. novem*, respectivamente, se observó en los medios C+ y C-. Sin embargo, las interacciones que presentaron la pigmentación fueron diferentes, por ejemplo, en el medio C-, se observó la coloración en el bioensayo entre, *T. koningii* y *D. novem*, a diferencia del medio C+. En cuanto al índice de dominancia, la especie más competitiva fue *C. rosea* en el medio C- y, en el medio C+, *T. koningii*.

7.2.2 Medio empobrecido en carbono

Cambio de las interacciones a través del tiempo

Inicialmente, se observó que los tipos de interacciones cambiaron a través del tiempo, ya que el tipo de interacciones eran diferentes al principio y al final de experimento (Tabla 15); por lo tanto, se definieron tres puntos en el tiempo (día 5, 10 y 14) para calcular el porcentaje de inhibición. De manera general (Figura 10), se identificó un mayor número de casos de cooperación (13 casos) que de antagonismo (dos casos) en el día 5. Después de 5 días, el número de casos de los tipos de interacción cambió, de manera que se observó un mayor número de casos de antagonismo (ocho casos) en el día 10, que en días anteriores y, en el día 14, se reportaron diez casos de antagonismo, dos de cooperación y uno de neutralismo.

En el día 5, se obtuvieron valores principalmente negativos, los cuales representan interacciones de cooperación entre la mayoría de las interacciones intra- e interespecíficas; con excepción de algunos bioensayos, en los que se reportaron valores positivos (indicando antagonismo), por ejemplo, cuando *T. koningii* estaba en co-cultivo con *T. koningii* y *T. geodes* con *D. novem*. Por otro lado, se registraron valores entre el 0 y el 10% de PII cuando *D. novem* se encontraba en co-cultivo con él mismo, y se interpretaron como neutralismo.

Mientras que en el día 10, se obtuvieron distintos valores de porcentaje de inhibición, a diferencia del día 5. Con la excepción de algunas interacciones de cooperación de *T. geodes* hacia *C. rosea*, y *T. koningii* a *C. rosea*. Además, se identificó la presencia de una interacción de antagonismo de *C. rosea* a *T. koningii*, y *C. rosea* a *D. novem* (Figura 10). En el día 14, se incrementaron los casos de antagonismo y, además, algunos de los antagonismos identificados en el día 11 se volvieron más intensos, por ejemplo, en la interacción intraespecífica de *T. koningii*.

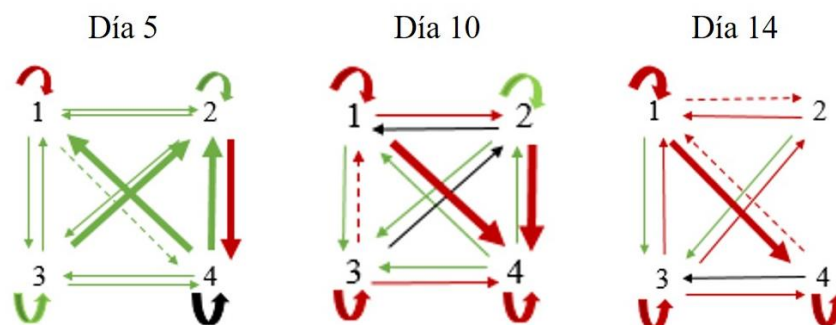


Fig. 10. Porcentaje de inhibición en medio C-. Los números representan los hongos (1: *T. koningii*, 2: *T. geodes*, 3: *C. rosea* y 4: *D. novem*); el grosor de la flecha indica la intensidad de la interacción; las flechas rectas representan las interacciones interespecíficas, y las flechas curvas, las interacciones intraespecíficas; los colores significan el tipo de interacción (verde: cooperación, negro: neutralismo y rojo: antagonismo).

Efecto del medio empobrecido en el crecimiento de los hongos al final de las interacciones

En esta sección, se comparó el área de cada especie en monocultivo con su área en co-cultivo en el día 14, con el propósito de conocer el área total de los micromicetes al final de los bioensayos. Se observó que el área de *T. koningii* en interacción fue menor al estar en co-cultivo con las demás especies, incluso con él mismo. Mientras que, el área de *T. geodes* no muestra diferencias cuando estaba en co-cultivo con otras especies (Figura 11). Por el contrario, el área de *C. rosea* fue menor, cuando estaba en interacción con *C. rosea* y *D. novem*. Por último, el área total de *D. novem* disminuyó estando en interacción con *D. novem* y *T. koningii*.

Entonces, con base en las gráficas de área total y los resultados de OAI de antagonismo (Tabla 19), como se muestran a continuación: $C. rosea$ ($\sum PII = 131$) > $T. koningii$ (84) > $D. novem$ (30) > $T. geodes$ (-17), se puede inferir que el hongo más antagonístico en este medio fue *C. rosea*. Además, con base en el resultados del OAI de resistencia ($T. koningii$ ($\sum PII = 150$) > $D. novem$ (124) > $T. geodes$ (55) > $C. rosea$ (-29)), *C. rosea* obtuvo valores bajos de OAI debido a la cooperación de *T. koningii* y *T. geodes* hacia este hongo (Tabla 18).

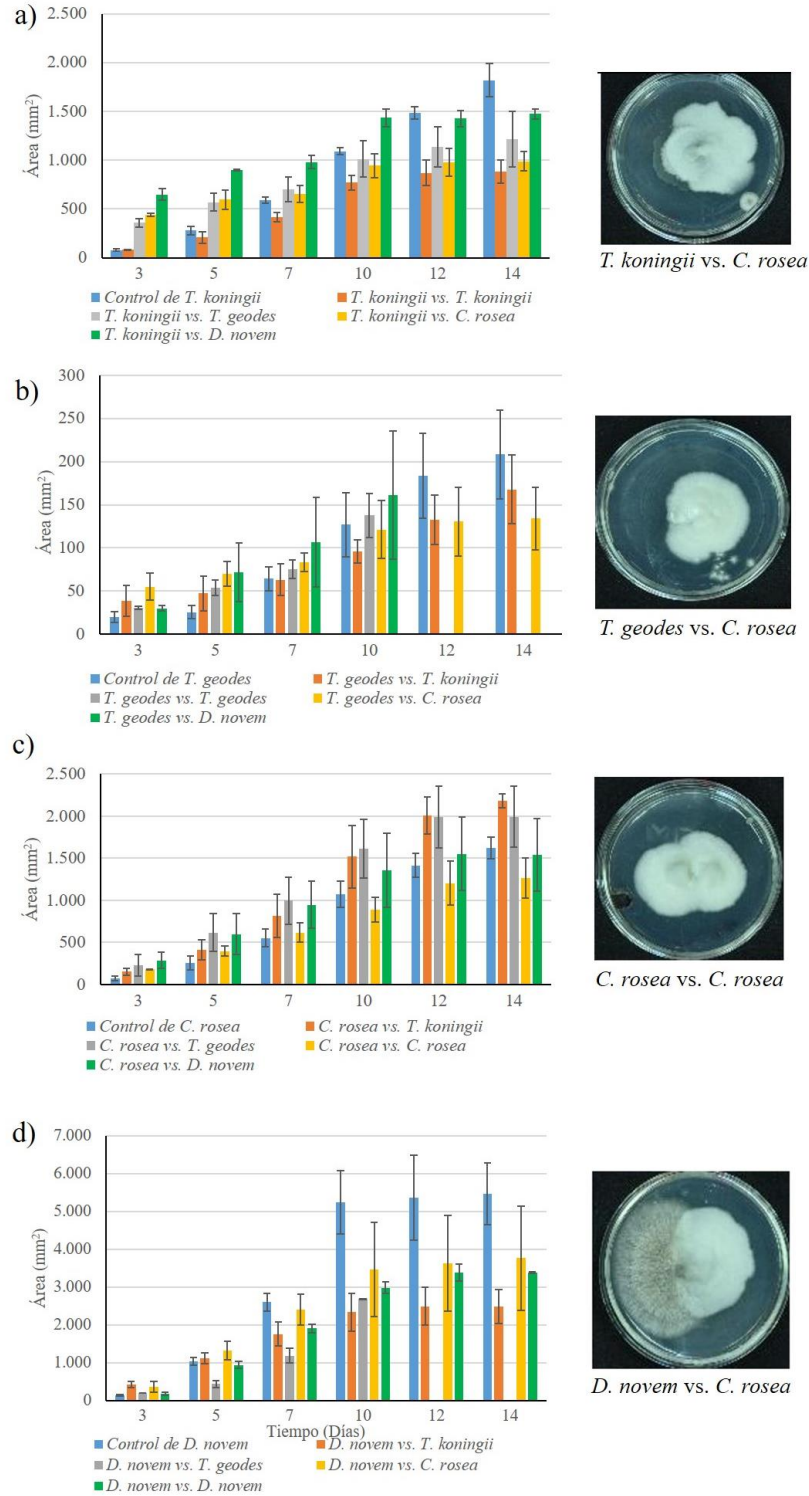


Fig. 11. Gráficas del área total promedio de los micromicetes: a) *T. koningii*; b) *T. geodes*; c) *C. rosea*; d) *D. novem*, en medio C-. Las barras de error representan la desviación estándar de los datos del área total de las réplicas (n=3). Las imágenes de la derecha muestran las interacciones representativas en el medio C- del día 14, y las etiquetas corresponden al hongo de cada lado de la caja Petri.

Exploración de los mecanismos antagónicos de cuatro micromicetes de diferentes grupos funcionales

Se observó que los micromicetes que generaron pigmentación en el medio de cultivo fueron *D. novem* (pigmentación amarilla /negra en la zona de contacto) y *C. rosea* (pigmentación tenue de color naranja). Este fenómeno se observó principalmente en las interacciones interespecíficas, con la excepción de la interacción de *C. rosea* vs. *C. rosea* (Tabla 7). Además, se identificó que la pigmentación de ambos hongos generalmente se observó el mismo día que ocurrió la inhibición de la otra especie.

Tabla 7. Producción de pigmentación durante las interacciones fúngicas.

¿Quién generó la pigmentación?	Características de la pigmentación y primer día en el que se registró	Interacción en la que se presentó la pigmentación y tipo de interacción	Porcentaje de inhibición hacia la otra especie
<i>C. rosea</i>	Tenue pigmentación naranja (Día 10)	<i>T. geodes</i> vs. <i>C. rosea</i> Antagonismo hacia <i>T. geodes</i> (Día 12)	Día 12: 29% de inhibición hacia <i>T. geodes</i>
<i>C. rosea</i>	Tenue pigmentación naranja (Día 7)	<i>C. rosea</i> vs. <i>C. rosea</i> Antagonismo hacia <i>C. rosea</i> (Día 10)	Día 10: 18% de inhibición hacia <i>C. rosea</i>
<i>C. rosea</i>	Tenue pigmentación naranja casi imperceptible (entre día 10 o 12)	<i>T. koningii</i> vs. <i>C. rosea</i> Antagonismo hacia <i>T. koningii</i> (Día 10)	Día 10: 13% de inhibición hacia <i>T. koningii</i>
<i>D. novem</i>	Tenue pigmentación amarilla en la zona de contacto entre micelios (Día 12)	<i>T. koningii</i> vs. <i>D. novem</i> Antagonismo hacia <i>T. koningii</i> (Día 14)	Día 14: 19% de inhibición hacia <i>T. koningii</i>
<i>D. novem</i>	Pigmentación amarilla (Día 10)	<i>T. geodes</i> vs. <i>D. novem</i> Antagonismo hacia <i>D. novem</i> (Día 10)	Día 10: 49% de inhibición hacia <i>D. novem</i>
<i>D. novem</i>	Pigmentación amarilla (Día 10)	<i>C. rosea</i> vs. <i>D. novem</i> Antagonismo hacia <i>D. novem</i> (Día 14)	Día 14: 31% de inhibición hacia <i>D. novem</i>

Tomando en cuenta el análisis de las fotografías y valores de los porcentajes de inhibición, se identificó antagonismo por contacto en siete interacciones intra- e

interespecíficas. Por otro lado, el antagonismo a distancia fue identificado gracias a la presencia de un halo de inhibición y la falta del contacto del micelio entre ambas colonias. Este tipo de antagonismo únicamente se reportó en un bioensayo entre *T. geodes* y *T. koningii*. En el medio C-, el hongo más competitivo fue *C. rosea* ya que desarrolló una interacción de antagonismo hacia *T. geodes* y *T. koningii*, y continuó creciendo, por lo que se podría inferir que es la especie dominante en este medio; la segunda especie más competitiva fue *T. geodes*, y por último, las especies menos competitivas fueron *T. koningii*, y al final *D. novem* (Tabla 8).

Tabla 8. Clasificación del tipo de interacciones y resultados del índice de dominancia en medio C-, donde 1 = entrecruzamiento del micelio entre ambas especies; 2 = antagonismo mutuo con contacto; 3 = antagonismo mutuo a distancia; 4 = antagonismo con contacto hacia una especie; 5 = antagonismo a distancia hacia una especie. En estas últimas dos categorías, la especie antagónica continúa creciendo y el 0 representa a la especie inhibida. NA = no hay información, y CD = no se detectó antagonismo y ambas fragmentos de la misma especie continuaron creciendo a distancia.

	<i>C. rosea</i>	<i>D. novem</i>	<i>T. geodes</i>	<i>T. koningii</i>	Índice de dominancia
<i>C. rosea</i>	3	2	4	4	13
<i>T. geodes</i>	0	5	C.D.	3	8
<i>T. koningii</i>	0	N.A.	3	2	5
<i>D. novem</i>	2	2	0	N.A.	4

7.2.3 Medio enriquecido en carbono

Cambio en las interacciones a través del tiempo

En los porcentajes de inhibición (Tabla 16), se identificaron seis casos de antagonismo, nueve de cooperación y un caso de neutralismo en el día 5, a diferencia del día 10, en el que los casos de antagonismo incrementaron a 13, mientras que los de cooperación disminuyeron a dos casos. Finalmente, el día 14 observamos 12 casos de antagonismo, dos de cooperación y dos neutralismos (Figura 12)

Cabe resaltar que en el día 5 de los bioensayos de *T. koningii* y *T. geodes* con su contraparte y con los demás micromicetes se registraron valores negativos en la mayoría de sus combinaciones, indicando que posiblemente haya cooperación. En cambio, *T. koningii* y *D. novem* tienen un efecto negativo sobre el área de *C. rosea* cuando se encuentran en cultivo (Figura 14), por lo que los valores de PII indican que hay antagonismo por parte de estos hongos.

Durante el día 10 se obtuvieron valores positivos y altos de PII durante la interacción entre *T. koningii* con todos los hongos del estudio, incluyéndose él mismo. Mientras que en el día 14 *C. rosea* aparentemente tuvo un efecto neutral sobre el crecimiento de *T. koningii* y *D. novem*. Además de que *T. koningii* y *D. novem* tuvieron un efecto negativo sobre el crecimiento de *C. rosea* por medio de una interacción de antagonismo.

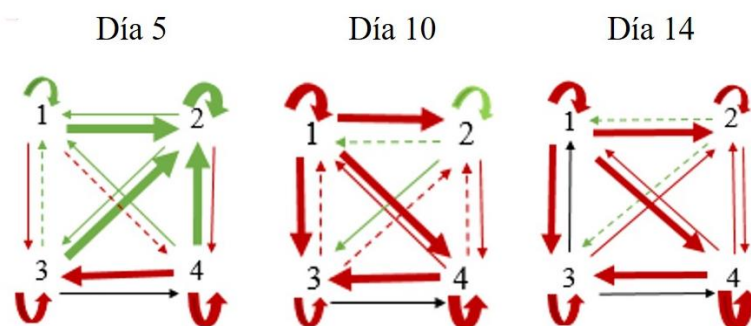


Fig. 12. Porcentaje de inhibición de las interacciones en medio C+. Los números representan los hongos (1: *T. koningii*, 2: *T. geodes*, 3: *C. rosea* y 4: *D. novem*); el grosor de la flecha indica la intensidad de la interacción; las flechas rectas representan las interacciones interespecíficas y las flechas curvas, las interacciones intraespecíficas; los colores significan el tipo de interacción (verde: cooperación, negro: neutralismo y rojo: antagonismo).

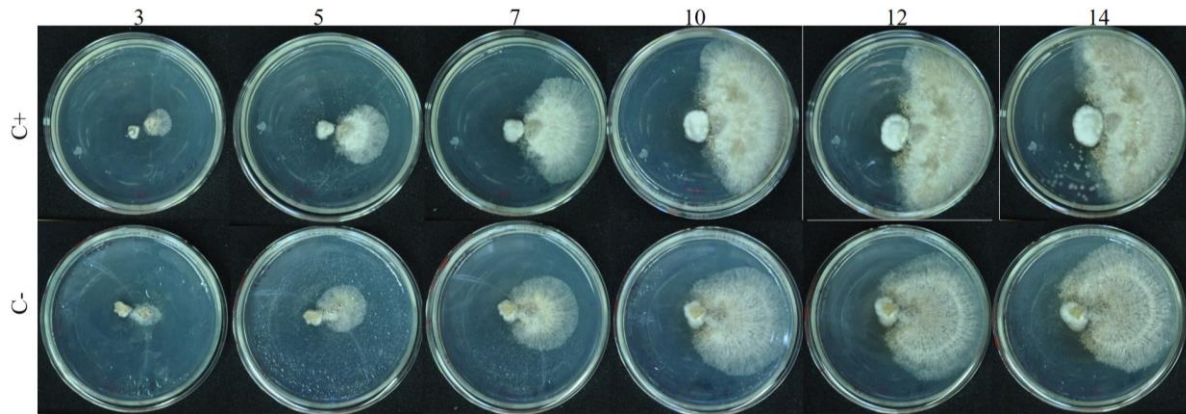


Fig. 13. Interacción entre *T. geodes*/*D. novem* durante 14 días en medio de carbono enriquecido y empobrecido.

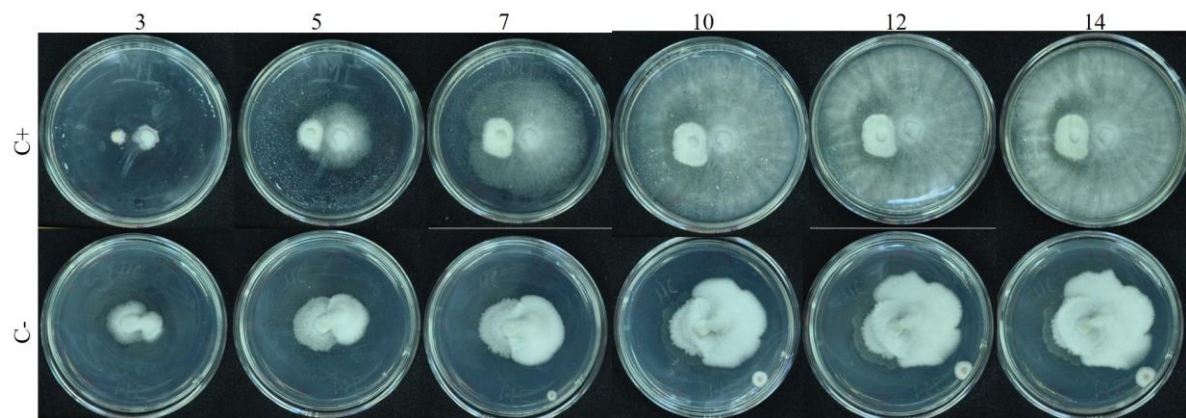


Fig. 14. Interacción entre *T. koningii*/*C. rosea* durante 14 días en medio de carbono enriquecido y empobrecido.

Efecto del medio enriquecido en el crecimiento de los hongos al final de las interacciones

El área de los hongos en el medio enriquecido fue diferente al medio empobrecido (Figura 15). Al comparar el área total del control con el área total de las especies en interacción, se observó que *T. koningii* y *C. rosea* mostraron ser afectados por los mismos hongos, por ejemplo, cuando ambos hongos están en co-cultivo con *T. koningii* y *D. novem* disminuye su área total.

Por otro lado, el área de *T. geodes* en interacción se ve afectado negativamente por *T. koningii*. También, el área de *D. novem* disminuye con la presencia de *T. geodes* (Figura 13 y 15), *T. koningii*, *C. rosea* o *D. novem*. Debido a la ocurrencia de que en los bioensayos en los que las demás especies crecen en co-cultivo con *T. koningii* y *D. novem*, estas dos especies se podrían considerar los micromicetes más antagonistas de este medio. Sin embargo, los resultados del OAI de antagonismo (*T. koningii* ($\sum PII = 270$) > *D. novem* (194) > *C. rosea* (77) > *T. geodes* (34)) muestran que, ante concentraciones ricas en carbono, *T. koningii* es el hongo más antagonista (Tabla 19). Mientras que, en los resultados de OAI de resistencia (*T. geodes* ($\sum PII = 169$) > *C. rosea* (159) > *D. novem* (156) > *T. koningii* (94)), se observó que *T. koningii* fue el hongo con valores más bajos de OAI, debido a que, las demás especies presentaron interacciones de cooperación, neutralismo o antagonismo (con valores bajo de porcentaje de inhibición (32%) hacia él) (Tabla 18).

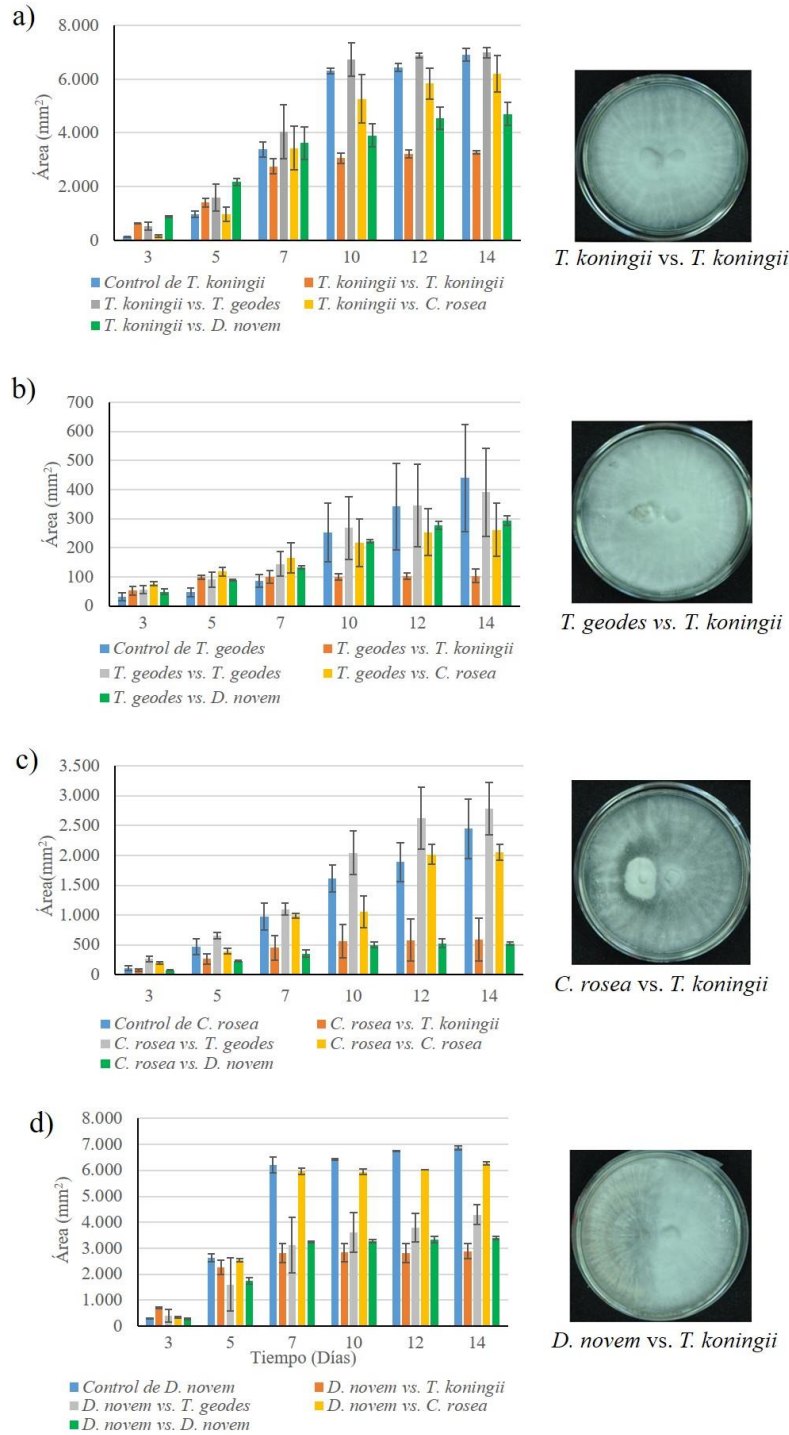


Fig. 15. Gráficas del área total promedio de los micromicetes en medio C+. a) *T. koningii*; b) *T. geodes*; c) *C. rosea*; d) *D. novem*. Las barras de error representan la desviación estándar de los datos del área total de las réplicas (n=3). Las imágenes de la derecha muestran las interacciones representativas en el medio C+ del día 14, y el nombre de la especie se ubica del lado del hongo al que corresponde.

Mecanismos antagónicos de micromicetes representantes de diferentes grupos funcionales

En el anverso de los co-cultivos, se observó una pigmentación de color naranja y amarillo intenso, es decir, fácil de identificar a simple vista, producida por *C. rosea* y *D. novem*, respectivamente. El mismo día que se observó la pigmentación, se identificó interacciones de antagonismo hacia la otra especie, y el grado de inhibición varió dependiendo de la especie (Tabla 9).

Tabla 9. Producción de pigmentación durante las interacciones fúngicas.

¿Quién generó la pigmentación?	Características de la pigmentación y primer día en el que se registró	Interacción en la que se presentó la pigmentación y tipo de interacción	Porcentaje de inhibición hacia la otra especie
<i>C. rosea</i>	Pigmentación naranja (Día 7)	<i>C. rosea</i> vs. <i>T. koningii</i> Mutuo antagonismo (Día 10)	Día 10: 65% de inhibición hacia <i>C. rosea</i> y 16% de inhibición hacia <i>T. koningii</i>
<i>C. rosea</i>	Pigmentación naranja (Día 5)	<i>T. geodes</i> vs. <i>C. rosea</i> Antagonismo hacia <i>T. geodes</i> (Día 10)	Día 10: 11% de inhibición hacia <i>T. geodes</i>
<i>C. rosea</i>	Pigmentación naranja (Día 5)	<i>C. rosea</i> vs. <i>C. rosea</i> Antagonismo hacia <i>C. rosea</i> (Día 5)	Día 5: 16% de inhibición hacia <i>C. rosea</i>
<i>D. novem</i>	Pigmentación amarilla (día 7) con franja negra (día 10)	<i>T. geodes</i> vs. <i>D. novem</i> Mutua inhibición (Día 12)	Día 12: 17% de inhibición hacia <i>T. geodes</i> y 44% de inhibición hacia <i>D. novem</i>
<i>D. novem</i>	Pigmentación amarilla con franja negra (Día 7)	<i>D. novem</i> vs. <i>C. rosea</i> Antagonismo hacia <i>C. rosea</i> (Día 5)	Día 5: 51% de inhibición hacia <i>C. rosea</i>

Con base en el análisis fotográfico y los porcentajes de inhibición, se observó que todas las interacciones al final del experimento presentaban casos de antagonismo por contacto, a diferencia del medio C-. Una vez clasificadas las interacciones en antagonismo a distancia o con contacto, se observó que los índices de dominancia cambiaron respecto al medio empobrecido. En el medio enriquecido en sacarosa, la especie dominante y más competitiva fue *T. koningii*, a comparación de *D. novem* que fue menos competitiva. Las especies poco competitivas fueron *C. rosea* y *D. novem* (Tabla 10).

Tabla 10. Clasificación del tipo de interacciones y valores del índice de dominancia en medio C+, donde 1 = entrecruzamiento del micelio entre ambas especies; 2 = antagonismo mutuo con contacto; 3 = antagonismo mutuo a distancia; 4 = antagonismo con contacto hacia una especie; 5 = antagonismo a distancia hacia una especie. En estas últimas dos categorías, la especie antagónica continúa creciendo y el 0 representa a la especie inhibida.

	<i>C. rosea</i>	<i>D. novem</i>	<i>T. geodes</i>	<i>T. koningii</i>	Índice de dominancia
<i>T. koningii</i>	4	2	4	2	12
<i>D. novem</i>	4	2	2	2	10
<i>C. rosea</i>	2	0	4	0	6
<i>T. geodes</i>	0	2	2	0	4

Resumen (medio empobrecido y enriquecido en nitrógeno)

En el caso del nitrógeno, se ocupó el medio empobrecido en nitrógeno (N-), que contenía 5.21 g C L⁻¹ y 0.39 g N L⁻¹ y, el medio enriquecido (N+), que estaba conformado por 11.97 g C L⁻¹ y 2.95 g N L⁻¹, lo que muestra que en ambos medios se modificó la concentración de nitrógeno y carbono. Además, se observó que durante las interacciones *T. koningii* disminuyó el área de todas las especies en ambos medios, esto concuerda con los resultados del OAI de antagonismo en el que se identificó que *T. koningii* presentaba altos valores, los cuales indicaban antagonismo, en ambos medios (Figura 21). Por otra parte, a diferencia de *T. koningii*, *D. novem* inhibió a todas las especies en el medio N+; mientras que en el medio N-, sólo disminuyó el área de dos de las cuatro especies evaluadas. En el caso de los porcentajes de inhibición, se observó que los casos de antagonismo disminuyeron de 10 a 9 casos, en el día 5 y 11, respectivamente, en el medio N-, mientras que en el medio N+, los casos de antagonismo se incrementaron de 11 (en el día 5) a 13 (en el día 11). También se identificó que en el OAI de resistencia, que es la suma de los porcentajes de inhibición de todas las especies hacia una especie en particular, los valores eran positivos (indicando antagonismo), y además, similares para cada uno de los hongos en el medio N+, lo que representó que hay un marcado antagonismo hacia cada una de las especies representantes de los grupos funcionales.

Por otra parte, se observó una pigmentación naranja y amarilla en el medio de cultivo, producida por *C. rosea* y *D. novem* en ambos medios y en las mismas interacciones. Esta producción de pigmento coincidió con el antagonismo mutua entre *C. rosea*/*T. koningii* y *C. rosea*/*D. novem* a partir del día 5 en el medio N-; mientras que, en el medio N+ se identificó este tipo de interacción entre *T. koningii*/*C. rosea* y *D. novem*/*T. geodes*. Tomando en cuenta el índice de dominancia, la especie dominante y más competitiva fue *T. koningii* en el medio N-, y en el medio N+, *T. koningii* y *D. novem*, lo que concuerda con lo observado en las gráficas del área total de los micromicetes en interacción.

7.2.4 Medio empobrecido en nitrógeno

Cambio de las interacciones a través del tiempo

En el medio enriquecido y empobrecido en triptona como fuente de nitrógeno, se eligieron dos puntos en el tiempo (día 5 y 11) para evaluar el tipo de interacciones entre los cuatro micromicetes (Tabla 17). De manera general, se identificaron diez casos de antagonismo, cuatro de cooperación y uno de neutralismo en el día 5 y, posteriormente, nueve casos de antagonismo, dos de cooperación y cuatro de neutralismo en el día 11 (Figura 16).

En el día 5, se identificaron interacciones de antagonismo entre la mayoría de los micromicetes; con la excepción de la interacción entre *T. geodes* y *C. rosea*, la cual se reportó como neutralismo. Cabe resaltar que las interacciones de *T. koningii*, *C. rosea* y *D. novem* hacia *T. geodes* fueron de cooperación. Mientras que en el día 11, se identificaron algunos cambios en los tipos de interacciones, por ejemplo, las interacciones que se desarrollaron de *T. geodes*, *C. rosea* y *D. novem* a *T. koningii*, cambiaron de antagonismo a neutralismo (Figura 16); mientras que *T. koningii* incrementa su antagonismo hacia los demás competidores. Por otra parte, se observó un incremento en el antagonismo de *D. novem* a *C. rosea*.

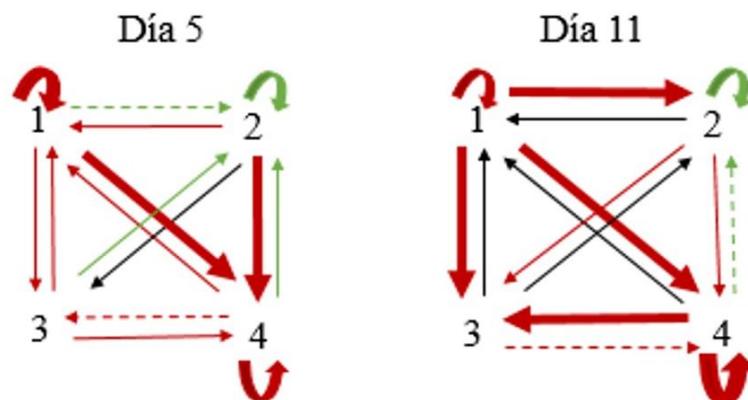


Fig. 16. Porcentaje de inhibición de las interacciones en medio N-. Los números representan los hongos (1: *T. koningii*, 2: *T. geodes*, 3: *C. rosea* y 4: *D. novem*); el grosor de la flecha indica la intensidad de la interacción; las flechas rectas representan las interacciones interespecíficas y las flechas curvas, las interacciones intraespecíficas; los colores significan el tipo de interacción (verde: cooperación, negro: neutralismo y rojo: antagonismo).

Efecto del medio empobrecido en el crecimiento de los hongos al final de las interacciones

En el día 11 del experimento, se reportó que el área de algunos micromicetes había sido afectada por su competidor (Figura 17). Este es el caso de *T. koningii*, el cual al estar en co-cultivo disminuyó el área de cada uno de las especies, incluyéndose a él mismo. Por otro lado, *D. novem* sólo fue antagonista de *C. rosea* y *D. novem*. Además, se observó en los gráficos que el único hongo que no mostró diferencias en su área al estar en co-cultivo fue *C. rosea*.

Se considera a *D. novem* como el micromicete más susceptible en este medio, ya que la interacción con los otros micromicetes afectaron su crecimiento. Por ejemplo: el área de *D. novem* disminuyó cuando se encontraba en co-cultivo con *T. koningii*, *D. novem* y *T. geodes*. Los resultados del OAI de antagonismo (*T. koningii* ($\sum PII = 264$) > *D. novem* (121) > *T. geodes* (80) > *C. rosea* (31)) muestran que, en concentraciones pobres de carbono y nitrógeno, *T. koningii* permanece siendo en el hongo más antagonista (Tabla 19). Mientras que los resultados de OAI de resistencia (*D. novem* ($\sum PII = 181$) > *C. rosea* (171) > *T. geodes* (73) > *T. koningii* (69)), se observó que *T. koningii* fue el hongo con valores más bajos de OAI, debido a que, las demás especies presentaron interacciones de neutralismo hacia él, mientras que en la interacción intraespecífica, *T. koningii* inhibió 47% a su contraparte (Tabla 18).

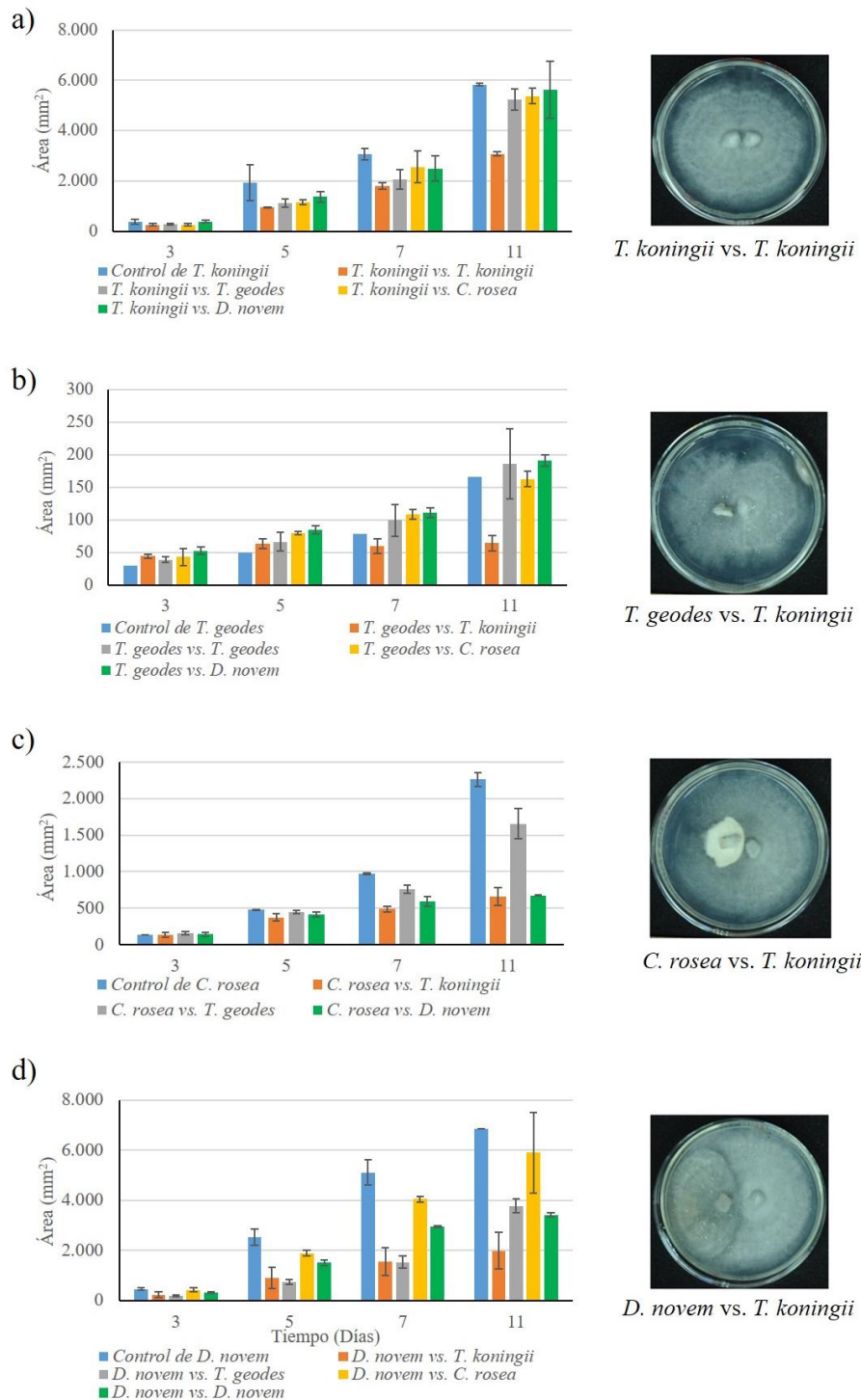


Fig. 17. Gráficas del área total promedio de los micromicetes en medio N-. a) *T. koningii*; b) *T. geodes*; c) *C. rosea*; d) *D. novem*. Las barras de error representan la desviación estándar de los datos del área total de las réplicas (n=3). Las imágenes de la derecha muestran las interacciones representativas en el medio N- del día 11, el nombre de la especie se ubica del lado del hongo al que corresponde.

Mecanismos antagónicos de micromicetes representantes de diferentes grupos funcionales

Se observó pigmentación negra producida por *D. novem* y pigmentación naranja por *C. rosea* (Tabla 11). Además, se identificó que el antagonismo hacia la otra especie, en algunos casos se presentó antes de la producción de pigmentación en el medio. También, cabe resaltar que en algunas interacciones, por ejemplo, *T. koningii* vs. *C. rosea* y *T. geodes* vs. *D. novem*, se presentaron altos valores de inhibición, en el día 5 de los bioensayos.

Tabla 11. Producción de pigmentación durante las interacciones fúngicas.

¿Quién generó la pigmentación?	Características de la pigmentación y día en el que se registró	Tipo de interacción	Porcentaje de inhibición hacia la otra especie
<i>C. rosea</i>	Pigmentación naranja (Día 7)	<i>T. koningii</i> vs. <i>C. rosea</i> Mutuo antagonismo (Día 5)	Día 5: 39% de inhibición hacia <i>T. koningii</i> y 25% de inhibición hacia <i>C. rosea</i>
<i>C. rosea</i>	Pigmentación naranja (Día 7)	<i>T. geodes</i> vs. <i>C. rosea</i> Antagonismo hacia <i>C. rosea</i> (Día 7)	Día 7: 24% de inhibición hacia <i>C. rosea</i>
<i>C. rosea</i> y <i>D. novem</i>	Pigmentación naranja (<i>C. rosea</i>) y pigmentación negra (<i>D. novem</i>), ambas el día 11	<i>C. rosea</i> vs. <i>D. novem</i> Mutuo antagonismo (Día 5)	Día 5: 18% de inhibición hacia <i>C. rosea</i> y 27% de inhibición hacia <i>D. novem</i>
<i>D. novem</i>	Tenue pigmentación negra (Día 11)	<i>T. geodes</i> vs. <i>D. novem</i> Antagonismo hacia <i>D. novem</i> (Día 5)	Día 5: 72% de inhibición hacia <i>D. novem</i>

Con base en el análisis fotográfico y los porcentajes de inhibición, el principal tipo de antagonismo que se identificó en el medio enriquecido es antagonismo por contacto, con un solo caso de antagonismo a distancia entre *T. geodes* y *D. novem*. En este medio se

identificaron algunos casos, en los que la inhibición ocurre desde el día 3; por ejemplo, en el bioensayo entre *T. koningii* y *D. novem* se inhibió primero el crecimiento de *D. novem* durante el día 3 y, el día 5 hubo una inhibición del crecimiento de ambos hongos. Este mismo caso se identificó durante la interacción entre *D. novem* vs. *D. novem* y *D. novem* vs. *T. geodes*. El índice de dominancia nos permitió identificar que en el medio empobrecido de nitrógeno *T. koningii* es la especie más competitiva, y debido obtuvo altos valores, 14, que incluye interacciones en las que esta especie domina por la inhibición del área de la otra especie y sigue creciendo, se podría inferir que esta especie domina en este medio. Posteriormente identificamos que *T. geodes* también es una especie competitiva, pero menos que *T. koningii*, y por último, las especies poco competitivas son *C. rosea* y *D. novem*. (Tabla 12).

Tabla 12. Clasificación de las interacciones y valores del índice de dominancia en medio N-, donde 1 = entrecruzamiento del micelio entre ambas especies; 2 = antagonismo mutuo con contacto; 3 = antagonismo mutuo a distancia; 4 = antagonismo con contacto hacia una especie; 5 = antagonismo a distancia hacia una especie. En estas últimas dos categorías, la especie antagónica continúa creciendo y el 0 representa a la especie inhibida. NA = no hay información, y CD = no se detectó antagonismo y ambas fragmentos de la misma especie continuaron creciendo a distancia.

	<i>C. rosea</i>	<i>D. novem</i>	<i>T. geodes</i>	<i>T. koningii</i>	Índice de dominancia
<i>T. koningii</i>	4	4	4	2	14
<i>T. geodes</i>	4	5	CD	0	9
<i>D. novem</i>	2	2	0	0	4
<i>C. rosea</i>	NA	2	0	0	2

7.2.5 Medio enriquecido en nitrógeno

Cambio de las interacciones a través del tiempo

Para este medio también se esquematizaron las interacciones entre los micromicetes de los días 5 y 11 (Figura 18). En el día 5, se identificaron 11 casos de antagonismo, mientras que en día 11, el número incrementó a 13 casos. Específicamente, en el día 5 las interacciones fueron principalmente de antagonismo; con la excepción de algunas interacciones, por ejemplo: de *T. geodes* y *D. novem* a *C. rosea*, en la cual se reportaron valores negativos (indicando una posible cooperación), y de *C. rosea* a *T. geodes* en donde aparentemente no afecta su crecimiento (neutralismo) (Tabla 17).

Las principales diferencias en las interacciones entre el día 5 y 11 fueron aquellas que se desarrollaron de *T. koningii* y *D. novem* a *C. rosea*, ya que al final del experimento se desarrollaron antagonismos muy marcados hacia este hongo (Figura 19). Mientras que, la interacción de *C. rosea* a *T. koningii* y *D. novem* cambió de antagonismo a neutralismo.

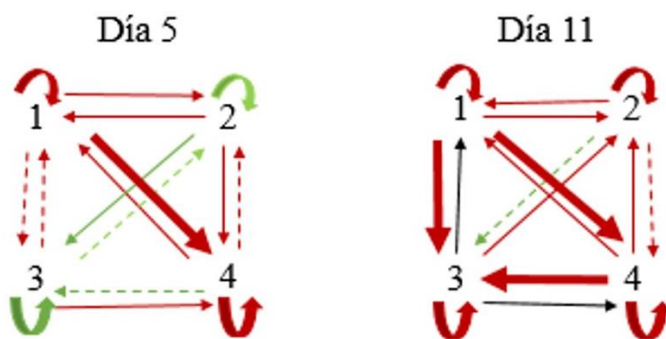


Fig. 18. Esquema de los valores de índice de porcentaje de inhibición de las interacciones en medio N+. Los números representan los hongos (1: *T. koningii*, 2: *T. geodes*, 3: *C. rosea* y 4: *D. novem*); el grosor de la flecha indica la intensidad de la interacción; las flechas rectas representan las interacciones interespecíficas y las flechas curvas, las interacciones intraespecíficas; los colores significan el tipo de interacción (verde: cooperación, negro: neutralismo y rojo: antagonismo).

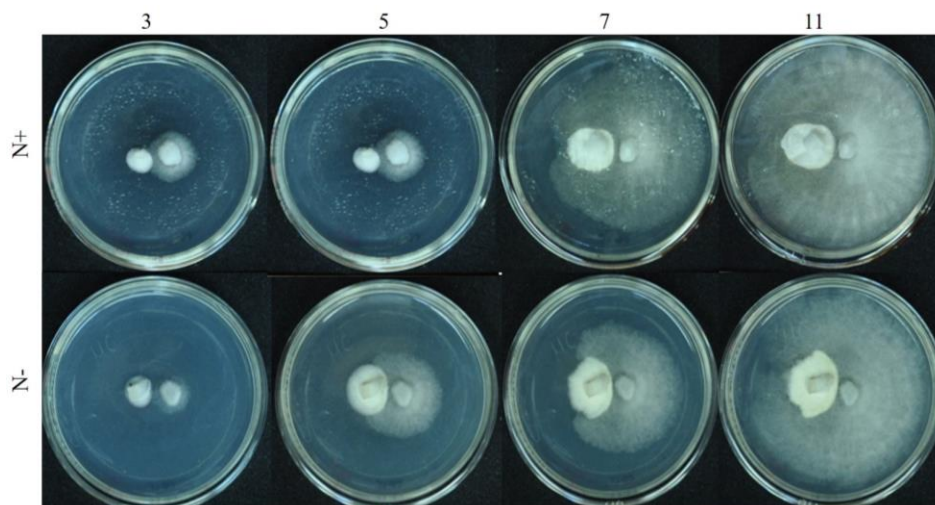


Fig. 19. Interacción entre *T. koningii*/*C. rosea* durante 11 días en medio de nitrógeno enriquecido y empobrecido.

Efecto del medio enriquecido en el crecimiento de los hongos al final de las interacciones

El día 11 de las interacciones, al comparar el área del control con el área de la especie en interacción, se observó que el área de todos los hongos fue afectado negativamente por la presencia de un competidor. En este medio enriquecido, se identificó que la presencia de *T. koningii* y *D. novem* afectan el área total de hongos como *T. koningii*, *T. geodes*, *C. rosea* o *D. novem* cuando se encuentran en co-cultivo.

Además de que el grado de inhibición varía dependiendo de la especie. En la [Figura 20](#), se observó que cuando *T. koningii* o *D. novem* se encontraba en co-cultivo con *T. koningii*, ambos hongos disminuyeron su área total a un tamaño similar. Mientras que el área de *C. rosea* y *D. novem* disminuyó más cuando estaban en co-cultivo con *T. koningii* que con *D. novem*. Según los resultados de OAI de antagonismo (*T. koningii* ($\sum PII = 223$) > *D. novem* (184) > *C. rosea* (53) > *T. geodes* (38)), se identificó a *T. koningii* como la especie más antagonista en este medio ([Tabla 19](#)). En cambio, con base en los resultados de OAI de resistencia (*C. rosea* ($\sum PII = 133$) > *T. koningii* (126) > *D. novem* (123) > *T. geodes* (115)), se observó que los cuatro hongos presentaron valores similares de OAI, lo que podría indicar que se presentó antagonismo entre los representantes de los grupos funcionales ([Tabla 18](#)).

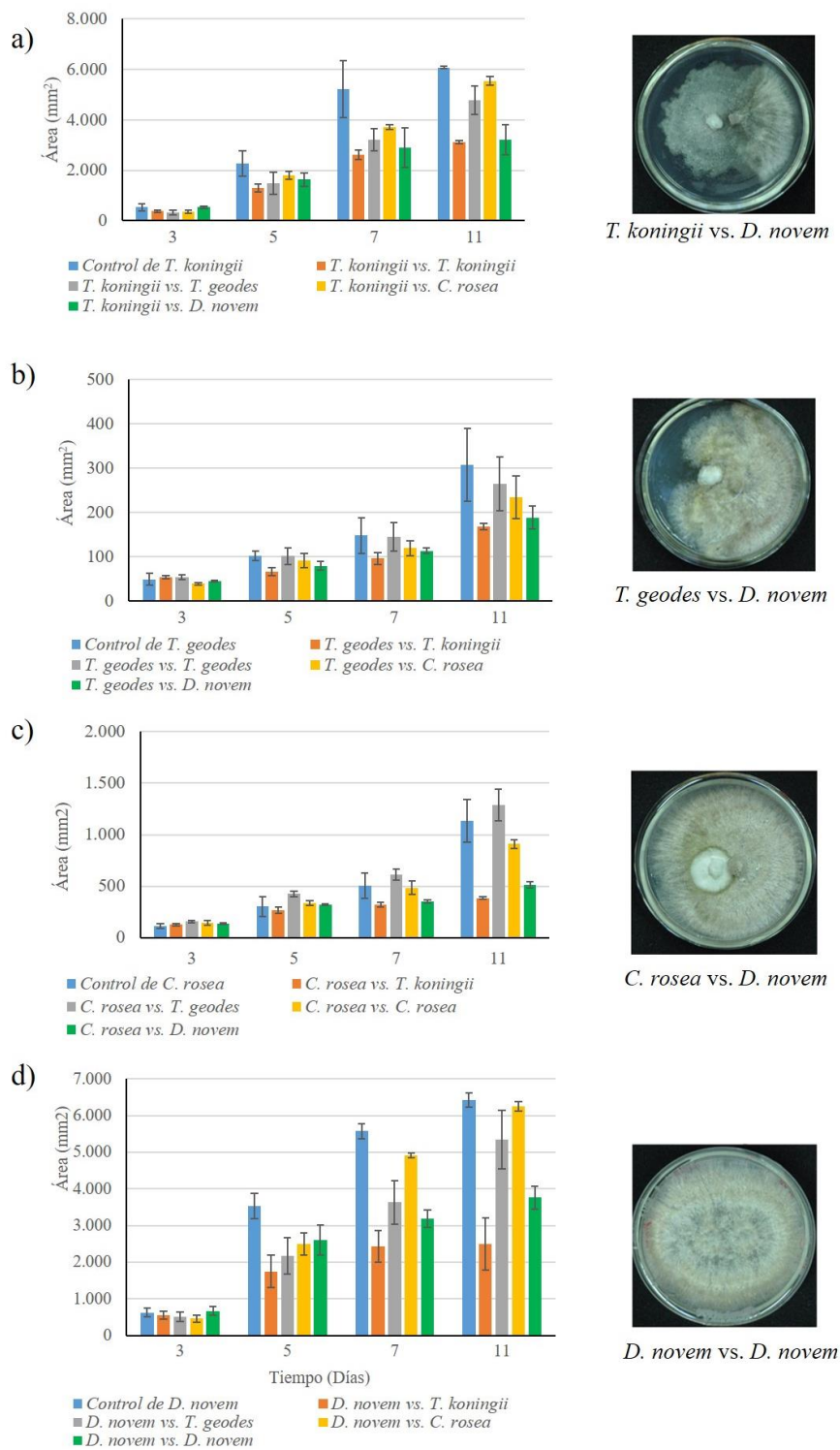


Fig. 20. Gráficas del área total promedio de los micromicetes en medio N+. a) *T. koningii*; b) *T. geodes*; c) *C. rosea*; d) *D. novem*. Las barras de error representan la desviación estándar de los datos del área total de las réplicas (n=3). Las imágenes de la derecha muestran las interacciones representativas en el medio N+ del día 11.

Mecanismos antagónicos de micromicetes representantes de diferentes grupos funcionales

Se observó una tenue pigmentación de color naranja producido por *C. rosea*, y pigmentación amarilla por *D. novem* (Tabla 13). En la mayoría de las interacciones se observó que la pigmentación y el antagonismo se presentaron el mismo día, con la excepción de la interacción *D. novem* vs. *T. geodes*, en la que el mutuo antagonismo ocurrió primero.

Tabla 13. Producción de pigmentación durante las interacciones fúngicas.

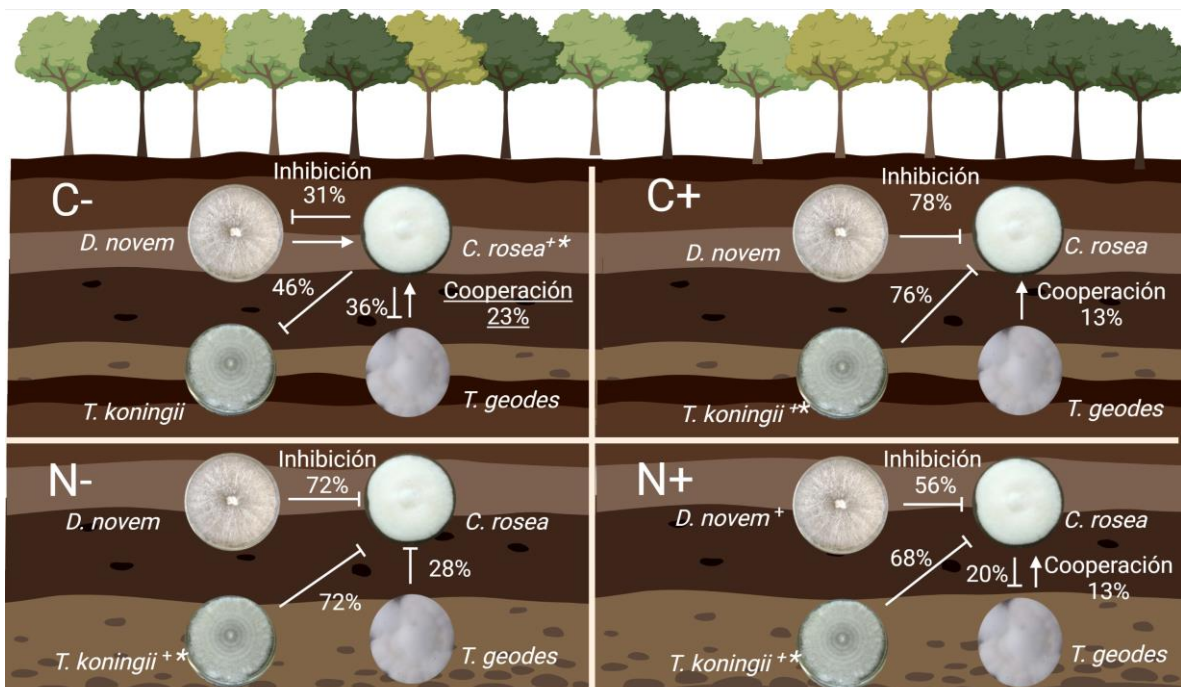
¿Quién generó la pigmentación?	Características de la pigmentación y primer día en el que se registró	Interacción en la que se presentó la pigmentación y tipo de interacción	Porcentaje de inhibición hacia la otra especie
<i>C. rosea</i>	Pigmentación naranja-amarillo (Día 5)	<i>T. koningii</i> vs. <i>C. rosea</i> Mutuo antagonismo (Día 5)	Día 5: 20% de inhibición hacia <i>T. koningii</i> y 17% de inhibición hacia <i>C. rosea</i>
<i>C. rosea</i>	Pigmentación tenue naranja (Día 11)	<i>T. geodes</i> vs. <i>C. rosea</i> Antagonismo hacia <i>T. geodes</i> (Día 11)	Día 11: 20% de inhibición hacia <i>T. geodes</i>
<i>C. rosea</i>	Pigmentación naranja (Día 11)	<i>C. rosea</i> vs. <i>C. rosea</i> Antagonismo hacia <i>C. rosea</i> (Día 11)	Día 11: 21% de inhibición hacia <i>C. rosea</i>
<i>C. rosea</i> y <i>D. novem</i>	Pigmentación tenue naranja (Día 5) y pigmentación amarilla (Día 7)	<i>C. rosea</i> vs. <i>D. novem</i> Antagonismo hacia <i>D. novem</i> (Día 5) Antagonismo hacia <i>C. rosea</i> (Día 7)	Día 5: 30% de inhibición hacia <i>D. novem</i> Día 7: 34% de inhibición hacia <i>C. rosea</i>
<i>D. novem</i>	Pigmentación amarilla con franja negra (Día 7)	<i>D. novem</i> vs. <i>T. geodes</i> Mutuo antagonismo (Día 5 a 11)	Día 5: 12% de inhibición hacia <i>T. geodes</i> y 39% de inhibición hacia <i>D. novem</i>

Con base en los porcentajes de inhibición y el registro fotográfico, se detectaron diez interacciones con antagonismo por contacto. En las que destaca la inhibición de *T. koningii* con *T. geodes* y *C. rosea* desde el día 3, y la inhibición mutua de estas interacciones a partir

del día 5. Cabe resaltar que las especies más competitivas fueron *D. novem* y *T. koningii*, por el contrario, se identificó que las especies menos competitivas eran *C. rosea* y *T. geodes* (Tabla 14).

Tabla 14. Clasificación del tipo de interacciones y valores del índice de dominancia en medio N+, donde 1= entrecruzamiento del micelio entre ambas especies; 2= antagonismo mutuo con contacto; 3= antagonismo mutuo a distancia; 4= antagonismo con contacto; 5= antagonismo a distancia. En estas últimas dos categorías, la especie antagonónica continúa creciendo y 0 representa a la especie inhibida.

	<i>C. rosea</i>	<i>D. novem</i>	<i>T. geodes</i>	<i>T. koningii</i>	Índice de dominancia
<i>D. novem</i>	4	2	2	2	10
<i>T. koningii</i>	4	2	2	2	10
<i>T. geodes</i>	0	2	2	2	6
<i>C. rosea</i>	2	0	4	0	6



Created with BioRender.com

Fig. 21. Representación gráfica de las interacciones entre micromicetes de cooperación y antagonismo que impactan sobre el hongo fitopatógeno *C. rosea* el día 14 en los medio C- y C+, y el

día 11 en los medios N- y N+. Los valores indican los porcentajes de inhibición obtenidos anteriormente; el signo “+” representa la especie más competitiva, según el índice de dominancia (Magan y Lacey, 1984) y, el signo “*” indica cuál es la especie más antagónica, según el OAI de antagonismo (Asthana y Shearer, 1990).

8. DISCUSIÓN

Con base en los resultados obtenidos de los bioensayos *in vitro*, se acepta la hipótesis del presente trabajo, ya que se identificaron interacciones de antagonismo entre especies representantes de diferentes gremios funcionales en los medios empobrecidos (C- y N-). Este resultado concuerda con lo reportado previamente, (Harris, 1999; Fryar *et al.*, 2005; Rodríguez *et al.*, 2011), sobre el reconocimiento de actividad antagónica de algunos de los micromicetes empleados en este estudio (*T. geodes*, *T. koningii* y *C. rosea*), aunque éstos se encontraban en co-cultivo con diferentes competidores (*C. rosea* vs. *Sclerotinia sclerotiorum*; *T. koningii* vs. *Rhizoctonia solani*; *T. geodes* vs. *Botrytis cinerea*) y en diferentes medios de cultivo. Se sugiere que esta interacción antagonista se produjo debido a que estos hongos son capaces de producir metabolitos secundarios con propiedades antifúngicas (Reino *et al.*, 2008; Vinale *et al.*, 2014; Fatema *et al.*, 2018). Entonces, al reconocer la presencia de un competidor, posiblemente los produjeron como método de defensa y/o ataque (Hynes *et al.*, 2007).

Se observó que el crecimiento de los hongos estuvo influenciado por la concentración de nutrientes que se encuentran en el medio. En los controles, se identificó que *T. koningii*, *D. novem* y *C. rosea* disminuyen su área en el medio empobrecido en carbono. Este resultado, concuerda con lo que reportan Gao *et al.* (2007), quienes demostraron experimentalmente que los hongos utilizados como agentes de biocontrol necesitan una cantidad específica de carbono en el medio para que su crecimiento sea óptimo, ya que los carbohidratos tienen un papel importante en el metabolismo primario para la obtención de energía y respiración celular (Samsudin *et al.*, 2016); por ejemplo, se ha reportado que *Metarhizium anisopliae* (hongo entomopatógeno) necesita entre 6 – 8 g C L⁻¹ (Gao *et al.*, 2007). Esto es consistente

con lo observado en los resultados obtenidos, ya que *T. koningii* creció hasta la capacidad máxima de la caja en el medio enriquecido en carbono con 15g. de sacarosa L⁻¹ el cual es equivalente a 6.31 g C L⁻¹, a diferencia del medio empobrecido el cual fue adicionado sólo con 2g de sacarosa L⁻¹ equivalente a 0.84 g C L⁻¹, por lo que se concluyó que el crecimiento de *T. koningii* disminuye 73% de su área en el medio C-, tomando como el 100% al medio C+. En la literatura, se ha reportado que *T. koningii* tiene capacidades metabólicas para degradar compuestos de la pared celular de las plantas como la celulosa (polisacárido compuesto de glucosa), también puede utilizar distintos monosacáridos (ej. D-xilosa, D-ribosa), disacáridos (ej. sacarosa, D-celobiosa) y algunos aminoácidos que contienen carbono en su estructura como son L-alanina, L-ácido aspártico, L-ácido glutámico, entre otros (Danielson & Davey, 1973). Por lo que se puede inferir que, debido a la ocurrencia de los carbohidratos en su dieta, esta especie es altamente demandante de carbohidratos.

Por otro lado, las especies que disminuyeron su formación de biomasa en el medio enriquecido (2.95 g N L⁻¹) y empobrecido (0.39 g N L⁻¹) fueron *C. rosea* y *T. geodes*, respectivamente. Esto podría estar relacionado con requerimientos nutrimentales específicos durante su proceso de crecimiento o desarrollo. Por ejemplo, para los hongos fitopatógenos el nitrógeno juega un papel importante para que su estilo de vida se vuelva parasitario, ya que se ha observado que la limitación de nitrógeno puede favorecer la expresión de genes de virulencia, y la adición de amonio (50 mM N₄NO₃) como fuente de nitrógeno puede inhibir funciones de virulencia como el crecimiento invasivo y la adhesión al hospedero que están involucradas con la vía en MAPK de patogenicidad (López-Berges *et al.*, 2010; Deng *et al.*, 2015); mientras que, en el caso de los hongos entomopatógenos, el nitrógeno es uno de los principales nutrientes liberados mediante las quitinasas durante la degradación de quitina del exosqueleto de los artrópodos (Treseder y Lennon, 2015). En conjunto estos datos sugieren que este último gremio funcional requiere nitrógeno para su desarrollo óptimo.

En este trabajo, únicamente se evaluó una fuente de carbono (sacarosa) y una de nitrógeno (triptona) para los bioensayos de interacción, los cuales se incubaron a una temperatura de 18°C y humedad del 70- 75% durante 14 días. Sin embargo, existen otros trabajos en los que se ha identificado que el número de fuentes de carbono que pueden metabolizar es dependiente de la especie y de las condiciones abióticas como la temperatura

y el potencial del agua (Lee y Magan 1999; Samsudin *et al.*, 2016; Arroyo *et al.*, 2018). Específicamente, se ha observado que *C. rosea* tiene la capacidad de metabolizar un número alto de carbohidratos (ej. sacarosa, dextrina, D-Melibiosa, D-Glucosa, entre otros) (Samsudin *et al.*, 2016). Esta plasticidad metabólica potencialmente le podría conferir una serie de ventajas frente a sus competidores para colonizar y explorar diversos sustratos ricos en carbono.

Algunos autores han considerado el número de fuentes de carbono como un aspecto importante para evaluar su competitividad con otras especies de micromicetes (Lee y Magan, 1999; Arroyo *et al.*, 2008), así como otros aspectos de los hongos como la tasa de crecimiento, la producción de metabolitos y las interacciones (Lee y Magan, 1999). Estos últimos dos procesos, se han considerado importantes para el establecimiento de la comunidad fúngica, y por eso se analizarán en las siguientes secciones. Los resultados del presente trabajo, sugieren que *T. koningii* es el hongo más competitivo, debido a que se observó que tiene ciertas características que le brindan una ventaja sobre los otros hongos como un crecimiento rápido, desarrolla interacciones fuertes de antagonismo y al parecer tiene una fuerte defensa o poca susceptibilidad a los mecanismos antagónicos de los otros hongos.

8.1 Cambios en las interacciones en una escala temporal

Durante los bioensayos *in vitro*, se observaron cambios en el tipo e intensidad de las interacciones a través del tiempo. Especialmente en el medio empobrecido en carbono, en el cual se detectaron principalmente interacciones de cooperación durante los primeros cinco días del experimento y, posteriormente, interacciones de antagonismo (Figura 10). Las interacciones de cooperación se han observado en otros estudios sobre interacciones entre hongo-hongo y hongo-bacteria (Velez *et al.*, 2018; López Pacheco, 2019). Teóricamente concuerda con la hipótesis de gradiente de estrés, en la cual se propone que los procesos, en este caso las interacciones de cooperación, que faciliten el establecimiento de las comunidades ocurren en condiciones estresantes (Kawai y Tokeshi, 2007). Por lo que se infiere que la falta de carbono en el medio es una condición estresante para los micromicetes estudiados.

Por otra parte, las interacciones de antagonismo, posiblemente, se establecieron por la interacción constante de los micromicetes después de 10 días. Ya que como se mencionó en los antecedentes, y de acuerdo con la hipótesis de la Reina Roja (Bonachela, 2017), la interacción constante entre dos organismos puede generar presión sobre alguno de los competidores, en este caso por la deficiencia de nutrientes y la limitación de espacio en el medio. Por ende, la influencia del entorno y la presencia de otra especie posiblemente influyeron en la respuesta de la especie, provocando un cambio en su comportamiento y, por lo tanto, en la estrategia empleada (Hiscox *et al.*, 2018; Martín *et al.*, 2019).

En contraste, en el medio enriquecido en carbono las interacciones de cooperación disminuyeron al principio del experimento, y posterior al día 10, mostraron un fuerte antagonismo. Esto concuerda con la literatura, en la que se menciona que los mecanismos utilizados para inhibir a otros microorganismos necesitan suficientes nutrientes para mantenerse durante la interacción (Hiscox *et al.*, 2016; Hiscox *et al.*, 2018), ya que los nutrientes como el carbono y, en ocasiones el nitrógeno son necesarios para la formación de los precursores de los metabolitos secundarios (Miller y Greenhalgh, 1985; Pan *et al.*, 2019). Sin embargo, aún faltan estudios sobre cómo influye el carbono específicamente en la producción de metabolitos, enzimas o sustancias tóxicas de los micromicetes estudiados.

A diferencia del medio C-, en el medio empobrecido en nitrógeno se identificaron principalmente interacciones de antagonismo entre los micromicetes al principio de las interacciones (Figura 16). Este resultado es diferente a lo que se propone en la teoría del gradiente de estrés (Kawai y Tokeshi, 2007), y lo que anteriormente había reportado Velez *et al.* (2018) para microorganismos provenientes de un sistema oligotrófico. Al analizar el trabajo citado, se identificó que el medio mínimo (MM) contiene diferentes fuentes de nitrógeno como son la peptona, extracto de levadura y NH_4NO_3 .

Cabe mencionar que el trabajo anteriormente mencionado de Velez *et al.* (2018) se llevó a cabo con micromicetes aislados de las pozas de Cuatro Ciénegas, que se caracterizan por ser un sistema oligotrófico en fósforo. Se ha propuesto que estos hongos tienen diferentes adaptaciones como características morfológicas y un ciclo de vida en el que predomina la fase asexual. También, presentan diferentes requerimientos nutricionales, y se ha propuesto que durante su ciclo de vida hay una posible alternancia entre el ecosistema acuático y el terrestre, lo cual les permitiría obtener suficientes nutrientes para sobrevivir en este

ecosistema (Velez *et al.*, 2016). A diferencia de un ecosistema como el bosque, en el cual encontramos una gran variedad de materia orgánica que actúa como sustratos que pueden ser degradados por los microorganismos. En particular, los hongos han desarrollado amplias capacidades enzimáticas y habilidades combativas que les permiten formar parte de la microbiota del suelo. Además, pueden poseer otras estrategias que les confieren la capacidad de sobrevivir y adaptarse ante posibles eventos de disturbio o estrés, por ejemplo, tienen la capacidad de resistir a condiciones estresantes y producir enzimas que les permite obtener nutrientes de compuestos recalcitrantes (Magan y Aldred, 2007; Boddy y Hiscox, 2016).

Finalmente, al comparar los esquemas de los medios empobrecidos de nitrógeno y carbono, se identificó que la deficiencia de carbono favorece el desarrollo de interacciones de cooperación, lo cual podría estar involucrado con los productos del metabolismo secundario de estos micromicetes. Se ha estudiado que los metabolitos secundarios pueden estimular o inhibir el crecimiento de los hongos (El Ariebi *et al.*, 2016; Meisner y de Boer, 2018; Hiscox *et al.*, 2018). Además, en la literatura se menciona que los microorganismos podrían estar involucrados en un intercambio de productos (teoría del mercado microbiano), en este caso los metabolitos secundarios, que promueven la formación de interacciones de cooperación (Werner, 2014; Hernández Monroy, 2019; López Pacheco, 2019). Se sabe que los microorganismos que se investigaron en el presente trabajo producen una gran variedad de metabolitos secundarios, tales como policétidos (*C. rosea*); péptidos y efrapeptinas (*T. geodes*) y *koninginin* y *peptaibols* (*T. koningii*) (Tsantrizos *et al.*, 1996; Reino *et al.*, 2008; Vinale *et al.*, 2014; Kebede *et al.*, 2017; Fatema *et al.*, 2018). Estos compuestos, en su estructura están enriquecidos en C o N (depende el caso). Por lo que es factible que su biosíntesis se vea inhibida/favorecida con la presencia/ausencia de C o N.

8.2 Efecto de los nutrientes en las interacciones al final de los experimentos

Los nutrientes afectan el crecimiento de los hongos durante las interacciones (Figuras 11, 15, 17 y 20). Esto, debido a que afectan negativamente las estrategias que utilizan estos hongos para obtener nutrientes. Por ejemplo: disminuyen la tasa de crecimiento y, al parecer, alteran los mecanismos de antagonismo que emplean. Como primer punto, se identificó que *T. koningii* y *D. novem* son hongos que utilizan estrategias combativas, ya que tienen la

capacidad de crecer rápido y emplear mecanismos antagónicos contra los demás hongos (Magan y Aldred, 2007). Sin embargo, la disminución de nutrientes, como el carbono, afectó su crecimiento y su actividad combativa, de manera que provocó que la especie más antagónica fuera *C. rosea* en el medio empobrecido en carbono.

En cambio, al crecer en el medio enriquecido en carbono, tenían las condiciones óptimas nutricionales para desarrollarse y mantener sus mecanismos antagónicos, lo que promovió que *T. koningii* fuera la especie más antagónica en estas condiciones. En forma similar este resultado se había observado en Badalyan *et al.* (2004), en donde ocuparon un medio rico en carbono (Potato Dextrose Agar) e identificaron que algunas especies del género *Trichoderma* eran el doble de antagónicas que *C. rosea*, tomando de referencia los resultados del índice de antagonismo.

En segundo lugar, el nitrógeno es un nutriente importante que influye en el resultado de las interacciones (Figuras 17 y 20). Como parte de los resultados se identificaron a *T. koningii* y *D. novem* como los hongos más antagonistas en el medio enriquecido en nitrógeno. Sin embargo, al comparar estos resultados con los obtenidos en el medio N-, se observa que *D. novem* necesita el nitrógeno para llevar a cabo sus mecanismos de antagonismo e inhibir a los demás competidores, esto podría estar relacionado algunos metabolitos secundarios que contienen nitrógeno, por ejemplo, algunas citocalasinas aisladas de *Diaporthe* sp. tienen actividad antifúngica contra hongos fitopatógeno (*Alternaria oleraceae*, *Pestalotiopsis theae*, *Colletotrichum capsici*, *Ceratocystis paradoxa*) (X. Huang *et al.*, 2019). Esto podría tener una implicación importante en el ecosistema, ya que las condiciones de carbono en la solución del suelo podrían ser un factor importante para que determinados hongos del suelo inhiban a hongos fitopatógenos, protegiendo así a las comunidades vegetales. En la literatura se menciona que las interacciones juegan un papel principal para evitar que los hongos patógenos predominen en la rizósfera de las plantas, especialmente por la secreción de metabolitos secundarios volátiles que tienen actividad antifúngica (Meisner y De Boer, 2018).

8.3 Mecanismos antagónicos entre micromicetes de diferentes grupos funcionales

Durante los bioensayos, se observaron algunos rasgos como la pigmentación del medio de cultivo por *C. rosea* y *D. novem*, halos de inhibición generados por *T. geodes* y en menor proporción, algunos exudados sobre las colonias de *T. geodes* y *T. koningii*. Estas características se asocian en la literatura con la producción de metabolitos secundarios, los cuales pueden influir en el crecimiento fúngico y en el desarrollo de estructuras reproductoras (Fatema *et al.*, 2018) La pigmentación del medio de cultivo se ha observado durante otras interacciones interespecíficas entre micromicetes y se ha relacionado con la producción de metabolitos secundarios volátiles (VOCs) (Hynes *et al.*, 2007; El Ariebi *et al.*, 2016; Fatema *et al.*, 2018). Este tipo de metabolitos pueden poseer propiedades antifúngicas y/o antibióticas, y llegan a desempeñar un papel importante durante las interacciones antagónicas (Hynes *et al.*, 2007; El Ariebi *et al.*, 2016). Por lo que se sugiere, como perspectiva de este trabajo, evaluar dichos compuestos durante las interacciones para identificar a las moléculas bioactivas implicadas.

Uno de los mecanismos antagónicos más conocidos de *C. rosea* es la producción de metabolitos secundarios. En la literatura se reporta que este hongo sintetiza una gran variedad de metabolitos dentro de los que destacan los metabolitos compuestos por nitrógeno (ciclopeptidos, piperazinas, verticillina D, *clonostalactam*) y los policétidos (pirenoides y sorbicilinoideos) (Demissie *et al.*, 2018; Fatema *et al.*, 2018; Han *et al.*, 2020; Demissie *et al.*, 2020). Particularmente, se han considerado a los policétidos como una clase de metabolitos importante para el desarrollo de los hongos, y en las interacciones microbianas debido a sus propiedades antifúngicas (Fatema *et al.*, 2018). Por lo tanto, se puede inferir que *C. rosea* dejó de ser el hongo más competitivo y dominante, según el índice de dominancia, debido a que posiblemente los metabolitos con propiedades antifúngicas que impactaban sobre el crecimiento de las otras especies no se produjeron en los demás medios. Se tiene el precedente de que *C. rosea* expresa diferentes genes de enzimas que están involucradas en la producción de metabolitos secundarios (ej. policétidos) en diferentes medios de cultivo, algunas de estos genes presentaron una alta expresión durante la producción de pigmento, mientras que en algunos casos no se observó la pigmentación, pero se identificaron interacciones de antagonismo, lo que se debe a la síntesis de metabolitos con propiedades antifúngicas como la *Clonorosein* A y B (Fatema *et al.*, 2018). Actualmente, se conoce que

la relación C:N, y la fuente de carbono y nitrógeno influyen en biosíntesis de metabolitos secundarios (Pan *et al.*, 2019; Yu y Keller, 2005).

Por otra parte, *T. geodes* también es conocido por producir metabolitos secundarios como péptidos, efrapeptinas, piridoxatina y terricolina (Tsantrizos *et al.*, 1996; Kebede *et al.*, 2017). Durante los bioensayos de este trabajo se observó que, generalmente, *T. geodes* formaba halos de inhibición, los cuales son conocidos por generarse por la producción de metabolitos secundarios (difusibles o volátiles) (Hiscox *et al.*, 2018). Particularmente, la actividad antagónica de *T. geodes* fue identificada durante la interacción con *D. novem* en los medios de cultivo C+, C-, N- y N+, posiblemente, por la susceptibilidad de este hongo a los metabolitos producidos por *T. geodes*. Cabe resaltar que este hongo tuvo el segundo valor más alto en el índice de dominancia en el medio empobrecido en nitrógeno, lo cual sugiere una elevada capacidad de inhibir a sus competidores a distancia (antagonismo a distancia). Badalyan *et al.* (2004) proponen que la concentración de los metabolitos podría ser un factor que promueva el antagonismo a distancia.

Trichoderma koningii es un hongo conocido por ser micoparásito de especies como *Sclerotinia sclerotiorum* (Trutmann y Keane, 1990). Aunque también es reconocido por su amplia producción de metabolitos secundarios con propiedades antibióticas o antifúngicas, entre los que destacan los pirenos simples, pirenos complejos (*koninginin* A-B), metabolitos isocianato (dermadina, tricoviridina isonitrilo y ciclopentenos) y peptaibols (*Trichokonins* V-VII) (Reino *et al.*, 2008; Vinale *et al.*, 2014). En el índice de dominancia, *T. koningii* presentó los valores más altos en el medio C+, N- y N+, lo muestra su alta competitividad sobre las otras especies. En la naturaleza, el aislado de *T. koningii* obtenido del suelo ha mostrado sintetizar principalmente *koninginin* D, el cual se ha caracterizado por presentar propiedades antifúngicas contra hongos fitopatógenos como *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum* y *Bipolaris sorokiniana* (Reino *et al.*, 2008; Vinale *et al.*, 2014).

Para el BMM, un componente importante son las condiciones climáticas (temperatura, humedad y patrones de precipitación) que permiten el establecimiento de las comunidades vegetales que aportan materia orgánica al suelo (Campbell *et al.*, 2009; Looby y Treseder, 2018). Por lo que, ante un evento de cambio de uso del suelo, es posible que disminuya la proporción de materia orgánica y por lo tanto, las condiciones de nutrientes (C y C:N), así como lo reporta Trivedii *et al.* (2016). Por lo tanto, con base en los resultados

obtenidos en el presente trabajo, se puede inferir que ante un evento de deforestación podrían predominar interacciones antagónicas entre los micromicetes en la rizósfera del helecho, mientras que la población de micromicetes dominantes sería la de hongos fitopatógenos promoviendo la disminución en la abundancia de los helechos, o en caso de que sean talados, y el área se empleara para cultivos, existe la posibilidad de que *C. rosea* causara enfermedades a los cultivos, ya que se conoce que este hongo es fitopatógeno de cultivos como la haba, la remolacha azucarera y la haba de soya (Bienapfl *et al.*, 2012; Afshari y Hemmati, 2017; Haque y Parvin, 2020)

Entonces debido a las implicaciones que tienen las actividades de los diferentes grupos funcionales de hongos sobre el ecosistema podríamos especular, con base en los resultados obtenidos, que en un escenario de cambio de uso de suelo *C. rosea* podría disminuir el crecimiento de los hongos con diferentes roles ecológicos, lo que podría tener repercusiones sobre su actividad dentro del ecosistema. Esto podría derivar en la alteración en la tasa de descomposición y liberación de nutrientes en el suelo. Además de que disminuya la actividad micoparásita y entomopatógena de *T. koningii* y *T. geodes*, respectivamente. Promoviendo así, que aumente la abundancia de organismos que pueden ser potencialmente patógenos y, por lo tanto, provocando un desequilibrio en el ecosistema.

9. CONCLUSIONES

Se identificaron interacciones de antagonismo y cooperación entre los micromicetes seleccionados de diferentes gremios funcionales, aislados del bosque mesófilo de montaña. También se registraron neutralismos en algunos casos particulares. Por lo que se puede concluir que la presencia de estos hongos en el BMM tiene un papel importante en la estructuración de las comunidades fúngicas del suelo, ya que hongos como *T. koningii* y *D. novem* presentaron un fuerte antagonismo hacia *C. rosea*, por lo que se podrían considerar como potenciales reguladores de este hongo fitopatógeno. Mientras que por otro lado las interacciones de cooperación promueven el crecimiento de otros hongos, de manera que podrían favorecer momentáneamente su permanencia en el ecosistema.

Con base en los resultados obtenidos, se concluye que los hongos estudiados tienen un crecimiento óptimo en diferentes concentraciones de C y N, y se asocia con la plasticidad metabólica y la presencia de estos nutrientes en la dieta de los hongos, por lo que se rechaza la hipótesis que plantea que a mayor concentración de C y N orgánicos aumentará la formación de biomasa. Por otra parte, las interacciones en los medios de cultivo empobrecidos en C y N principalmente fueron de antagonismo, de acuerdo con la hipótesis planteada. Sin embargo, es importante resaltar que en los medios enriquecidos en C y N se presentaron un mayor número de casos de antagonismo, lo que muestra que las condiciones de nutrientes son un factor importante en las interacciones entre micromicetes y en los mecanismos antagónicos que emplean estos hongos.

10. LITERATURA CITADA

- Abdel-Fattah, G. M., Shabana, Y. M., Ismail, A. E. y Mohamed Rashad. (2007). *Trichoderma harzianum*: a biocontrol agent against *Bipolaris oryzae*. *Mycopathologia*, 164(2), 81-9. DOI: 10.1007/s11046-007-9032-9
- Aguilar Rivera, N., Rodríguez, D. A., Castillo Morán, A. y Herrera Solano, A. (2012). Sucroquímica, alternativa de diversificación de la agroindustria de la caña de azúcar. *Multiciencias*, 12(1), 7-15.
- Aguirre-Acosta, E., Ulloa, M., Aguilar, S., Cifuentes, J. y Valenzuela, R. (2014). Biodiversidad de hongos en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85, S76-S81. DOI: 10.7550/rmb.33649
- Afshari, N. y Hemmati, R. (2017). First report of the occurrence and pathogenicity of *Clonostachys rosea* on faba bean. *Australasian Plant Pathology*, 46, 231-234. <https://doi.org/10.1007/s13313-017-0482-3>
- Álvarez López, G. N. (2021). *Relación entre la diversidad bacteriana cultivable y los ciclos biogeoquímicos del suelo en el Bosque Mesófilo de Montaña de Santiago Comaltepec, Oaxaca*. [Tesis de licenciatura no publicada]. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Arroyo, M., Aldred, D. y Magan, N. (2008). Environmental factors and preservatives affect carbon utilization patterns and niche overlap of food spoilage fungi. *Fungal Ecology*, 1(1), 24-32. DOI: 10.1016/j.funeco.2007.12.002
- Asthana, A. y Shearer, C. (1990). Antagonistic activity of *Pseudohalonestria* and *Ophioceras*. *Mycologia*, 82(5), 554-561. DOI: <https://doi.org/10.2307/3760044>
- Badalyan, S. M., Innocenti, G. y Grigory Garibyan, N. (2004). Interactions between xylotrophic mushrooms and mycoparasitic fungi in dual-culture experiments. *Phytopathologia Mediterranea*, 43(1), 44-48.
- Bardgett, R. (2005). *The Biology of Soil. A Community and Ecosystem Approach*. (1ª Ed.). Oxford University Press.

- Barton, L. L. y Northup, D. E. (2011). *Microbial ecology*. WILEY-BLACKWELL.
- Begon, M., Townsend, C. R. y Harper, J. L. (2006). *Ecology from Individuals to Ecosystems*. (4^a Ed.). Blackwell Publishing.
- Bienapfl, J. C., Floyd, C. M., Percich, J. A. y Malvick. (2012). First Report of *Clonostachys rosea* Causing Root Rot of Soybean in the United States. *Plant Disease*, 96(11), 1170. DOI: 10.1094/PDIS-06-12-0550-PDN. PMID: 30727479
- Boddy, L. (2000). Interspecific combative interactions between wood-decaying basidiomycetes. *FEMS Microbiology Ecology*. 31(3), 185-194. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2000.tb00683.x>
- Boddy, L. y Hiscox, J. (2016). Fungal Ecology: Principles and Mechanisms of Colonization and Competition by Saprotrophic Fungi. *Microbiology Spectrum*, 4(6), 1-16. DOI: 10.1128/microbiolspec.FUNK-0019-2016
- Bonachela, J., Wortel, M. T. y Stenseth, N. C. (2017). Eco-evolutionary Red Queen dynamics regulate biodiversity in a metabolite-driven microbial system. *Scientific Reports*, 7, 1- 9. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-17774-4>
- Boughalleb-M'Hamdi, N., Ben Salem, I. y M'Hamdi, M. (2018). Evaluation of the efficiency of *Trichoderma*, *Penicillium*, and *Aspergillus* species as biological control agents against four soil-borne fungi of melon and watermelon. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 28(25), 1-12. <https://doi.org/10.1186/s41938-017-0010-3>
- Bowes, B. (2010). *Trees and Forests A Colour Guide. Biology, Pathology, Propagation, Silviculture, Surgery, Biomes, Ecology, Conservation*. (1^a Ed.). Academic Press.
- Brust, G. E. (2019). Management Strategies of Organic Vegetable Fertility. *Safety and Practice for Organic Food*, 193-212. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812060-6.00009-X>
- Bubb, P., May, I., Miles, L. y Sayer, J. (2004). *Cloud forest agenda*. UNEP-WCMC.
- Burke, D. J., Weintraub, M. N., Hewins, C. R. y Kalisz, S. (2011). Relationship between soil enzyme activities, nutrient cycling and soil fungal communities in a northern

- hardwood forest. *Soil Biology y Biochemistry*, 43, 795-803. DOI: 10.1016/j.soilbio.2010.12.014.
- Byrde, R. y Willets, H. (1977). *The Brown rot fungi of fruit. Their biology and control*. (1^a Ed.). Pergamon Press.
- Campbell, J. L., Rustad, L. E., Boyer, E. W., Christopher, S. F., Driscoll, C. T., Fernandez, I. J., Groffman, P. M., Houle, D., Kieckbusch, J., Magil, A. H., Mitchell, M. J. y Ollinger, S. V. (2009). Consequences of climate change for biogeochemical cycling in forests of northeastern North America. *Canadian Journal of Forest Research*. 39, 264-284. <https://doi.org/10.1139/X08-104>.
- Cannon, F. (1997). Diversity of the Phyllachoraceae with special reference to the tropics. En Hyde, K. (ed). *Biodiversity of tropical microfungi*. (pp. 255-278). Hong Kong University Press.
- Cannon, F. P. y Sutton, C. B. (2004). Microfungi on wood and plant debris. En Mueller, G. M., Bills, G. F. y Foster, M. S. *Biodiversity of Fungi: Inventory and Monitoring Methods* (pp.217-239). Elsevier, Academic Press.
- Carreira, C., Lønborg, C., Kühn, M., Lillebø, A. I., Sandaa, R. A., Villanueva, L. y Cruz, S. (2020). Fungi and viruses as important players in microbial mats. *FEMS Microbiology Ecology*. 96, 1-11. DOI: 10.1093/femsec/fiaa187.
- Chandler, D. Chapter 5 Basic and Applied Research on Entomopathogenic Fungi. En L. A. Lacey (Ed.), *Microbial Control of Insect and Mite Pests: From Theory to Practice* (pp.69-89). Academic Press.
- Chapin III, F. S., Matson, P. A. y Mooney, H. A. 2002. *Principles of Terrestrial Ecosystem Ecology*. Springer.
- Cepero de García, M. C., Restrepo, S., Franco-Molano, A. E., Cárdenaz Toquica, M. y Vargas Estupiñan, N. (2012). *Biología de hongos*. Universidad de los Andes.
- CONABIO. (2010). *El Bosque Mesófilo de Montaña en México. Amenazas y Oportunidades para su Conservación y Manejo Sostenible*. (1^a ed.). Comisión para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad.

- Cota, L. V., Maffia, L. A., Mizubuti, E. S. G., Macedo, E. F. y Antunes, R. F. (2008). Biological control of strawberry gray mold by *Clonostachys rosea* under field conditions. *Biological Control*, 46, 515-522. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2008.04.023
- Cuadros-Orellana, S., Rabelo Leite, L., Smith, A., Dutra Medeiros, J., Badotti, F., Fonseca, P. L. C., Vaz, A. B. M., Oliveira, G. y Góes-Neto, A. (2013). Assessment of Fungal Diversity in the Environment using Metagenomics: a Decade in Review. *Fungal Genomics y Biology*, 3(2), 1-13. DOI: 10.4172/2165-8056.1000110
- Danggomen, A., Visarathanonth, N., Manoch, L. y Piasai, O. (2013). Morphological Studies of Endophytic and Plant Pathogenic *Phomopsis liquidambaris* and *Diaporthe phaseolorum* (*P. phaseoli* anamorph) from Healthy Plants and Diseased Fruits. *Thai Journal of Agricultural Science*, 46(3), 157-164.
- Danielson, R. M. & Davey, C. B. (1973). Carbon and nitrogen nutrition of *Trichoderma*. *Soil Biology and Biochemistry*, 5, 505-515.
- Davet, P. (2004). *Microbial Ecology of the Soil and Plant Growth*. (1ª Ed.). CRC Press.
- DeForest, J. y Scott, L. G. (2010). Available Organic Soil Phosphorus Has an Important Influence on Microbial Community Composition. *SSSAJ*, 74(6), 2059-2066. DOI: 10.2136/sssaj2009.0426
- Del Olmo-Ruiz, M., García-Sandoval, R., Alcántara-Ayala, O., Véliz, M. y Luna-Vega, I. (2017). Current knowledge of fungi from Neotropical montane cloud forest: distributional patterns and composition. *Biodiversity and Conservation*, 26(8):1919-1942. DOI: 10.1007/s10531-017-1337-5
- Delgado-Serrano, M. M., Escalante, R. y Basurto, S. (2015). Is the community-based management of natural resources inherently linked to resilience? An analysis of the Santiago Comaltepec community (Mexico). *Ager. Revista de Estudios sobre Despoblación y Desarrollo Rural*, 18, 91-114. DOI: 10.4422/ager.2015.07
- Deng, Y., Yang, F. y Naqvi, N. I. (2015). The role of nutrients in fungal development and pathogenesis. En Kumar Gupta, V., Mach, R. L. y Sreenivasaprasad, S. *Fungal Biomolecules. Sources, Applications and Recent Developments* (pp. 203-211). WILEY Blackwell.

- Demissie, Z. A., Foote, S. J., Tan, Y. y Loewen, M. C. (2018). Profiling of the Transcriptomic Responses of *Clonostachys rosea* Upon Treatment With *Fusarium graminearum* Secretome. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1-15. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01061>
- Demissie, Z. A., Witte, T., Robinson, K. A., Sproule, A., Foote, S. J., Johnston, A., Harris, L. J., Overy, D. P y Loewen, M. C. (2020). Transcriptomic and Exometabolomic Profiling Reveals Antagonistic and Defensive Modes of *Clonostachys rosea* Action Against *Fusarium graminearum*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 33(6), 842-858.
- Dighton, J. (1995). Nutrient cycling in different terrestrial ecosystems in relation to fungi. *Canadian Journal of Botany*, 73, S1349-S1360.
- Dirk van Elsas, J., Trevors, J. T., Jansson, J. K. y Nannipieri, P. (2006). Modern soil microbiology. (2^a Ed.). CRC Press.
- Ekhuemelo, D. O., Amonum, J. J. y Usman, I. A. (2016). Importance of forest and trees in sustaining water supply and rainfall. *Nigeria Journal of Education, Health and Technology Research*. 8: 273-280.
- El Ariebi, N., Hiscox, J., Scriven, S. A., Müller, C. T. y Boddy, L. (2016). Production and effects of volatile organic compounds during interspecific interactions. *Fungal Ecology*, 20, 144-154.
- Elad, Y., Chet, I. y Henis, Y. (1982). Degradation of plant pathogenic fungi by *Trichoderma harzianum*. *Canadian Journal Microbiology*, 28(7), 719-725. <https://doi.org/10.1139/m82-110>
- Elad, Y., Barak, R., Chet, I. y Henis, Y. (1983). Ultrastructural Studies of the Interaction Between *Trichoderma* spp. and Plant Pathogenic Fungi. *Journal of Phytopathology*, 107(2), 168-175. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.1983.tb00064.x>
- Esteves, A. C., Saraiva, M., Correia, A. y Alves, A. (2014). Botryosphaeriales fungi produce extracellular enzymes with biotechnological potential. *Canadian Journal Microbiology*, 60(5), 332-342. DOI: 10.1139/cjm-2014-0134

- Erguven, G. (2018). Comparison of Some Soil Fungi in Bioremediation of Herbicide Acetochlor Under Agitated Culture Media. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 100, 570-575.
- Faber, J. H. (1991). Functional Classification of Soil Fauna: A New Approach. *Oikos*, 62(1), 110-117. <https://doi.org/10.2307/3545458>
- Fatema, U., Broberg, A., Funck Jensen, D., Karlsoon, M. y Dubey, M. (2018). Functional analysis of polyketide synthase genes in the biocontrol fungus *Clonostachys rosea*. *Scientific Reports*, 8(15009), 1-17. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-33391-1>
- Fernandez, C.W. y Kennedy, P.G. (2016). Revisiting the "Galgi effect": do interguild fungal interactions control carbon cycling in forest soils. *New Phytologist*, 209(4), 1382-1394. DOI: 10.1111/nph.13648
- Foster, N. y Bhatti, J. (2006). Forest Ecosystems: Nutrient Cycling. *Encyclopedia of Soil Science*, 718-721.
- Fraterrigo, J., Balsler, T. C. y Turner, M. G. (2006). Microbial community variation and its relationship with nitrogen mineralization in historically altered forest. *Ecology*, 87(3), 570-579. DOI: 10.1890/05-0638
- Fryar, S., Booth, W., Davies, J., Hodgkiss, I. J. y Hyde, K. D. (2005). Evidence of *in situ* competition between fungi in freshwater. *Fungal Diversity*, 18, 59-71.
- Gao, L., Sun, M. H., Liu, X. Z. y Che, Y. S. (2007). Effects of carbon concentration and carbon to nitrogen ratio on the growth and sporulation of several biocontrol fungi. *Mycological Research*, 111(Pt 1), 87-92. DOI: 10.1016/j.mycres.2006.07.019
- García, R. y Cordoba, R. (1988). *Manual ilustrado de técnicas de laboratorio utilizadas en bacteriología y micología veterinarias*. Instituto Internacional de Cooperación para la Agricultura.
- Griffin, D. (1972). *Ecology of Soil Fungi*. (1ª Ed.). London: Syracuse University Press.
- Gual-Díaz-Díaz, M. y González-Medrano, F. (2014). Cap.1 Los Bosques Mesófilos de Montaña en México. En Gual-Díaz- Díaz. M. y Rendón-Corre, A (Ed.). *Bosques*

- Mesófilos de Montaña de México. Diversidad, ecología y manejo.* (pp. 32-40).
Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad.
- Guo, L. B. y Gifford, R. M. (2002). Soil carbon stocks and land use change: a meta analysis.
Global Change Biology, 8(4), 345-360. <https://doi.org/10.1046/j.1354-1013.2002.00486.x>
- Guzmán, G. (1998). Inventorying the fungi of Mexico. *Biodiversity and Conservation*, 7,
369-384. <https://doi.org/10.1023/A:1008833829473>
- H. Ayuntamiento municipal de Santiago Comaltepec. (2010). *Plan Municipal de Desarrollo*.
Santiago Comaltepec, Ixtlán, Oaxaca.
- Haque, M.E. y Parvin, M. S. (2020). First report of *Clonostachys rosea* causing root rot of
Beta vulgaris in North Dakota, USA. *New Disease Reports*, 42, 21.
<https://doi.org/10.5197/j.2044-0588.2020.042.021>
- Han, P., Zhang, X., Xu, D., Zhang, B., Daowan, L. y Zhou, L. (2020). Metabolites from
Clonostachys Fungi and Their Biological Activities. *Journal of Fungi*, 6, 1-31. DOI:
doi.org/10.3390/jof6040229
- Harris, A. (1999). Biocontrol of *Rhizoctonia solani* and *Pythium ultimum* on *Capsicum* by
Trichoderma koningii in potting medium. *Microbiological Research*, 154(2), 131-
135. [https://doi.org/10.1016/S0944-5013\(99\)80005-6](https://doi.org/10.1016/S0944-5013(99)80005-6)
- Hawksworth, D. (1991). Fungal dimension of biodiversity: magnitude, significance and
conservation. *Mycological Research*, 95(6), 641-655. DOI: 10.1016/S0953-
7562(09)80810-1
- Hawksworth, D. (2001). The magnitude of fungal diversity: the 1.5 million species estimate
revisited. *Mycological Research*, 105(12), 1422-1432.
<https://doi.org/10.1017/S0953756201004725>
- Hawksworth, D. L. y Lücking, R. (2017). Fungal Diversity Revisited: 2.2 to 3.8 Million
Species. *Microbiology Spectrum*, 5(4), 79-95. DOI: 10.1128/microbiolspec.FUNK-
0052-2016

- Hernández Monroy, J. A. (2019). *Diversidad microbiana cultivable e interacciones ecológicas entre bacterias y hongos de ventilas hidrotermales y fondo marino del Sur del Golfo de California, México*. [Tesis de licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México]. <http://132.248.9.195/ptd2019/noviembre/0798631/Index.html>
- Herrera, T. y Ulloa, M. (1990). *El Reino de los Hongos, micología básica y aplicada*. UNAM-Fondo de Cultura Económica.
- Herrera, T. y Ulloa, M. (1998). *El reino de los hongos. Micología básica y aplicada*. (2^a ed.). Universidad Nacional Autónoma de México.
- Hiscox, J., Savoury, M., Vaughan, I. P., Müller, C. T. y Boddy, L. (2015). Antagonistic fungal interactions influence carbon dioxide evolution from decomposing wood. *Fungal Ecology*, 14, 24-32. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2014.11.001>
- Hiscox, J., Clarkson, G., Savoury, M., Powel, G., Savva, I., Lloyd, M., Shipcott, J., Choimes, A., Amargant Cumbriu, X. y Boddy, L. (2016). Effects of pre-colonisation and temperature on interspecific fungal interactions in wood. *Fungal Ecology*, 21, 32-42. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2016.01.011>
- Hiscox, J., O'Leary, J. y Boddy, L. (2018). Fungus wars: basidiomycete battles in wood decay. *Studies in Mycology*, 89, 117-124. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2018.02.003>
- Huang, F., Hou, X., Dewdney, M. M., Fu, Y., Chen, G., Hyde, K. D. y Li, H. (2013). *Diaporthe* species occurring on citrus in China. *Fungal Diversity*, 61(1), 237-250. DOI: 10.1007/s13225-013-0245-6
- Huang, X., Zhou, D., Liang, Y., Liu, X., Cao, F., Qin, Y., Mo, T., Xu, Z., Li, J. y Yang, R. (2019). Cytochalasins form endophytic *Diaporthe* sp. GDG-118. *Natural Product Research*, 1-8. DOI: 10.1080/14786419.2019.1700504
- Hulme, M. A. y Shields, J. K. (1972). Interaction between fungi in wood blocks. *Canadian Journal of Botany*, 50: 1421-1427. <https://doi.org/10.1139/b72-171>
- Hynes, J., Müller, C., Hefin Jones, T. y Boddy, L. (2007). Changes in Volatile Production during the Course of Fungal Mycelial Interactions between *Hypholoma fasciculare*

- and *Resinicium bicolor*. *Journal of Chemical Ecology*, 33(1), 43-57. DOI: 10.1007/s10886-006-9209-6
- INEGI. (2005). Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos. Santiago Comaltepec, Oaxaca. Clave geoestadística 20458. Recuperado de http://www3.inegi.org.mx/contenidos/app/mexicocifras/datos_geograficos/20/20458.pdf
- Jones, E. y Jennings, D. (1965). The effect of cations on the growth of fungi. *New Phytologist*, 64(1), 86-100. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1965.tb05378.x>
- Kawai, T. y Tokeshi, M. (2007). Testing the facilitation-competition paradigm under the stress-gradient hypothesis: decoupling multiple stress factors. *Proceedings Biological Sciences*, 274, 2503-2508. <https://doi.org/10.1098/rspb.2007.0871>
- Kebede, B., Wrigley, S. K., Prashar, A., Rahlff, J., Wolf, M., Reinshagen, J., Gribbon, P., Imhoff, J. F., Silber, J., Labes, A. y Ellinger, B. (2017). Establishing the Secondary Metabolite Profile of the Marine Fungus: *Tolypocladium geodes* sp. MF458 and Subsequent Optimisation of Bioactive Secondary Metabolite Production. *Marine Drugs*, 15(4), 1-20. DOI: 10.3390/md15040084
- Keller, N. (2019). Fungal secondary metabolism: regulation, function and drug discovery. *Nature Reviews Microbiology*. 17, 167-180. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0121-1>
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C. y Tamura, K. (2018). MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6), 1547-1549.
- Lee, S. A., Kang, M. J., Kim, T. D. y Park, E. J. (2020). First Report of *Clonostachys rosea* Causing Root Rot of *Gastrodia elata* in Korea. *Plant Disease*, 104(11), 3069. <https://doi.org/10.1094/PDIS-01-20-0148-PDN>
- Lee, H. y Magan, N. (1999). Environmental factors and nutritional utilization patterns affect niche overlap indices between *Aspergillus ochraceus* and other spoilage fungi.

Letters in Applied Microbiology, 28(4), 300-304. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.1999.00521.x>

Leger, R. J. St., Cooper, R. M. y Charnley, A.K. (1986). Cuticle-Degrading Enzymes of Entomopathogenic Fungi: Cuticle Degradation in Vitro by Enzymes from Entomopathogens. *Journal of invertebrate pathology*, 47(2), 167-177. [https://doi.org/10.1016/0022-2011\(86\)90043-1](https://doi.org/10.1016/0022-2011(86)90043-1)

St, L, Joshi, L., Bidochka, M. J., Rizzo, N. W. y Roberts, D. W. (1996). Characterization and Ultrastructural Localization of Chitinases from *Metarhizium anisopliae*, *M. flavoviride*, and *Beauveria bassiana* during Fungal Invasion of Host (*Manduca sexta*) Cuticle. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(3), 907-912. DOI: 10.1128/aem.62.3.907-912.1996.

Leocadio Zarco, C. G. (2021). *Diversidad funcional de micromicetes en el suelo del bosque mesófilo de montaña en Santiago Comaltepec, Oaxaca, México*. [Tesis de licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México]. <http://132.248.9.195/ptd2021/abril/0810644/Index.html>

Looby, C. I. y Treseder, K. K. (2018). Shifts in soil fungi and extracellular enzyme activity with simulated climate change in a tropical montane cloud forest. *Soil Biology and Biochemistry*. 117, 87-96. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.11.014>

López-Berges, M. S. Rispaíl, N., Prados-Rosales, R. C. y Di Prieto, A. (2010). A Nitrogen Response Pathway Regulates Virulence Functions in *Fusarium oxysporum* via the Protein Kinase TOR y the bZIP Protein MeaB. *The Plant Cell*, 22(7), 2459-2475. DOI: 10.1105/tpc.110.075937

López Pacheco, V. (2019). *Evaluación del efecto del pH en las interacciones inter- e intraespecíficas de micromicetes saprobios asociados a la rizósfera de gimnospermas en un jal minero de Taxco*. [Tesis de licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México]. <http://132.248.9.195/ptd2019/octubre/0797101/Index.html>

Lotka, J. (1932). The growth of mixed populations: two species competing for a common food supply. *Journal of the Washington Academy of Sciences*, 22, 461-469.

- Lundgren, B., Bååth, E. y Söderström, B. E. (1978). Antagonistic effects of *Tolypocladium* species. *Transactions British Mycological Society*, 70(2), 305-307. [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(78\)80052-7](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(78)80052-7)
- Magan, N. y Lacey, J. (1984). The effect of water activity, temperature and substrate on interactions between field and storage fungi. *Transactions of the British Mycological Society*. 82(1), 83-93.
- Magan, N., Hope, R., Cairns, V. y Aldred. (2003). Post-harvest fungal ecology: Impact of fungal growth and mycotoxin accumulation in stored grain. *European Journal of Plant Pathology*, 109, 723-730. <https://doi.org/10.1023/A:1026082425177>
- Magan, N. y Aldred, D. (2007). Environmental fluxes and fungal interactions: maintaining a competitive edge. En P. West, Avery, S. y Stratford, M (Ed.). *Stress in yeast and filamentous fungi* (pp.19-35). Elsevier Ltd.
- Manahan, S. (2007). *Introducción a la Química Ambiental*. España: Editorial Reverté.
- Marini-Macouzet, C., Muñoz, L. Gonzalez-Rubio, A., Eguiarte, L. E., Souza, V. y Velez, P. (2020). Experimental Analysis of Interactions Among Saprotrophic Fungi from A Phosphorous-Poor Desert Oasis in the Chihuahuan Desert. *Mycobiology*, 48(5), 410-417. <https://doi.org/10.1080/12298093.2020.1788271>
- Marín, S., Comanys, E., Sanchis, V., Ramos, A. J. y Magan, N. (1998). Effect of water activity and temperature on competing abilities of common maize fungi. *Micological Reserach*, 120(8), 959-964. <https://doi.org/10.1017/S0953756297005613>
- Martín, J. F., van den Berg, M. A., Ver Loren van Themaat, E. y Liras, P. (2019). Sensing and transduction of nutritional and chemical signals in filamentous fungi: Impact n cell development and secondary metabolites biosynthesis. *Biotechnology advances*, 37(6), 1-15. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2019.04.014
- Mas, A., Jamshidi, S., Lagadeuc, Y., Eveillard, D. y Vandenkoornhuysse, P. (2016). Beyond the Black Queen Hypothesis. *The ISME Journal*, 10, 2085-2091. <https://doi.org/10.1038/ismej.2016.22>

- May, M. (2000). The dimensions of Life on Earth. En Raven, P. y Williams, T. *Nature and Human Society: the quest for a sustainable world* (pp: 30-45). National Academy Press.
- Medel, R. (2013). Hongos ascomicetos del Bosque Mesófilo de Montaña en México. *Acta Botanica Mexicana*, 105(105), 87-106. DOI: 10.21829/abm105.2013.224
- Meisner, A. y de Boer, W. (2018). Strategies to Maintain Natural Biocontrol of Soil-Borne Crop Diseases During Severe Drought and Rainfall Events. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1-8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02279>
- Millberg, H., Boberg, J. y Stenlid, J. (2015). Changes in fungal community of Scots pine (*Pinus sylvestris*) needles along a latitudinal gradient in Sweden. *Fungal Ecology*, 17, 126-139.
- Miller, J. D. & Greenhalgh, R. (1985). Nutrient effects on the biosynthesis of trichothecenes and other metabolites by *Fusarium graminearum*. *Mycologia*, 77(1), 130-136.
- Mishra, V. (2010). In vitro antagonism of *Trichoderma* species against *Pythium aphanidermatum*. *Journal of Phytology*, 2(9), 28-35.
- Mitri, S. y Foster, K. R. (2013). The Genotypic View of Social Interactions in Microbial Communities. *Annual Review of Genetics*, 47, 247-73. DOI: 10.1146/annurev-genet-111212-133307
- Monroy Gamboa, A. G., Sánchez-Cordero, V., Briones-Salas, M., Lira-Saade, R. y Maass Moreno, J. M. (2015). Representatividad de los tipos de vegetación en distintas iniciativas de conservación en Oaxaca, México. *Bosque*, 36(2), 199-210. DOI: 10.4067/S0717-92002015000200006
- Moore, D. (1998). *Fungal morphogenesis*. Cambridge University Press.
- Mort, M. E., Soltis, P. S., Soltis, D. E. y Mabry, M. L. (2000). Comparison of Three Methods for Estimating Internal Support on Phylogenetic Tree. *Systematic Biology*, 49(1), 160-171. DOI: 10.1080/10635150050207456

- Mueller, G. M. y Schmit, J. P. (2007). Fungal biodiversity: what do we know? What can we predict? *Biodiversity and Conservation*, 16, 1-5. <https://doi.org/10.1007/s10531-006-9117-7>
- Mulligan, M. (2010). Capítulo 2 Modelling the tropics-wide extent and distribution of cloud forest and cloud forest loss, with implications for conservation priority. En Bruijnzeel, L., Scatena, F. y Hamilton, L (Ed.). *Tropical Montane Cloud Forests: Science for Conservation and Managements* (pp. 14-37). Cambridge University Press.
- Nadkarni, N. M. y Matelson, T. J. (1992). Biomass and Nutrient Dynamics of Epiphytic Litterfall in a Neotropical Montane Forest. Costa Rica. *Biotropica*, 24(1), 24-30. <https://doi.org/10.2307/2388470>
- Neal, D. (2004). *Introduction to Population Biology*. Cambridge University Press
- Nickerson, W. y Jillson, O. (1943). Interaction between pathogenic fungi in culture. Considerations on the mechanism of cell division in the dimorphism of pathogenic fungi. *Mycopathologia*, 4: 279-283. <https://doi.org/10.1007/BF01237153>
- Nielsen, U.N., Ayres, E., Wall y Bardgett, R. D. (2011). Soil biodiversity and carbon cycling: a review and synthesis of studies examining diversity-function relationships. *European Journal of Soil Science*, 62(1), 105-116. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.2010.01314.x>
- Nilsson, R. H., Larsson, K. H., Taylor, A. F. S., Bengtsson-Palme, J., Jeppesen, T. S., Schigel, D., Kennedy, P., Picard, K., Glöckner, F. O., Tedersoo, L., Saar, I., Kõljalg, U. y Abarenkov, K. (2019). The UNITE database for molecular identification of fungi: handling dark taxa and parallel taxonomic classifications. *Nucleic Acids Research*, 47(D1), D259-D264. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1022>
- Pacheco-Cruz, N., Clark-Tapia, R., Campos, J. E., Gorgonio-Ramírez, M., Luna- Krauletz, M. D., Naranjo-Luna, F., Corales, A. y Alfonso-Corrado, Cecilia. (2019). Regeneración de *Oreomunnea mexicana* (Juglandaceae) una especie relicto, amenazada del bosque de niebla de Sierra Juárez, Oaxaca, México. *Madera y Bosques*, 25(3), 1-14. DOI: 10.21829/myb.2019.2531852

- Pan, R., Bai, X., Chen, J., Zhang, H. y Wang, H. (2019). Exploring Structural Diversity of Microbe Secondary Metabolites Using OSMAC Strategy: A Literature Review. *Frontiers in Microbiology*, 10 (294), 1-20. DOI: doi.org/10.3389/fmicb.2019.00294
- Pérez Farrera, M. A., Tejada Cruz, C. y Silva Rivera, E. (2010). *Los bosques mesófilos de montaña en Chiapas. Situación actual, diversidad y conservación*. UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y ARTES DE CHIAPAS.
- Price, D. T., Alfaro, R. I., Brown, K. J., Flannigan, M. D., Fleming, R. A., Hogg, E. H., Girardin, M. P., Lakusta, T., Johnston, M., McKenney, D. W., Pedlar, J. H., Stratton, T., Sturrock, R. N., Thompson, I. D., Trofymow y Venier, L. A. (2013). Anticipating the consequences of climate change for Canada's boreal forest ecosystems. *Environmental Reviews*, 21(4), 322-365. <https://doi.org/10.1139/er-2013-0042>
- Purahong, W. y Hyde, K. Effects of fungal endophytes on grass and non-grass litter decomposition rates. *Fungal Diversity*. 2011. 47:1-7.
- Raymundo, T., Valenzuela, R., Ramírez-Martínez, J., Martínez-Pineda, M., Villagrán, A., Trejo-Arana, A., Sánchez Flores, M., González, A. y Luna-Vega, I. (2020). New records of Ascomycetes from the Tropical Montane Cloud Forest of Eastern Mexico. *Phytotaxa*, 454(3), 161-185. DOI: 10.11646/phytotaxa.454.3.1
- Reino, J. L., Guerrero, R. F., Hernández-Galán, R. y Collado, I. G. (2008). Secondary metabolites from species of the biocontrol agent *Trichoderma*. *Phytochemistry Reviews*, 7, 89-123. <https://doi.org/10.1007/s11101-006-9032-2>
- Reverchon, F., García-Quiroz, W., Guevara-Avedaño, E., Solís-García, I. A., Ferrera-Rodríguez, O. y Lorea-Hernández. (2019). Antifungal potential of Lauraceae rhizobacteria from a tropical montane cloud forest against *Fusarium* spp. *Brazilian Journal of Microbiology*.50, 583-592. <https://doi.org/10.1007/s42770-019-00094-2>
- Riddell, R. (1950). Permanent stained mycological preparations obtained by slide culture. *Mycologia*, 42(2), 265-270. <https://doi.org/10.2307/3755439>
- Rodríguez, M. A., Cabrera, G., Gozzo, F. C. Eberlin, M. N. y Godeas, A. (2011). *Clonostachys rosea* BAF3874 as a *Sclerotinia sclerotiorum* antagonist: mechanisms

- involved and potential as a biocontrol agent. *Journal Applied Microbiology*, 10, 1177-1186. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2011.04970.x
- Romaní, A. M., Fischer, H., Mille-Lindblom, C. y Tranvik, L. J. (2006). Interactions of bacteria and fungi on decomposing litter: differential extracellular enzyme activities. *Ecology*, 87(10), 2559-69. DOI: 10.1890/0012-9658(2006)87[2559:iobafo]2.0.co;2.
- Rzedowski, J. (1994). *Vegetación de México*. (1ª ed.). México: Editorial Limusa S.A.
- Samsudin, N. I. P., Medina-Vayá, A. y Magan, N. (2016). Relationship between environmental conditions, carbon utilisation patterns and Niche Overlap Indices of the mycotoxigenic species *Fusarium verticillioides* and the biocontrol agent *Clonostachys rosea*. *Fungal Ecology*. 24, 44-52. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2016.05.010>
- Sharma, G. y Pandey, R. R. (2010). Influence of culture media on growth, colony character and sporulation of fungi isolated from decaying vegetable wastes. *Journal of Yeast and Fungal Research*, 1(8), 157-164. DOI: doi.org/10.5897/JYFR.9000029
- Schneider, C., Rasband, W., y Eliceiri, K. W. (2012). NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nat Methods*, 9(7), 671-675. DOI: 10.1038/nmeth.2089
- Schappe, T., Albornoz, F. E., Turner, B. L. y Jones, F. A. (2019). Co-occurring Fungal Functional Groups Respond Differently to Tree Neighbourhoods and Soil Properties Across Three Tropical Rainforests in Panama. *Microbial Ecology*, 79(3), 675-685. DOI: 10.1007/s00248-019-01446-z
- Schlesinger, W. H. y Bernhardt, E. S. (2013). *Biogeochemistry. An analysis of Global Change*. ELSEVIER.
- Sharma, J. y Sharma, Y. (2004). Nutrient cycling in forest ecosystems - A review. *Agricultural reviews*, 25(3), 157-172.
- Shestak, C. J. y Busse, M. D. (2005). Compaction Alters Physical but Not Biological Indices of Soil Health. *Soil Science Society of America*. 69(1):236-246. DOI: 10.2136/sssaj2005.0236

- Schmit, J. P. y Mueller, G. M. 2007. An estimate of the lower limit of global fungal diversity. *Biodiversity Conservation*, 16(1), 99-111. DOI: 10.1007/s10531-006-9129-3
- Six, J., Frey, S. D., Thiet, R. K. y Batten, K. M. (2006). Bacterial and Fungal Contributions to Carbon Sequestration in Agroecosystems. *Soil Science Society of America Journal*, 70(2), 555-569. <https://doi.org/10.2136/sssaj2004.0347>
- Snajdr, J., Dobiášová, P., Větrovský, T., Valášková, V., Alawi, A., Boddy, L., y Baldrian, P. (2011). Saprotrophic basidiomycete mycelia and their interspecific interactions affect the spatial distribution of extracellular enzymes in soil. *Federation of European Microbiological Societies Microbiology Ecology*, 78, 80-90. DOI: 10.1111/j.1574-6941.2011.01123.x
- Soares Jr., G. G., Riba, G., Caudal, A. y Vicent, J. J. (1985). Comparative Studies of Eleven Isolates of the Fungal Entomopathogen *Tolypocladium cylindrosporum* and Two Isolates of *Tolypocladium extinguens*. *Journal of invertebrate pathology*, 46(2), 115-120.
- Söderström, B. (1975). Vertical distribution of microfungi in a spruce forest soil in the south of Sweden. *Transactions British Mycological Society*, 65(3), 419-425. [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(75\)80039-8](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(75)80039-8)
- Song, H., Cannon, W. R., Beliaev, A.S. y Konopka, A. (2018). Mathematical Modeling of Microbial Community Dynamics: A Metodological Review. En H. Song (Ed.). *Microbial Community Modeling: Prediction of Microbial Interactions and Community Dynamics* (pp. 711-752). MDPI
- Stevenson, F. y Cole, M. (1999). *Cycles of soil. Carbon, Nitrogen, Phosphorus, Sulphur, Micronutrients*. (2^a ed.). Jons Wiley y Sons, INC.
- Tapia-Torres, Y. y García-Oliva, F. (2013). La disponibilidad del fósforo es producto de la actividad bacteriana en el suelo en ecosistemas oligotróficos: una revisión crítica. *Terra Latinoamericana*, 31(3), 231-242.
- Tsahouridou, P. y Thanassouloupoulos, C. (2002). Proliferation of *Trichoderma koningii* in the tomato rhizosphere and the suppression of damping-off by *Sclerotium rolfsii*. *Soil*

Biology y Biochemistry, 34(6), 767-776. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(02\)00006-8](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(02)00006-8)

Tsantrizos, Y., Pischos, S., Sauriol, F. y Widden, P. (1996). Peptaibol metabolites of *Tolypocladium geodes*. *Canadian Journal of Chemistry*, 74, 165-172.

Tedersoo, L., *et.al.* (2014). Global diversity and geography of soil fungi. *Science*. 346: 1078.

Treseder, K. K. y Lennon, J. T. (2015). Fungal Traits That Drive Ecosystem Dynamics on Land. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 79(2), 243-262. DOI: 10.1128/MMBR.00001-15.

Trivedi, P., Delgado-Baquerizo, M., Anderson, I. C. y Singh, B. K. (2016). Response of Soil Properties and Microbial Communities to Agriculture: Implications for Primary Productivity and Soil Health Indicators. *Frontiers in Plant Science*, 7(990), 1-13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00990>

Thormann, M. (2006). Diversity and function of fungi in peatlands: A carbon cycling perspective. *Canadian Journal of Soil Science*, 86, 281-293. <https://doi.org/10.4141/S05-082>

Tobón, C., Bruijnzeel, L. A., Frumau, K. F. A. y Calvo-Alvarado, J. C. (2010). 52 Changes in soil physical properties after conversion of tropical montane cloud forest to pasture in northern Costa Rica. En L. A. Bruijnzeel, F. N. Scatena y L. S. Hamilton (Eds.). *Tropical Montane Cloud Forest: Science for Conservation and Management* (pp. 502-515) Cambridge University Press.

Toledo, A., Virla, E., Humber, R. A., Paradell, S. L. y López Lastra, C. C. (2006). First record of *Clonostachys rosea* (Ascomycota: Hypocreales) as an entomopathogenic fungus of *Oncometopia tucumana* and *Sonesimia grossa* (Hemiptera: Cicadellidae) in Argentina. *Journal of Invertebrate Pathology*, 92(1), 7-10. DOI: 10.1016/j.jip.2005.10.005

Trutmann, P. y Keane, P. (1990). *Trichoderma koningii* as a biological control agent for *Sclerotinia sclerotiorum* in Southern Australia. *Soil Biology and Biochemistry*, 22(1), 43-50. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(90\)90058-8](https://doi.org/10.1016/0038-0717(90)90058-8)

- Tsujiyama, S. y Minami, M. (2005). Production of phenol – oxidizing enzymes in the interaction between white-rot fungi. *Mycoscience*, 46(4), 268-271. <https://doi.org/10.1007/S10267-005-0243-Y>
- van den Brink, J. y de Vries, R. P. (2011). Fungal enzyme sets for plants polysaccharide degradation. *Appl Microbiol Biotechnol*, 91(6), 1477-1492. DOI: 10.1007/s00253-011-3473-2
- Velez, P., Gasca-Pineda, J., Rosique-Gil, E., Eguiarte, L. E., Espinosa-Asuar, L. y Souza, V. (2016). Microfungal oasis in an oligotrophic desert: diversity patterns and community structure in three freshwater systems of Cuatro Ciénegas, México. *PeerJ*, 4, 1-34. DOI: 10.7717/peerj.2064
- Velez, P., Espinosa-Asuar, L., Figueroa, M., Gasca-Pineda, J., Aguirre-von-Wobeser, E., Eguiarte, L. E., Hernandez-Monroy, A. y Souza, V. (2018). Nutrient Dependent Cross-Kingdom Interactions: Fungi and Bacteria From an Oligotrophic Desert Oasis. *Frontiers in Microbiology*, 6(9), 1-15. DOI: 10.3389/fmicb.2018.01755
- Villarruel Ordaz, J. L., Canseco Zorilla, E. y Cifuentes, J. (2015). Diversidad fúngica en el municipio de San Gabriel Mixtepec, región Costa de Oaxaca, México. *Revista Mexicana de Micología*, 41, 55-63.
- Villaseñor, J. L. (2010). *El bosque húmedo de montaña en México y sus plantas vasculares: catálogo florístico- taxonómico*. Instituto de Biología, UNAM-CONABIO.
- Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E. L., Woo, S. L., Nigro, M., Marra, R., Lombardi, N., Pascale, A., Ruocco, M., Lanzuise, S., Manganiello, G. y Lorito, M. (2014). *Trichoderma* Secondary Metabolites Active on Plants and Fungal Pathogens. *The Open Mycology Journal*, 8, 127-139. DOI: 10.2174/1874437001408010127
- Volterra, V. (1926). Variations and fluctuations of the numbers of individuals in animal species living together. En Chapman, R. *Animal Ecology*. McGraw Hill.
- Weindling, R. (1938). Association effects of Fungi. *Botanical Review*, 4, 475-496. <https://doi.org/10.1007/BF02872547>
- Werner, G. (2014). Evolution of microbial market. *PNAS*, 111(4), 1237-1244. <https://doi.org/10.1073/pnas.1315980111>

- Whipps, J. y Magan, N. (1987). Effects of nutrient status and water potential of media on fungal growth and antagonist-pathogen interactions. *EPPO Bulletin*, 17(4), 581-591. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2338.1987.tb00078.x>
- White, T. A., Bruns, T., Lee, S., Taylor, J., Innis, M., Gelfand, D., Sninsky, J., Lee, S., Taylor, J., Innis, M. A., Gelfand, D., White, T., Lee, S. H., Taylor, J., Sninsky, J., Bruns, T., Taylor, J., Lee, S., Bruns, S....A.M. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. En Innis, M. A., Gelfand, D. H., Sninsky, J. J. y White, T. J (Eds.), *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications* (pp. 315-322). Cambridge, MA: Academic Press Inc.
- Wood, T. y McCrae, S. I. (1982). Purification and Some Properties of the Extracellular β -D-Glucosidase of the Cellulolytic Fungus *Trichoderma koningii*. *Journal of General Microbiology*, 128(12), 2973-2982. DOI: 10.1099/00221287-128-12-2973
- Yu, J. y Keller, N. (2005). Regulation of secondary metabolism in filamentous fungi. *Annual Review of Phytopathology*, 43, 437-58. DOI: 10.1146/annurev.phyto.43.040204.140214
- Zamora-Martínez, M., González Hernández, A., Islas Gutiérrez, F., Cortés Barrera, E. N. y López Valdez, L. I. (2014). Distribución geográfica y ecológica de 13 especies de hongos silvestres comestibles en Oaxaca. *Revista mexicana de ciencias forestales*, 5(21), 76-93. <https://doi.org/10.29298/rmcf.v5i21.359>
- Zhang, T., Chen, H. Y. H. y Ruan, H. (2018). Global negative effects of nitrogen deposition on soil microbes. *The International Society for Microbial Ecology*, 12(7): 1817-1825. DOI: 10.1038/s41396-018-0096-y

11. APÉNDICES

Tabla 15. Porcentajes de inhibición del área de los micromicetes en el medio C-. El orden de las interacciones (especie A vs. especie B) indica que la especie A es impactada por la especie B. Los números representan los hongos (1: *T. koningii*, 2: *T. geodes*, 3: *C. rosea* y 4: *D. novem*).

HONGO 1			
Interacción	PII (Día 5)	PII (Día 10)	PII (Día 14)
1 vs. 1	28,194084	30,23387834	52,14703492
1 vs. 2	-117,0038663	6,722496041	33,42804838
1 vs. 3	-129,730152	12,87093448	45,69137175
1 vs. 4	-246,7442138	-32,58866621	18,99594097
HONGO 2			
2 vs. 1	-87,2522118	24,4470016	19,5180141
2 vs. 2	-112,57006	-8,1687789	N/A
2 vs. 3	-176,444379	4,7224644	35,6825097
2 vs. 4	-182,7102824	-26,85863957	N/A
HONGO 3			
3 vs. 1	-64,63281936	-42,00902033	-34,95599481
3 vs. 2	-147,0826838	-50,83709706	-23,00502617
3 vs. 3	-55,62462102	18,12660643	22,52143959
3 vs. 4	-134,2100418	-27,06283314	6,227114712
HONGO 4			
4 vs. 1	-6,780494466	55,78815991	54,86049018
4 vs. 2	59,02281283	49,00646678	N/A
4 vs. 3	-27,31158144	33,99667079	31,3346043
4 vs. 4	9,975130943	43,30254684	38,26046885

Tabla 16. Porcentajes de inhibición del área de los micromicetes en el medio C+. El orden de las interacciones (especie A vs. especie B) indica que la especie A es impactada por la especie B. Los números representan los hongos (1: *T. koningii*, 2: *T. geodes*, 3: *C. rosea* y 4: *D. novem*).

HONGO 1			
	PII (Día 5)	PII (Día 10)	PII (Día 14)
1 vs. 1	-46,93562074	51,83900291	52,82172455
1 vs. 2	-66,07554169	-6,661574153	-1,358244665
1 vs. 3	-1,35447822	16,46584556	10,2942731
HONGO 2			
2 vs. 1	-291,055936	70,65713497	83,16022633
2 vs. 2	-280,5534673	-8,523155057	11,26411172
2 vs. 3	-486,0393766	11,34464242	41,30014025
2 vs. 4	-324,2527988	8,383514064	32,8535641
HONGO 3			
3 vs. 1	43,97505073	65,41173603	76,20475953
3 vs. 2	-38,19511726	-26,40149557	-13,1825366
3 vs. 3	17,21867498	35,40637667	16,34789693
3 vs. 4	56,95853934	70,97114492	80,06037764
HONGO 4			
4 vs. 1	13,99947613	58,25218698	56,13400789
4 vs. 2	39,07061843	37,61073456	43,85902619
4 vs. 3	3,680429524	9,03617125	7,433890365
4 vs. 4	33,89706756	50,78855536	49,34231364

Tabla 17. Porcentajes de inhibición del área de los micromicetes en el medio N- y N+. El orden de las interacciones (especie A vs. especie B) indica que la especie A es impactada por la especie B. Los números representan los hongos (1: *T. koningii*, 2: *T. geodes*, 3: *C. rosea* y 4: *D. novem*)

	N-		N+	
HONGO 1	PII (Día 5)	PII(Día 11)	PII (Día 5)	PII(Día 11)
1 vs. 1	51,65244619	47,47548261	42,52628511	48,85624239
1 vs. 2	41,54227959	10,32418732	34,29248576	21,33325495
1 vs. 3	39,5731939	7,783711078	20,67757776	8,889187929
1 vs. 4	29,37415406	3,651191871	27,91838394	47,39079213
HONGO 2				
2 vs. 1	-12,83220487	72,66477285	26,40457137	44,32207099
2 vs. 2	-3,957440929	-3,569399485	-11,63852956	12,39288337
2 vs. 3	-51,52963935	9,35456167	-7,726741212	20,47036848
2 vs. 4	-48,35244807	-5,303120389	12,42737338	38,11355141
HONGO 3				
3 vs. 1	24,63602384	72,16403268	17,42367009	68,07743167
3 vs. 2	9,761754958	27,70331148	-38,97563187	-12,94037117
3 vs. 3	N/A	N/A	-7,642045553	20,8994422
3 vs. 4	17,97073132	71,87213311	-1,05514116	56,57812257
HONGO 4				
4 vs. 1	65,82471589	71,37661659	50,9333109	61,45403609
4 vs. 2	72,90771658	45,28580532	38,75554486	17,03218061
4 vs. 3	26,96418047	14,27023795	29,60618685	2,651324613
4 vs. 4	41,23549993	50,574792	26,51530083	41,68002464

Tabla 18. Valores de OAI de resistencia para cada hongo en los cuatro medios de cultivo. Los números representan los hongos (1: *T. koningii*, 2: *T. geodes*, 3: *C. rosea* y 4: *D. novem*).

MEDIO C-			
Hongo	OAI(Día 5)	OAI (Día 10)	OAI (Día 14)
1	-465	17,23864265	150,262396
2	-558,9769334	-5,857952478	55,20052385
3	-402	-102	-29,21246667
4	34,90586786	182,0938443	124,4555633
MEDIO C+			
Hongo	OAI(Día 5)	OAI (Día 10)	OAI (Día 14)
1	-243,6482232	99,78265786	93,71155774
2	-1381,901579	81,86213639	168,5780424
3	80	145	159
4	90,64759165	156,7692381	155,6876481
MEDIO N-			
Hongo	OAI (Día 5)	OAI (Día 11)	
1	162,1420737	69,23457288	
2	-116,6717332	73,14681465	
3	52,36851012	171,7394773	
4	206,9321129	181,5074519	
MEDIO N+			
Hongo	OAI (Día 5)	OAI (Día 11)	
1	125,4147326	126,4694774	
2	19,46667398	115,2988742	
3	-30,24914849	132,6146253	
4	145,8103434	122,817566	

Tabla 19. Valores de OAI de antagonismo para cada hongo en los cuatro medios de cultivo. Los números representan los hongos (1: *T. koningii*, 2: *T. geodes*, 3: *C. rosea* y 4: *D. novem*).

MEDIO C-			
Hongo	OAI (Día 5)	OAI (Día 11)	OAI (Día 14)
1	-130,4714416	75,51304504	84,51651888
2	-317,6337977	24,55515775	-17,40904868
3	-389,1107333	74,11150925	130,8350922
4	-553,689407	-9,917644228	30,19357668
MEDIO C+			
Hongo	OAI (Día 5)	OAI (Día 11)	OAI (Día 14)
1	-280,2381033	243,7999538	270,2058969
2	-346,0155396	2,147866953	34,23878526
3	-466,5494186	70,61488309	76,93961102
4	-357,8355949	168,2006392	194,1854826
MEDIO N-			
Hongo	OAI (Día 5)	OAI (Día 11)	
1	129,280981	263,6809047	
2	120,2543102	79,74390464	
3	15,00773502	31,4085107	
4	40,22793725	120,7949966	
MEDIO N+			
Hongo	OAI (Día 5)	OAI (Día 11)	
1	137,2878375	222,7097811	
2	22,4338692	37,81794776	
3	34,91497785	52,91032323	
4	65,805917	183,7624907	