

Efecto *in vitro* de un quitosano de masa molecular media sobre dos cepas de *Bipolaris oryzae* aisladas en México y Cuba

✉ Aida Tania Rodríguez Pedroso¹, Maribel Plascencia Jatomea², Silvia Bautista Baños³, Elsa Ventura Zapata³, Mario Onofre Cortez Rocha², Miguel Ángel Ramírez Arrebato¹

¹ Unidad Científico Tecnológica de Base Los Palacios, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, INCA Carretera La Francia Km 1½, Los Palacios Pinar del Río, CP 22900, Cuba

² Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos, Universidad de Sonora. Blvd. Luis Encinas y Rosales s/n, Col. Centro, PO Box 1658, Hermosillo, Sonora CP 83000, México

³ Centro de Desarrollo de Productos Bióticos, Instituto Politécnico Nacional. Carr. Yautepec-Jojutla km. 6, San Isidro, CEPROBI 8, Yautepec, Morelos. c.p. 62731, México
✉ atania@inca.edu.cu

RESUMEN

La mancha marrón (*Bipolaris oryzae*) es una de las enfermedades que afecta al cultivo del arroz (*Oryza sativa* L.) y de la que se investiga la posibilidad de utilizar productos naturales como el quitosano para su control. Este compuesto muestra una alta actividad antifúngica, la cual depende de su masa molecular, grado de acetilación, concentración, entre otros. En este trabajo se evaluó el efecto *in vitro* de un quitosano de masa molecular media (152.6 kDa) a tres concentraciones (1, 3 y 4 g/L) sobre el crecimiento de dos cepas del hongo *B. oryzae*. Se observó que, a medida que aumentaba la concentración, mayor fue el porcentaje de inhibición del crecimiento radial y la afectación de las hifas por el biopolímero, con los mejores resultados a la concentración de 4 g/L. Se corroboró el daño en las hifas a través de la técnica de microscopía electrónica de barrido, a la concentración de quitosano de 3 g/L para ambas cepas.

Palabras clave: antifúngico, arroz, hifas, inhibición, microscopía

ABSTRACT

In vitro effect of a chitosan on two strains of *Bipolaris oryzae* isolated in Mexico and Cuba. Brown spot (*Bipolaris oryzae*) is one of the diseases affecting rice cultivation (*Oryza sativa* L.) and the use of natural products such as chitosan to its control is currently being investigated. This compound shows a high antifungal activity, which depends on its molecular mass, degree of acetylation, concentration, among others. In this work, it was evaluated the *in vitro* effect of a chitosan of medium molecular mass at three concentrations (1, 3 and 4 g/L) on the growth of two strains of the fungus *B. oryzae*. It was observed that the higher the concentration, the greater the percentage of inhibition of radial growth and the affection of the biopolymer on the hyphae. The concentration of 4 g/L showed the best results. Damage to the hyphae was corroborated by scanning electron microscopy at 3 mg/L chitosan concentration in both strains.

Keywords: antifungal, rice, hyphae, inhibition, microscopy.

How to cite (Vancouver style):

Rodríguez-Pedroso AT, Plascencia-Jatomea M, Bautista-Baños S, Ventura-Zapata E, Cortez-Rocha MO, Ramírez Arrebato MA. Efecto *in vitro* de un quitosano de masa molecular media sobre dos cepas de *Bipolaris oryzae* aisladas en México y Cuba. *Biotecnol Apl.* 2021;38(2):2201-5.

Introducción

Las enfermedades fúngicas son una de las principales limitaciones de la productividad del arroz a escala mundial. De aproximadamente 74 enfermedades asociadas al cultivo del arroz, alrededor de una docena son causadas por hongos [1]. En Cuba existen siete especies de importancia económica, de las cuales seis son causadas por hongos y una por virus: *Pyricularia grisea*, *Rhizoctonia solani*, *Sarocladium oryzae*, *Helminthosporium oryzae*, *Rhynchosporium oryzae*, complejo fúngico y el no menos importante virus de la hoja blanca [1].

El complejo *Helminthosporium* incluye varias especies de hongos que afectan a la raíz, el tallo, las hojas, las panículas y los granos. Los géneros más importantes del complejo son *Drechslera*, *Bipolaris* y *Exserohilum* y varias de sus especies son patógenas de plantas, particularmente de arroz. Se ha estimado que las pérdidas económicas a nivel mundial causadas por este grupo de hongos pueden variar entre el 40 y el 90 % de los cultivos [2].

Para el control de esta enfermedad se utilizan medidas fitotécnicas con un manejo adecuado del cultivo. También se aplican productos fitosanitarios, con el uso de productos químicos convencionales tales como los compuestos organofosforados, el triciclazol, el procloraz, el isoprothiolano, el probenazol, la fitalida, el benomilo, entre otros. Pero estos son altamente tóxicos y nocivos para el hombre y el medio ambiente.

Por lo anterior, unido a las tendencias actuales que demandan el uso de métodos de control amigables con el medio ambiente, existe un creciente interés en el uso de productos de origen natural, no tóxicos, biodegradables, biocompatibles con actividad antimicrobiana y propiedades físicas y químicas versátiles [3]. Uno de ellos es el quitosano, que ha demostrado tener un efecto antifúngico contra muchos hongos fitopatógenos en condiciones *in vitro* [4-8]. Este biopolímero ocasiona afectaciones sobre varios estadios del desarrollo de los hongos, tales como crecimiento micelial, esporulación, viabilidad y germinación de esporas [9].

1. González BG. Espectro patológico de las principales enfermedades del cultivo del arroz. 2003 [cited 2020 Oct 12]. Available from: <http://www.bibliociencias.cu/gsd/collect/libros/index/assoc/HASHbb5.dir/doc.pdf>

2. Ojeda A, Subero L. Crecimiento y esporulación de *Bipolaris oryzae* (Breda de Haan) Schoem., en diferentes medios de cultivo, condiciones de luz y temperatura. *Rev Fac Agron (UCV)*. 2004;32:145-54.

3. Dutta PK, Tripathi S, Mehrotra GK, Dutta J. Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. *Food Chem*. 2009;114:1173-82.

4. El Guilli M, Hamza A, Clément C, Ibriz M, Ait Barka E. Effectiveness of postharvest treatment with chitosan to control citrus green mold. *Agriculture*. 2016;6(2):12.

5. Sathiyabama M, Parthasarathy R. Biological preparation of chitosan nanoparticles and its *in vitro* antifungal efficacy against some phytopathogenic fungi. *Carbohydr Polym*. 2016;151:321-5.



El quitosano y sus derivados tienen efectos directos sobre los hongos fitopatógenos que afectan el cultivo del arroz, como *Rhizoctonia solani* [10], *Pyricularia grisea* [11,12], *Sarocladium oryzae* [13] y *Bipolaris oryzae* [14]. Sin embargo, existen pocos estudios sobre el daño que estos compuestos pueden causar en diferentes cepas y estructuras de estos hongos. Las cepas tienen diferentes velocidades de crecimiento y color de micelio. En cuanto a las estructuras, este patógeno presenta conidios fusoides o clavados, algunas veces casi cilíndricos, generalmente curvados, de color café brillante a café dorado, de 6 a 14 septos y de $63\text{-}153 \times 14\text{-}22 \mu\text{m}$. Los conidios frecuentemente germinan por uno o por ambos polos celulares.

Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue evaluar la actividad antifúngica in vitro del quitosano sobre el crecimiento micelial, el diámetro y las alteraciones morfológicas de las hifas de dos cepas de *B. oryzae* (teleomorfo *Cochliobolus miyabeanus*) aislados en dos países, México y Cuba.

Materiales y métodos

Preparación de soluciones de quitosano

Se utilizó un quitosano comercial (Catalogue No. 448877, Sigma-Aldrich, USA) de masa molecular media (QMMM; 152.6 kDa) y de grado de desacetilación del 90 %. El quitosano se disolvió en una solución de ácido acético al 1% (v/v) y el pH se ajustó a pH 5.6 con una solución de hidróxido de sodio 2 M.

Preparación de inóculos

Las dos cepas aisladas se identificaron previamente como *Bipolaris oryzae* (teleomorfo: *Cochliobolus miyabeanus*). Una cepa se aisló de granos de arroz manchados del cultivar mexicano Morelos A98 (M-1), mientras que la otra de hojas de arroz sintomáticas del cultivar cubano ANAYS LP 14 (B-1). Las cepas se inocularon en placas Petri con medio de cultivo agar papa-dextrosa (PDA, Bioxon), recomendado para este patógeno, y se incubó a una temperatura entre 26 y 28 °C, con alternancia de luz (12 h) y oscuridad (12 h).

Preparación de medio de cultivo

Las soluciones de quitosano y el medio de cultivo se esterizaron por separado en autoclave (Felisa, México) durante 15 min a 121 °C. Posteriormente, ambas soluciones se mezclaron y homogeneizaron para obtener medios con las siguientes concentraciones: 1, 3 y 4 mg/mL. Se utilizó como control placas con PDA a pH 5.4. Una vez preparados los diferentes tratamientos, se agregó 10 mL a las placas de Petri, cada una de las cuales se inoculó con un disco micelial de 5 mm de diámetro, e incubó a 28 °C.

Crecimiento radial

Para realizar las evaluaciones del crecimiento radial, se midieron manualmente los diámetros de las colonias cada 24 h durante 5 días y se compararon con el crecimiento del hongo en el medio control, con el fin de calcular el porcentaje de inhibición sobre el crecimiento radial de la colonia (ecuación 1):

$$\text{Inhibición radial (\%)} = \frac{T_c - T_t}{T_c} \times 100$$

Donde:

T_c: radio medio de colonias en el medio de control

T_t: radio medio de colonia en medio con quitosano.

Los resultados de la inhibición del crecimiento radial se analizaron mediante un diseño completamente aleatorizado con cinco repeticiones por tratamiento.

Análisis morfométrico de hifas

A las 72 h de incubación, se tomaron muestras aleatorias de cada uno de los tratamientos y se realizaron observaciones directas bajo microscopio óptico (Olympus CX 40, USA), con la captura de imágenes en diferentes campos mediante una cámara Infinity 1 (Media Cybernetics, USA). Las diferentes fotografías del micelio fueron procesadas mediante análisis de imágenes con el programa Image-Pro Plus versión 6.3 (Media Cybernetics, USA), para determinar el efecto de las diferentes concentraciones de quitosano sobre la morfometría de las hifas de los aislados *B. oryzae*. De cada tratamiento se capturó al menos 10 fotos con el objetivo 100× y de cada foto se realizaron de 5 a 10 mediciones aleatorias.

También de cada tratamiento se tomaron al menos 50 medidas de diámetros de hifas con el lente de 40×. Las imágenes del micelio reveladas en la placa de agar a las 72 h se capturaron mediante el movimiento manual del campo del microscopio con las funciones predeterminadas del programa.

Microscopía Electrónica de Barrido (MEB)

Se realizaron observaciones de microscopía electrónica en la fase de crecimiento apical del hongo, que se inoculó en las placas de agar mediante punzones. Las observaciones se realizaron cortando piezas de agar de $0.5 \times 0.5 \text{ cm}$, tomadas a las 72 h después de la inoculación, en medio control y con quitosano.

Las muestras se fijaron por inmersión total en solución de glutaraldehído al 5 % (v/v) durante 24 h a 4 °C, seguido de la post-fijación en solución de tetróxido de osmio al 1 % (p/v) durante 2 h a 4 °C. Las muestras se deshidrataron con una serie de soluciones graduadas de acetona (30, 40, 50, 70, 80, 90 y 100 %) y se cubrieron con oro antes de su observación en el microscopio electrónico de barrido (Jeol JSM-5410LV, Scanning Microscope, USA).

Análisis estadístico

Los datos experimentales se procesaron mediante análisis de varianza a un nivel de significación $p \leq 0.05$ en el programa NCSS 2001 y las medias se compararon con la prueba de rangos múltiples de Tukey a un intervalo de confianza del 95 %.

Resultados y discusión

Actividad antifúngica, inhibición del crecimiento micelial

Los resultados de la inhibición del crecimiento micelial del quitosano de masa molecular media

6. Živković S, Stevanović M, Durović S, Ristić D, Stojić S. Antifungal activity of chitosan against *Alternaria alternata* and *Colletotrichum gloeosporoides*. Pestic Fitomed (Belgrade). 2018;33(3-4):197-204.

7. Hua C, Li Y, Wang X, Kai K, Su M, Shi W, et al. The effect molecular weight chitosan on the control of gray mold (*Botrytis cinerea*) on kiwifruit and host response. Sci Hortic. 2019;246:700-9.

8. Sathiyabama M, Muthukumar S. Chitosan guar nanoparticle preparation and its in vitro antimicrobial activity towards phytopathogens of rice. Int J Biol Macromol. 2020;153:297-304.

9. Xu J, Zhao X, Han X, Du Y. Antifungal activity of oligochitosan against *Phytophthora capsici* and other plant pathogenic fungi in vitro. Pestic Biochem Phys. 2007;87:220-8.

10. Liu H, Tian W, Wu G, Ibrahim M, Tao Z, Wang Y, et al. Antifungal effect and mechanism of chitosan against the rice sheath blight pathogen, *Rhizoctonia solani*. Biotechnol Lett. 2012;34:2291-8.

11. Rodríguez AT, Ramírez MA, Nápoles MC, Márquez R, Cardenas RM. Antifungal activity of chitosan and one of its hydrolysates on *Pyricularia grisea*, *Sacc fungus*. Cult Trop. 2003;24(2):85-8.

12. Manikanda A, Sathiyabama M. Preparation of chitosan nanoparticles and its effect on detached rice leaves infected with *Pyricularia grisea*. Inte J Biol Macromol. 2016;84:58-61.

13. Cruz Triana A, Rivero González D, Martínez Coca B, Ramírez Arrebató MA, Rodríguez Pedroso AT. Efecto de la quitosana sobre el crecimiento y desarrollo in vitro de *Sarocladium oryzae* Sawada. Rev Prot Veg. 2004;19(2):133-6.

14. Rodríguez Pedroso AT, Plascencia Jatomea M, Bautista Baños S, Cortez Rocha MO, Ramírez Arrebató MA. Actividad antifúngica in vitro de quitosanos sobre patógeno del arroz. Acta Agron. 2016;65(2):169-74.

15. Xoca Orozco LA, Aguilera Aguirre S, López García UM, Gutiérrez Martínez P, Chacón López A. Effect of chitosan on the in vitro control *Colletotrichum sp.*, and its influence on post-harvest quality in Hass avocado fruits. Rev Bio Ciencias. 2018;5:e355.

16. Silva Castro I, Casados Sanz M, Alonso Cortés A, Martín Ramos P, Martín Gil J, Acuña Rello L. Chitosan-based coatings to prevent the decay of *Populus spp.* wood caused by *Trametes versicolor*. Coatings. 2018;8:415.

17. No HK, Meyers SP, Prinyawiwatkul W, Xu Z. Applications of chitosan for improvement of quality and shelf life of foods: A review. J Food Sci. 2007;72:87-100.

18. El Ghauth A, Arul J, Grenier J, Asselin A. Antifungal activity of chitosan on two postharvest pathogens of strawberry fruits. Postharvest Pathol Mycotoxins. 1991;82(4):398-402.

19. Li M, Chen C, Xia X, Garba B, Shang L, Wang Y. Proteomic analysis of the inhibitory effect of chitosan on *Penicillium expansum*. Food Sci Technol. 2019;40(1):250-7.

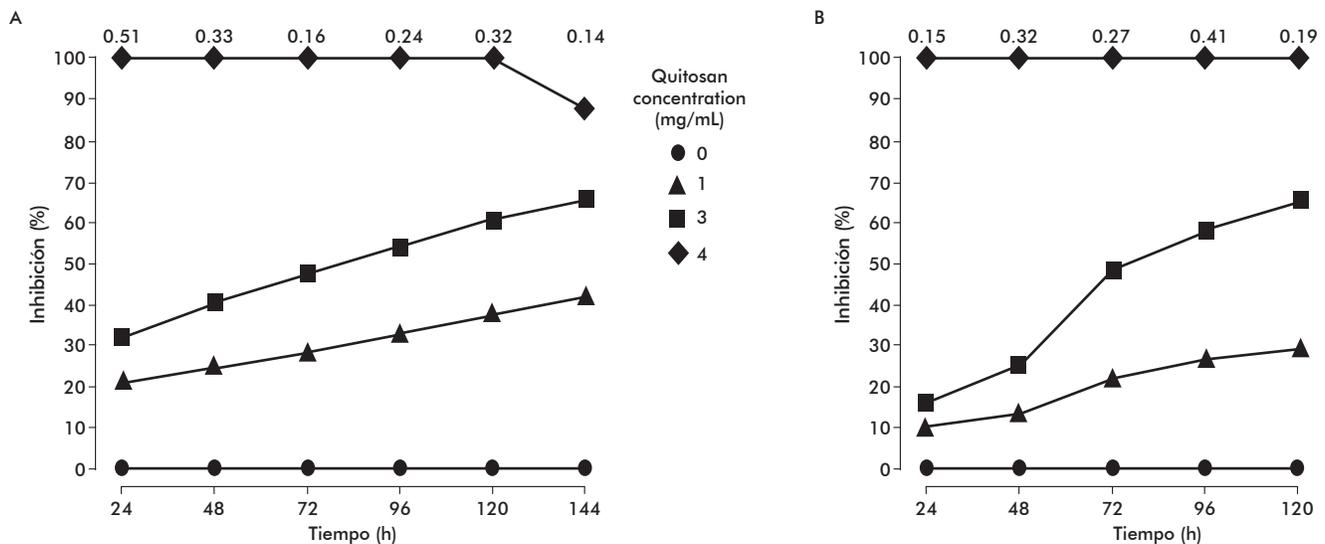


Figura 1. Porcentaje de inhibición de diferentes concentraciones de quitosano de masa molecular media (152.6 kDa) sobre dos cepas de *Bipolaris oryzae*. A) Ceba M1, aislada en México. B) Ceba B1, aislada en Cuba. Los valores numéricos representan el error estándar de la media.

sobre las cepas M-1 y B-1 se muestra en la Figura 1, con una media de cinco repeticiones. Las medias se compararon con la prueba de rangos múltiples de Tukey a un intervalo de confianza del 95 %.

En general, se puede plantear que a medida que aumenta la concentración de quitosanos, el porcentaje de inhibición fue mayor en las dos cepas, con diferencias significativas ($p < 0.05$) con respecto a los tratamientos controles. La concentración de 4 g/L fue la que más inhibió el crecimiento en ambas cepas. No obstante, en la última evaluación de la máxima concentración utilizada el porcentaje de inhibición disminuyó a un 88 % en la cepa M-1. Según estos resultados, planteamos que este quitosano pudiera tener efecto fungiestático sobre la cepa M-1 y fungicida sobre la cepa B-1, sobre la que mostró inhibición total.

Otros autores [6] también han encontrado que un quitosano de masa molecular media con concentraciones crecientes de 1 a 3 mg/mL mostró inhibición progresiva sobre los hongos *Alternaria alternata* y *Colletotrichum gloeosporoides*, hasta un 90 y 80 %, respectivamente. También, Xoca-Orozco *et al.* [15] evaluaron el efecto de una solución de quitosano de masa molecular media al 1 % sobre el hongo *Colletotrichum sp.*, y se observó una inhibición de más del 90 %. Con el mismo tipo de quitosano con un 90% de grado de desacetilación y a una concentración de 4 mg/mL, Silva-Castro *et al.* [16] lograron una inhibición del crecimiento micelial del 75.37 % sobre el hongo *Trametes versicolor*. En este sentido, se ha sugerido que el efecto inhibidor del quitosano depende de la masa molecular, el grado de desacetilación, el pH, la concentración y el microorganismo utilizado [17]. Es por ello que resulta importante determinar la concentración que permita el control del patógeno o disminuir la incidencia del mismo. Un mismo patógeno de diferentes cepas puede tener sensibilidad y respuestas diferentes al biocompuesto. Estos estudios ayudan a definir la

concentración del quitosano así como su forma de aplicación.

Análisis morfométrico de las hifas

Las observaciones microscópicas muestran que las diferentes concentraciones del quitosano indujeron cambios morfológicos en las hifas de ambas cepas M-1 (Figura 2) y B-1 (Figura 3). Estas se caracterizaron por deformaciones, aumento del diámetro, así como, una disminución y acortamiento de la longitud de las hifas con respecto a los controles.

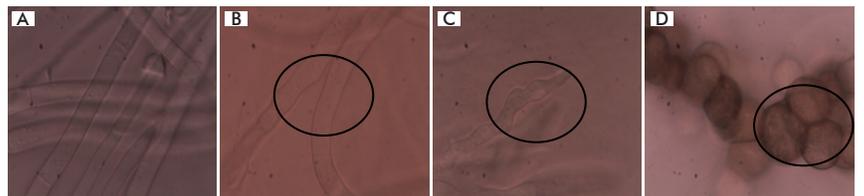


Figura 2. Imágenes de las hifas de la cepa M-1 de *Bipolaris oryzae* aislada en México, observadas mediante la técnica de microscopía electrónica a las 72 h de tratamiento con diferentes concentraciones de quitosano de masa molecular media. A) Control sin quitosano; hifas lisas. B) Quitosano a 1 mg/mL; hifas con pequeñas deformaciones. C) Quitosano a 3 mg/mL; hifas con pequeñas deformaciones. D) Quitosano a 4 mg/mL; hifas deformadas.

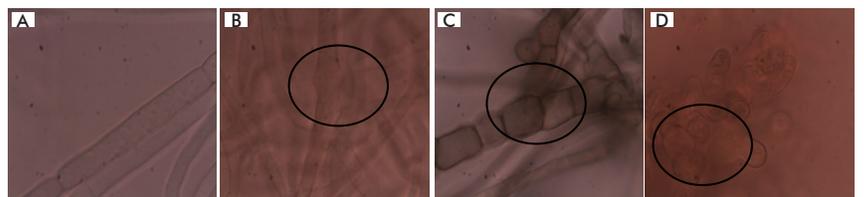


Figura 3. Imágenes de las hifas de la cepa B-1 de *Bipolaris oryzae* aislada en Cuba, observadas mediante la técnica de microscopía electrónica a las 72 h de tratamiento con diferentes concentraciones de quitosano de masa molecular media. A) Control sin quitosano; hifas lisas. B) Quitosano a 1 mg/mL; hifas con pequeña deformaciones. C) Quitosano a 3 mg/mL; hifas ensanchadas y acortadas. D) Quitosano a 4 mg/mL; hifas ensanchadas y acortadas.

El Gaouth *et al.* encontraron resultados similares [18] con un quitosano a una concentración de 15 mg/mL sobre el hongo *Rhizopus stolonifer*. También otros autores [19] observaron cambios morfológicos en las hifas del patógeno *Penicillium expansum* después del tratamiento con quitosano con una masa molecular de 100 kDa, un grado de desacetilación del 93 % y una concentración del 1 %.

En la Tabla 1 se indica que la presencia de quitosano en el medio de cultivo incrementó el diámetro medio de las hifas en ambas cepas, el cual fue proporcional a la concentración de quitosano utilizada en el medio.

Los efectos observados en los tratamientos podrían deberse a alteraciones de la pared celular provocadas por el quitosano. En ambas cepas la mayor concentración utilizada provocó un incremento en el diámetro en las hifas, con una mayor sensibilidad a la presencia del mismo. Esto puede deberse a que el quitosano cargado positivamente interactúa con componentes cargados negativamente de la membrana del hongo, como los fosfolípidos, y causa afectaciones en ellos [20].

Otros autores han observado que un quitosano de masa molecular baja (75 kDa), con 95 % de grado de desacetilación y a una concentración de 0.1 %, generó una mayor afectación en la morfología y ultraestructura del hongo *Aspergillus niger* a las 96 h [21].

Las anomalías morfológicas provocadas por el quitosano sobre el hongo sugieren que la capa de quitosano alrededor de las hifas podría dañar a la membrana celular. De esta forma se dificulta la entrada de nutrientes a la célula, se producen especies reactivas de oxígenos, se activan genes relacionados con la patogenicidad, entre otros.

En la micrografía electrónica de la figura 4A, perteneciente al micelio de la cepa M 1 de *B. oryzae* desarrollado en un medio libre de quitosano, se muestra el aspecto sano de hifas con apariencia lisa. Sin embargo, en la Figura 4B, correspondiente a la cepa tratada con quitosano se observan alteraciones morfológicas en las hifas con superficies corrugadas. Por otro lado, en la Figura 4C corresponde al micelio de la cepa B-1 en medio de control se muestra hifas normales. Otra vez, en la Figura 4D, las hifas en presencia de quitosano se muestran deshidratadas y distorsionadas. En este sentido, Ramos *et al.* [22] observó graves alteraciones morfológicas de las hifas del hongo *Colletotrichum* al ser tratado con un quitosano de grado de desacetilación del 86 % y una masa molecular de 4.08×10^4 g/mol a las concentraciones de 5000 y 7500 ppm. También Oliveira, Soares y Franco [23] apreciaron en las micrografías hinchazón de la pared celular y reducción en el tamaño de las hifas en los hongos *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*, *Penicillium expansum* y *Rhizopus stolonifer* al tratarlos con distintos quitosanos a diferentes concentraciones.

Las imágenes de las cepas M-1 y B-1 (Figura 5) muestran una visible degeneración de sus hifas provocado por el quitosano, lo puede deberse a diferencias en su sensibilidad al quitosano.

En investigaciones anteriores se señaló que el carácter policatalítico del quitosano favorece su interacción con las superficies microbianas, en parti-

Tabla 1. Diámetros promedios de las hifas de las cepas M-1 y B-1 inoculada en medio de cultivo sólido de papa-dextrosa-agar con diferentes concentraciones del quitosano de masa molecular medio (152.6 kDa)*

Quitosano (mg/mL)	Diámetro de las hifas (μm)	
	Cepa M1	Cepa B1
0	37.06 d	44.25 d
1	30.65 c	56.80 c
3	42.53 b	44.84 b
4	65.61 a	60.03 a

* Los valores son la media de cinco repeticiones. Las medias se compararon con la prueba de rangos múltiples de Tukey a un intervalo de confianza del 95 %. Letras diferentes en la misma columna son estadísticamente diferentes entre sí ($p \leq 0.05$).

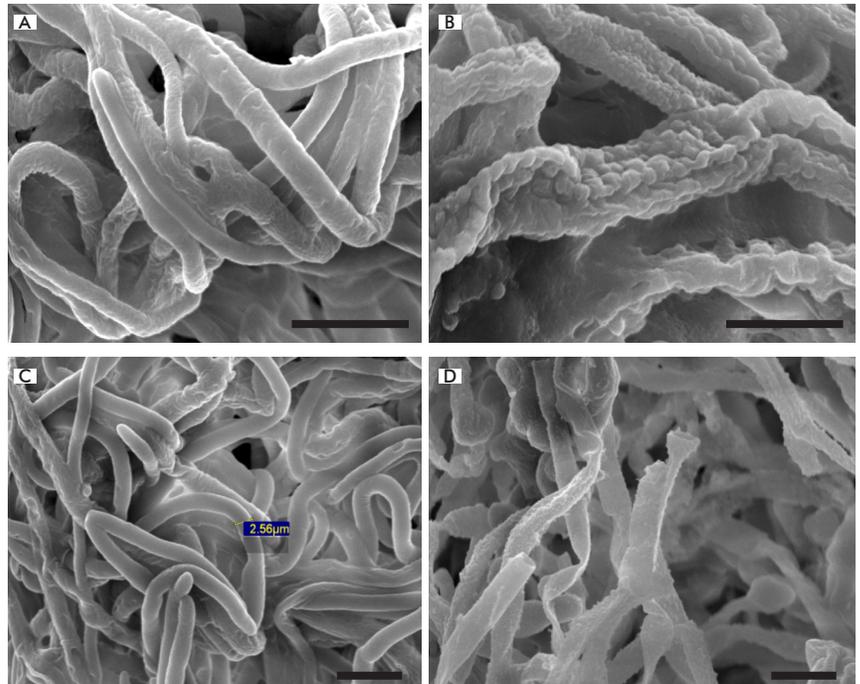


Figura 4. Imágenes observadas mediante la técnica de microscopía electrónica de barrido del micelio de las cepas de *Bipolaris oryzae* a las 72 h de tratadas con quitosano de masa molecular media (masa molecular). A y B) Cepa M-1 aislada en México; magnificación 3500 \times . C y D) Cepa B-1 aislada en Cuba; magnificación 2000 \times . A y C) Control sin quitosano: hifas normales, B) Hongo tratado con 3 mg/mL de quitosano: hifas con superficie onduladas. D) Hongo tratado con 3 mg/mL de quitosano: hifas deshidratadas. La barra representa 10 μm .

cular con la membrana celular de los hongos. Esto podría afectar la integridad del hongo y provocar la liberación de material intracelular. Además, puede influir en el desarrollo de la cepa, con el deterioro de la estructura del hongo, y en el caso particular de la esporulación, las vías y señales podrían activarse de forma diferente y no por la presencia de quitosano.

Según los resultados obtenidos en este trabajo, se puede concluir que las respuestas de los hongos al tratamiento con quitosano a las concentraciones ensayadas son variables y dependen además de las características del quitosano, de su concentración, condiciones experimentales y especies fúngicas empleadas. Este estudio muestra, mediante el análisis morfométrico de hifas y microscopía electrónica de

20. Rabea EI, Badawy MEI, Rogge TM, Stevens CV, Höfte M, Steurbaut W, et al. Insecticidal and fungicidal activity of new synthesized chitosan derivatives. *Pest Manage Sci.* 2005;61:951-60.

21. Xiao Fang L, Xiao Quiang F, Sheng Y, Ting Pu W, Zhong Xin S. Effects of molecular weight and concentration of chitosan on antifungal activity against *Aspergillus Niger*. *Iran Polym J.* 2008;17(11):843-52.

22. Ramos Berger LR, Montenegro Stamford TC, Rimá de Oliveira KA, Pereira Pessoa AD, Barbosa de Lima MA, Estevez Pintado MM, et al. Chitosan produced from Mucorales fungi using agroindustrial by-products and its efficacy to inhibit *Colletotrichum* species. *Int J Biol Macromol.* 2018;108:635-41.

barrido, los primeros resultados de los daños directos producidos por los quitosanos a dos cepas del hongo fitopatógeno *B. oryzae* (aisladas en México y Cuba) que afecta el cultivo del arroz. Se observó la mayor afectación en la cepa cubana de *B. oryzae*. No obstante, estos resultados son preliminares y basados en pruebas *in vitro*. Por lo tanto, son necesarios estudios posteriores con vistas a dilucidar el mecanismo antifúngico del quitosano y para determinar su potencial de aplicación como fungicida. También se requerirá más estudios para determinar los efectos del quitosano en el control de la enfermedad causada por el hongo en las plantas y en condiciones de invernadero y de campo.

Recibido en diciembre de 2020.

Aprobado en Febrero de 2021.

Agradecimientos

Los autores agradecen el apoyo financiero brindado por el Convenio de Cooperación Bilateral de la SEP (México)/MES (Cuba), al igual que del Centro de Desarrollo de Productos Bióticos (CEPROBI) perteneciente al Instituto Politécnico Nacional (IPN) y el Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentación (DIPA) de la Universidad de Sonora, ambos en México.

Declaración de conflictos de interés

Los autores declaran la ausencia de conflictos de interés.

23. Oliveira Junior EN, Soares de Melo I, Teixeira Franco T. Changes in hyphal morphology due to chitosan treatment in some fungal species. *Braz Arch Biol Technol.* 2012;55(5):637-46.