

Características del suelo e identificación de hongos asociados a la rizosfera de *Pinus arizonica* Engelm

Soil characteristics and identification of fungi associated with the rhizosphere of Pinus arizonica Engelm

Ángel Rosario Ceballos-Chávez*¹, Javier Alfonso Garza-Hernández³,
Diana Miriam Mc Caughey-Espinoza^{4*}, Leidy Erisleida Chávez García²,
Martín Merino Gutiérrez-Pérez²

RESUMEN

En México el pino blanco (*Pinus arizonica* Engelm) tiene gran importancia ecológica, económica y social, ya que es utilizado para elaborar maderas aserradas, producción de celulosa y cosecha de germoplasma. Los hongos fitopatógenos más comunes que se encuentran en el suelo son *Pythium* spp., *Fusarium* spp. y *Rhizoctonia* spp., los cuales atacan desde la raíz. Es por ello que para la protección de plántulas en vivero se propone el uso de antagonistas. El objetivo de este trabajo fue realizar una caracterización fisicoquímica de suelos donde predomina *Pinus arizonica*, así como identificar géneros fúngicos antagonistas y fitopatógenos presentes en la rizosfera de esta especie de pino en el municipio de Guachochi, Chihuahua, México. Se seleccionaron 12 sitios con suelos asociados a la rizosfera de pino, tomando muestras de 0-15 y 15-30 cm de profundidad. Se analizó el color, la textura, materia orgánica, conductividad eléctrica y pH. Para la obtención de microorganismos se hicieron diluciones seriadas desde la solución madre hasta 10⁻⁴ mL, purificándolos a través de corte de hifa, para la identificación morfológica y morfométrica mediante microscopía con software ZEN BLU. Además se observó el color de la colonia de frente, reverso y estructuras de resistencia evaluando 10 aislados de fitopatógenos y dos antagonistas con 50 repeticiones por estructura en cada uno. Todas las localidades estudiadas tuvieron presencia de hongos fitopatógenos y antagonistas (*Fusarium* sp. (2), *Rhizoctonia* sp. (2), *Penicillium* sp. (2), *Aspergillus* sp. (2), *Collectotrichum* sp. (3) y *Trichoderma* sp. (2)) ubicados en suelos muy fuertemente salinos. Se recomienda continuar con la identificación molecular de especies de los géneros encontrados.

Palabras clave: antagonista, hongos fitopatógenos, géneros, muestras, parámetros de suelo.

ABSTRACT

In Mexico, white pine (*Pinus arizonica* Engelm.) has major ecological, economic, and social importance, since it is used to produce sawn timber, pulp production, and seed harvesting. The most common phytopathogenic fungi found in the soil are: *Pythium* spp., *Fusarium* spp. and *Rhizoctonia* spp. that attack from the root; because of this, the use of antagonists is proposed to protect seedlings in nurseries. The aim of this work was to carry out a physicochemical characterization of soils dominated by *Pinus arizonica*, as well as to identify antagonistic and phytopathogenic fungal genera present in the rhizosphere of this pine species in the municipality of Guachochi, Chihuahua, Mexico. Twelve soil sites associated with the pine rhizosphere were sampled at 0-15 and 15-30 cm deep, analyzing color, texture, organic matter, electrical conductivity and pH. To obtain microorganisms, serial dilutions were made from the mother solution up to 10⁻⁴ mL, purifying them through hyphal cutting, for morphological and morphometric identification by microscopy with ZEN BLU software. Furthermore, the color of the colony's front, back side, and resistance structures was observed, evaluating 10 isolates of phytopathogens and two antagonists with 50 replicates per structure in each one. All the studied locations had the presence of phytopathogenic and antagonistic fungi (*Fusarium* sp. (2), *Rhizoctonia* spp. (2), *Penicillium* sp. (2), *Aspergillus* sp. (2), *Collectotrichum* sp. (3) and *Trichoderma* sp. (2)) all located in very strongly saline soils. It is recommended to continue with the molecular identification of species of the genera found.

Keywords: antagonist, phytopathogenic fungi, genera, samples, soil parameters.

¹ Departamento de Agricultura Sustentable y Protegida, Universidad Tecnológica de la Babicora. Namiquipa, Chihuahua, México.

² Departamento de Tecnología Ambiental, Universidad Tecnológica de la Tarahumara, Guachochi, Chihuahua, México.

³ Instituto de Ciencias Biomédicas, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Chihuahua, México.

⁴ Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Sonora, México.

* Autor para correspondencia; aceballos@utb.edu.mx , diana.mccaughey@unison.mx

Introducción

En el suelo existe una abundante microbiota que incluye organismos patógenos y mutualistas, cuyos efectos negativos o positivos influyen en la composición de especies de plantas (Policelli *et al.*, 2019). Los suelos forestales de Chihuahua son de profundidad somera a media y sostienen bosques diversos como bosques de encino, bosque tropical caducifolio y subcaducifolio, pastizales, matorral xerófito, humedales y bosque de coníferas donde se producen diferentes especies de pino (Royo *et al.*, 2013).

En el sur de Chihuahua las especies de pino dominantes son *Pinus leiophylla* Schltl. et Cham., *P. leiophylla* var. *chihuahuana* (Engelm.) Shaw, *P. arizonica* Engelm., *P. engelmannii* Carrière, entre otras. A mayores altitudes se localizan comunidades de *Abies religiosa* (Kunth) Schltl. et Cham., *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco y otras coníferas (Royo *et al.*, 2013). El pino blanco (*Pinus arizonica*) es una especie de importancia económica y ecológica, que ha mantenido un potencial maderable y es catalogada como especie clave en los ecosistemas forestales de la Sierra Madre Occidental (Morales *et al.*, 2021). Su distribución abarca el 80% de la superficie regional arbolada y genera un volumen maderable anual de 160.000 m³, cuyo principal destino es la industria para la obtención de productos de alto valor comercial (Pompa *et al.*, 2009).

La presencia de hongos es una limitante en las etapas iniciales de crecimiento de los pinos. El complejo de hongos y bacterias conocido como *damping-off* causa la enfermedad denominada mal del talluelo, tizón foliar y bacteriosis (Vivas y Flores, 2018). En viveros y almácigos del sector forestal estadounidense uno de los problemas que se deben atender es el marchitamiento y pudrición de raíz causado por *Fusarium circinatum* y *F. oxysporum* (García, 2018). En cuanto a estudios de enfermedades en plantaciones comerciales en México, se ha detectado la presencia de roya *Cronartium conigenum* Hedgc. & N.R. Hunt en pinos de la Sierra Madre Oriental, Sierra Madre Occidental y Sureste, así como el patógeno *Chrysosporthe cubensis* causante del cancro en plantaciones de eucalipto en Chiapas y Oaxaca, que daña hasta 70% de la producción de plantaciones comerciales. Además se ha identificado el complejo de microorganismos *Fusarium* y *Rhizoctonia* que participan en el ahogamiento

(*damping-off*) de las plántulas, enfermedad que afecta la producción de especies forestales en viveros (Sánchez y Reséndiz, 2021).

Por otro lado, la existencia de hongos antagonicos como *Trichoderma* spp. ha producido mejoramientos en el crecimiento y vigor de las plantas, induciendo resistencia sistémica (Nawaz *et al.*, 2018). También ha incidido en la activación de diversos mecanismos, compitiendo por espacio y nutrientes, modificando las condiciones ambientales y produciendo antibióticos directamente a través de micoparasitismo (Zhang *et al.*, 2020). El objetivo de esta investigación fue realizar una caracterización fisicoquímica de suelos donde predomina *Pinus arizonica*, así como identificar los géneros fúngicos antagonicos y fitopatógenos presentes en la rizosfera de pino en el municipio de Guachochi, Chihuahua, México.

Materiales y métodos

El estudio se llevó a cabo en Guachochi, Chihuahua, México. Las actividades de laboratorio se realizaron en la Universidad Tecnológica de la Tarahumara ubicada en Guachochi, mientras que el muestreo de suelo y partes vegetales se hizo en distintos puntos en los bosques naturales de *Pinus arizonica* en el área de influencia de dicha institución.

Colecta de muestras de suelos

Para la recolección del material vegetal se tomó en cuenta la dominancia del pino sobre otras especies presentes en bosque natural. Por lo tanto, se realizó en 12 comunidades pertenecientes al municipio de Guachochi, las cuales fueron georreferenciadas mediante el Sistema de Posicionamiento Global (GPS) (marca: GARMIN eTrex 30, modelo: IC-1792A-01842) (Tabla 1, Figura 1).

Guachochi se localiza en la Sierra Madre Occidental, entre los paralelos 26° 36' y 27° 42' de latitud norte y los meridianos 106° 49' y 107° 51' de longitud oeste, con altitud entre 400 y 2 800 m. Tiene bosque (83,57%), pastizal (6,04%) y bosque de pino (2,03%), y registra temperaturas extremas de -18,5 a 35 °C (Alvarado *et al.*, 2019).

Obtención de muestras de suelo

Para obtener cada una de las muestras de estudio se utilizó una barrena y bolsas plásticas Ziploc® para colocarlas. Se extrajeron seis muestras

Tabla 1. Ubicación de puntos de muestreo donde se recolectó el material vegetativo de la rizosfera de pino blanco pertenecientes al municipio de Guachochi, Chihuahua.

Número de aislado	Descripción de aislados	Lugar	Tipo de muestra	Localización geográfica
1	UTT-G-A1-MP2-V	Viveros de (UTT) Guachochi	Superficial	26°49'24.0"N 107°05'37.4"W 2383 msnm
2	CP-G-A23-MP2	Ciénega Prieta, Guachochi	Profundidad de 0-15 cm	26°44'19.6"N 107°19'18.3"W
3	R-G-A30-MP8	Rocheachi, Guachochi	Superficial	27°07'38.6"N 107°10'07.3"W
4	AA-G-A28-MS5	Agua Azul, Guachochi	Profundidad 15-30 cm	26°51'07.2"N 106°56'36.6"W
5	RO-G-A32-MP2	Rosanachi, Guachochi	Superficial	26°52'03.8"N 106°58'01.8"W
6	EY-G-A18-MS7-V	Ejido Yoquivo, Guachochi	Superficial	26°44'11.5"N 107°14'35.0"W
7	ER-G-A12-MS5-P	El Rosado, Guachochi	Profundidad de 0-15	26°52'03.4"N 107°28'53.1"W
8	EO-G-A18-MS7-V	El Ojito, Guachochi	Profundidad de 15-30 cm	26°50'24.0"N 107°16'47.1"W
9	RB-G-A10-MS1-2	Rancho Baldenegro, Guachochi	Profundidad de 15-30	26°50'14.5"N 107°14'24.3"W
10	CG-G-A31-MS5	Cumbre de Guerachi, Guachochi	Profundidad de 0-15	26°34'33.1"N 107°17'19.5"W
11	AB-G-A9-MS3-M	Agua blanca, Guachochi	Superficial	26°47'34.2"N 107°15'08.8"W
12	SM-G-A1-MP5-V	San Miguel, Guachochi	Superficial	26°47'37.3"N 107°10'50.6"W

UTT = Universidad Tecnológica de la Tarahumara, G = Guachochi, A = Aislado, MP = Muestra Profunda, MS = Muestra Superficial, V = Vivero, CA = Madroño CP = Ciénega Prieta, R = Rocheachi, AA = Agua Azul, RO = Rosanachi, EY = Ejido Yoquivo, ER = El Rosado, EO = El Ojito, RB = Rancho Baldenegro, CGV Cumbre de Guerachi, AB = Agua Blanca, SM = San Miguel.

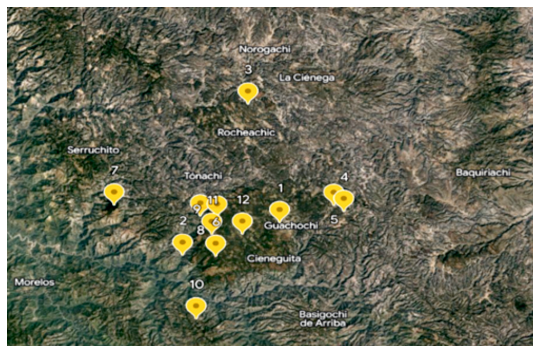


Figura 1. Mapa de Guachochi, Chihuahua, que muestra los sitios de recolección de material vegetativo de los aislados de *Trichoderma* spp. y fitopatógenos de la rizosfera de *Pinus arizonica*.

superficiales tomadas de la rizosfera de pino (sin excavar con la barrena), tres de 0-15 cm de profundidad y tres de 15-30 cm, para un total de 12, una por cada sitio, a una distancia de 25 cm² del árbol.

Análisis de suelos

Para cada una de las muestras se utilizó un tamiz de 2 mm, a fin de eliminar impurezas, rocas

y restos de materia orgánica (RECNAT, 2002). Se determinó el color de suelo de cada muestra mediante la tabla Munsell, comparando cada uno de los colores con el suelo y su valor (Díaz, 2020). Otros parámetros medidos fueron el pH (Tabla 2) y la conductividad eléctrica (Tabla 3), para lo cual se pesaron 10 g de suelo y se disolvieron en 40 mL de agua esterilizada en un vaso de precipitado de 100 mL. Se agitó durante 10 minutos, se dejó reposar por 15 minutos y se tomaron las lecturas correspondientes (RECNAT, 2002).

En el análisis de la textura de suelo se consideró el método de Boyoucos (Norambuena *et al.*, 2002).

Tabla 2. Escala de pH del suelo aplicada a muestras de suelo recolectadas en Guachochi, Chihuahua.

Clasificación	pH
Fuertemente ácido	< 5,0
Moderadamente ácido	5,1 - 6,5
Neutro	6,6 - 7,3
Medianamente alcalino	7,4 - 8,5
Fuertemente alcalino	> 8,5

Tabla 3. Interpretación de conductividad eléctrica realizada a muestras de suelos del municipio de Guachochi, Chihuahua.

CE dS m ⁻¹	Efectos
< 1,0	Efectos despreciables de la salinidad
1,1 - 2,0	Muy ligeramente salino
2,1 - 4,0	Moderadamente salino
4,1 - 8,0	Suelo salino
8,1 - 16,0	Fuertemente salino
> 16,0	Muy fuertemente salino

CE = Conductividad eléctrica, dS m⁻¹ = decisiemens por metro.

Se pesaron 50 g de suelo y se introdujeron en un vaso de precipitado de 200 mL, añadiéndole 100 mL de agua destilada y 40 mL de hexametáfosfato de sodio. Se colocó en una parrilla de agitación durante 10 minutos, se vertió en una probeta de 1.000 mL, se introdujo el hidrómetro y se aforó a 1.000 mL. Luego se tomó la primera lectura y se dejó reposar durante 120 minutos para realizar la segunda lectura. Por último se hicieron los cálculos utilizando el triángulo de texturas (Arévalo *et al.*, 2022). Para ello se usó la tabla de interpretación de resultados de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2002 (SEMARNAT, 2002) para la clasificación de suelos (Tabla 4).

Para la determinación de materia orgánica se colocó 1 g de suelo en un matraz de 250 mL, se agregaron 5 mL de permanganato de potasio y se añadieron 10 mL de ácido sulfúrico. Se agitó aproximadamente durante 1 minuto con movimientos rotativos, se dejó reposar por 30 minutos, se agregaron 100 mL de agua destilada y se filtró toda la muestra. Posteriormente se añadió 1 mL de difenilamina y, por último, se procedió a la titulación con sulfato ferroso. La titulación termina cuando cambia de color morado a verde (SEMARNAT, 2002) (Tabla 5).

Tabla 4. Clasificación de suelos aplicados a un muestreo de suelos donde crece *Pinus arizonica* en Guachochi, Chihuahua.

Clave	Clase de textura
R	Arcillosa
RI	Arcillosa arenosa
Ra	Arcillosa arenosa
Cr	Franco arcillosa
CrI	Franco arcillosa limosa
Cra	Franco arcillosa arenosa
C	Franco
Cl	Franco limosa
L	Limosa
Ca	Franco arenosa
Ac	Areno francosa
A	Arenosa

Fuente: NOM-021-SEMARNAT, 2002.

Inoculación de microorganismos

Se pesaron 10 g de suelo por muestra, se colocó en una probeta de 100 mL y se aforó con agua esterilizada. De la solución madre se extrajo 1 mL y se puso en otra probeta de 10 mL. Posteriormente se tomó una asada (asa bacteriológica) colocándola en una caja Petri que contenía medio nutritivo Papa Dextrosa Agar (PDA) por duplicado y se incubaron las muestras durante cuatro días a 25 °C ± 2 (Schapovaloff, *et al.*, 2015). Los cultivos se monitorearon diariamente hasta observar el crecimiento típico de los microorganismos con colonias con alta tasa de crecimiento.

Purificación monospórica de hongos

Los hongos aislados se purificaron mediante la observación en un microscopio (marca:Optika B-350, modelo:B-352PL) y con un bisturí se cortó la hifa más alejada del centro para evitar contaminación, colocándolos en medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA), de acuerdo con Domínguez *et al.* (2013).

Tabla 5. Límites máximos permisibles de materia orgánica en el suelo.

Clase	Materia orgánica (%) suelos volcánicos	Suelos no volcánicos
Muy bajo	≤ 4,0	≤ 0,5
Bajo	4,1-6,0	0,6-1,5
Medio	6,1-10,9	1,6-3,5
Alto	11,0-16,0	3,6-6,0
Muy alto	≥ 16,1	≥ 6,0

Fuente: NOM-021-RECNAT, 2000.

Identificación morfológica y morfométrica de hongos

La identificación de los hongos antagonistas, así como de fitopatógenos, se basó en la caracterización de los rasgos morfológicos macroscópicos y microscópicos considerando los criterios de Armando *et al.* (2017). Los aislados de hongos fueron crecidos en medios Papa Dextrosa Agar, Agua Agar y Agar Hoja Clavel. Para ello se utilizaron discos de micelio de un 1 cm de diámetro de los cultivos monospóricos incubados a una temperatura de 27 ± 2 °C, con 14 horas de oscuridad y 10 horas de luz (Summerell y Leslie, 2011) durante 9 días de crecimiento.

Las características macroscópicas evaluadas fueron presencia de micelio, textura de la colonia, color de la colonia de frente, reverso, aplanado sobre la caja Petri. El material fúngico se montó en glicerina aplicando la técnica de aplastamiento o “squash” (Lugo *et al.*, 2018). Las muestras se observaron bajo un microscopio óptico compuesto Imager M2 utilizando el software ZEN BLUE, en aumentos de 100X y 400X. Se registraron 50 mediciones de la forma, el largo y ancho de conidios, el diámetro de las hifas vegetativas, así como el largo y ancho del micelio, diámetro y forma de las esporas (Guigón *et al.*, 2010).

Tasa de crecimiento micelial diario

Con base en la técnica utilizada por Guigón *et al.* (2010), se determinó la tasa de crecimiento

(TC) en centímetros (cm), con discos de PDA de 6 mm, inoculados en el centro de cada caja Petri, incubadas a una temperatura de 25 ± 2 °C, con 14 horas de oscuridad y 10 horas de luz hasta que el micelio de los hongos cubrió completamente la superficie. Se realizaron cuatro repeticiones por cepa. La tasa de crecimiento (TC) fue evaluada mediante la fórmula $TC = Cf - Ci / Ti$: Donde TC = Tasa de crecimiento, Cf = Crecimiento final, Ci = Crecimiento inicial, Ti = Tiempo de incubación.

Análisis estadístico

Para hacer el análisis de la tasa de crecimiento de los hongos presentes en el suelo se usó un diseño experimental completamente al azar, con los sitios evaluados y el medio utilizado (PDA) como factores. Para el análisis de varianza y la comparación de medias se usó la prueba de intervalos múltiples Tukey-Kramer, con un nivel de significancia de 0,05. Estos análisis se realizaron con el paquete estadístico JMP, versión 9.0.1.

Resultados y discusión

Propiedades de los suelos

Los suelos de los 12 sitios muestreados presentaron características físicas y químicas diferentes (Tabla 6). En cuanto al color, se encuentran entre gris, gris oscuro y marrón oscuro (Figura 2), lo que determina un suelo con gran

Tabla 6. Valores de los parámetros fisicoquímicos del suelo de los sitios de muestreo de hongos asociados a la planta de pino blanco en el municipio de Guachochi.

Lugar	Color de suelo	M.O (%)	Textura	Conductividad eléctrica (S/cm)	pH
Yoquivo	Gris oscuro	5,9	Ac	57,2	5,87
Rosanachi	Gris	6,0	Ac	44,7	6,09
Agua Azul	Gris	5,82	Ac	94,2	5,22
El Ojito	Gris oscuro	0,8	Ca	65,5	5,73
Rocheachi	Gris	4,91	Ca	39,9	6,17
Ciénega Prieta	Marrón oscuro	1,8	Ca	40	6,17
Cumbre de Guerachi	Marrón muy oscuro	2,75	Ca	36,7	6,23
Rancho Baldenegro	Marrón oscuro	2,22	Ca	41	6,15
El Rosado	Gris	5,51	Ca	33	6,29
UTT	Marrón oscuro	5,60	Ca	6,3	6,76
San Miguel	Marrón oscuro	3,49	Ca	41,4	6,15
Agua Blanca	Marrón oscuro	4,85	Ca	54,4	5,92

Porcentaje (%), franco arenoso (Ca), areno francoso (Ac), milisiemens por centímetro (S/cm).



Figura 2. Color y textura de suelos colectados en los diferentes puntos de muestreo en Guachochi, Chihuahua.

fertilidad. La materia orgánica (MO) fue de 6,7% para Yoquivo y El Ojito, 22,24% en Rosanachi, Agua Azul, Rocheachi y El Rosado, 17,96% Ciénega Prieta, Rancho Baldenegro, UTT, San Miguel y Agua Blanca y 2,75% en Cumbre de Guerachi. Los valores registrados son indicativos de la presencia de una gran cantidad de microorganismos en la mayoría de los sitios. Con respecto a la textura, de acuerdo a la clasificación propuesta por la NOM-021-RECNAT-2002, en la mayoría de los lugares los suelos fueron franco arenosos (Ca) y muy pocos arena francos (Ac). Los valores de pH oscilaron entre 5,22 y 6,76, y se encontró que dos de los sitios tienen un pH neutro y el resto moderadamente ácido, lo cual indica que pertenecen a suelos salinos.

Respecto a la conductividad eléctrica, todos los sitios rebasaron los límites máximos permisibles, de acuerdo con la norma mencionada, por lo que se determina que los suelos son altamente salinos.

Identificación morfológica y morfométrica de hongos fitopatógenos y antagonistas

Se identificaron 12 cepas de hongos aisladas de los 12 sitios muestreados en el municipio de Guachochi, las cuales corresponden a cinco géneros de hongos fitopatógenos: *Collectotrichum* sp., *Fusarium* sp., *Rhizotonia* sp., *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp. y 1 antagonista: *Trichoderma* spp. (Tabla 7). Estos hongos han sido descritos como saprofitos o patógenos de plantas de pino y el género *Fusarium* sp. es el que se presenta con mayor frecuencia en la rizosfera de pino, según Acosta *et al.* (2009).

Se obtuvieron dos cepas con características morfológicas y culturales tipológicas del antagonista perteneciente al género *Trichoderma* sp. (UTT-G-A1-MP2-V y CP-G-A23-MP2). Al principio,

las cepas mostraron un micelio blanco de textura algodonosa, de acuerdo a la morfología reportada por Savín *et al.* (2021). Después de cuatro días de incubación el micelio alcanzó el borde del agar cubriendo completamente la caja Petri y cambiando de color verde oscuro (Figura 3) a crema con tonalidad verdosa con halo céntrico al reverso de la caja Petri. Los conidios mostraron forma ovoide a elipsoide. En su estado vegetativo presentaron un micelio con septos simples, conidióforos hialinos ramificados con una longitud de 18,35 μm y 6,21 μm de ancho, esporas verdes, circulares, con 2,3 μm de diámetro en promedio. En ambas colonias la morfología fue similar.

De los géneros fitopatógenos analizados se identificaron tres cepas de *Collectotrichum* spp. (R-G-A30-MP, AA-G-A28-MS5 y RO-G-A32-MP2), todas con micelio blanco de apariencia algodonosa,

Tabla 7. Clasificación de cepas de hongos identificadas por género y sitio de aislamiento del municipio de Guachochi, Chihuahua.

Cepa	Género	Sitio
UTT-G-A1-MP2-V	<i>Trichoderma</i> sp.	Viveros de (UTT)
CP-G-A23-MP2		Ciénega Prieta
R-G-A30-MP8	<i>Collectotrichum</i> sp.	Rocheachi
AA-G-A28-MS5		Agua Azul
RO-G-A32-MP2		Rosanachi
EY-G-A18-MS7-V	<i>Fusarium</i> sp.	Ejido Yoquivo
ER-G-A12-MS5-P		El Rosado
EO-G-A18-MS7-V	<i>Rhizotonia</i> sp.	El Ojito
RB-G-A10-MS1-2		Rancho Baldenegro
CG-G-A31-MS5	<i>Penicillium</i> sp.	Cumbre de
AB-G-A9-MS3-M		Guerachi
		Agua Blanca
SM-G-A1-MP5-V	<i>Aspergillus</i> sp.	San Miguel

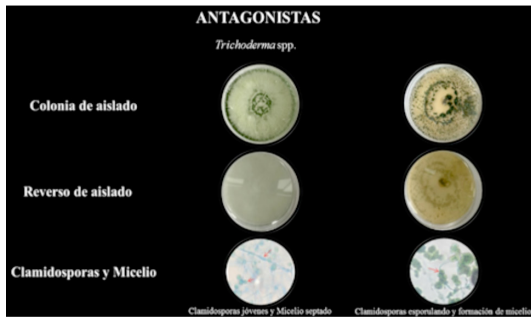


Figura 3. Cepas de *Trichoderma* sp. aisladas de suelos salinos del municipio de Guachochi, Chihuahua, México.

abundante producción de acérvulos de color naranja en forma de gota, distribuidos de manera irregular o en anillos concéntricos sobre la colonia en seis días de crecimiento (Figura 4), coincidiendo con las características morfológicas de *C. simmondsii* y *C. truncatum*, según Ruiz *et al.* (2022). No obstante, es importante realizar la identificación a nivel molecular de las tres cepas encontradas en el municipio de Guachochi, Chihuahua, para determinar si se trata de una o ambas especies presentes o bien especies no descritas.

De las características identificadas del género *Fusarium* sp. se observaron colonias y textura de apariencia algodonosa, micelio con coloraciones blanquecinas y rosadas en los primeros estados de desarrollo (Figura 4). Después de siete días de crecimiento, se tornó de color marrón en las dos cepas obtenidas (EY-G-A18-MS7-V y ER-G-A12-MS5-P). Estas características son similares a las reportadas en estudios hechos en Colombia

donde se registraron cepas de *Fusarium* asociadas al cultivo de cebolla, identificando especies como *F. oxysporum* y *F. solani* (Betancourth *et al.*, 2020). En el medio de crecimiento Agar Hojas de Clavel (CLA) se dio una producción abundante de conidios y monofiálides cortas con una longitud de 3,69 μm y ancho 4,24 μm .

La colonia de *Rhizoctonia* sp. presenta color blanquecino cuando el micelio es joven, a los cuatro días de crecimiento (Figura 4) llenando una caja de 90 mm de diámetro. Después de los 18 días el micelio se tornó marrón oscuro en ambas cepas (EO-G-A18-MS7-V y RB-G-A10-MS1-I). Para la identificación de estructuras de resistencia, se observó que el micelio es incoloro cuando es joven, pero se vuelve amarillento o marrón claro con el tiempo. Está formado por hifas largas y produce ramas que crecen a la derecha, es muy ancho y septado de color hialino con bordes de color grisáceo en forma de T o de ángulo de 90 grados. Tiene en promedio 54,25 de largo y 12,13 μm de ancho (Figura 4). Estas características presentan gran similitud con las reportadas en cepas de *Rhizoctonia* sp. obtenidas en aislamientos de yerba mate en la región de Argentina, los cuales muestran ramificaciones cerca del tabique distal de las células hifales en ángulo recto, en hifas viejas, con producción de células moniloides. El ángulo de ramificación característico del micelio (Dummel *et al.*, 2022).

Se obtuvieron dos cepas del género *Penicillium* sp (CG-G-A31-MS5 y AAA-G-A9-MS3-CA). Microscópicamente el micelio es septado con

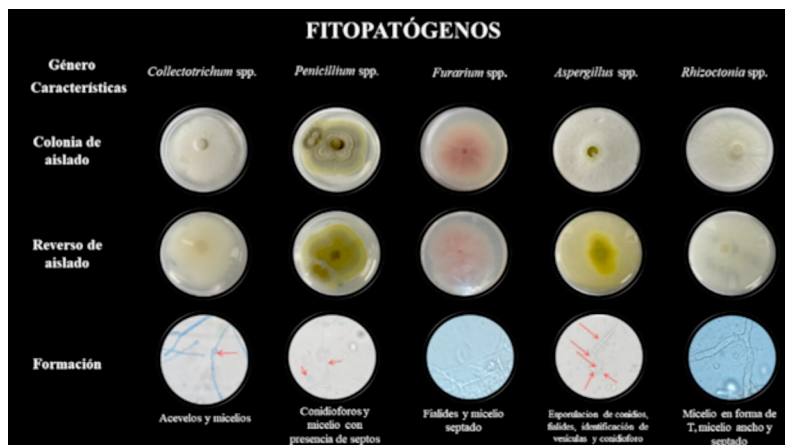


Figura 4. Cepas de fitopatógenos de *Collectotrichum* sp., *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., aisladas de suelos salinos de clima mesotermal.

formación de méatalas compactas, así como la esporulación de conidios, con una coloración de colonia amarillo-grisácea y aspecto aterciopelado, y el reverso de color amarillento a los tres días de crecimiento, con un diámetro de conidios de 2,21 μm , con medias de 1,82 μm de ancho y 2,94 μm de largo en el consorcio hifal (Figura 4). Estas observaciones coinciden con las realizadas por Rodarte *et al.* (2020), quienes identificaron al género *Penicillium*, en medios de cultivo Papa Dextrosa Agar y Sabouraud. Las colonias presentaron una coloración verde opaco con borde blanco y en la superficie se observaron exudados de color amarillo y surcos transversales. El reverso de la colonia mostró una coloración amarilla en el centro y color blanco y aspecto aterciopelado.

Para el género *Aspergillus* sp. se obtuvo una cepa (SM-G-A1-MP5-V) que presentó una colonia con micelio de color blanquecino cuando es joven al llenar la caja Petri, y después de cuatro días de crecimiento se tornó de color verde amarillento al reverso de la caja Petri. A los siete días de crecimiento se logró identificar la esporulación de conidios, formación de fiálides, identificación de vesículas y conidióforos de diferentes medidas morfométricas desde los 0,5 μm hasta 2,75 μm (Figura 4). Estos aislamientos muestran similitud con los obtenidos del altiplano central mexicano, donde se identificaron 283 aislados fúngicos, de los cuales 31,1% corresponden al género *Aspergillus* aislados de muestras del estiércol de vacas lecheras y suelos agrícolas (Rangel *et al.*, 2020).

Tasa de crecimiento micelial diario

El análisis estadístico con respecto al tiempo de incubación promedio del inicio del desarrollo de los fitopatógenos y antagonistas arrojó diferencias

significativas con una R^2 de 0,0770. Se observó que a los tres días se desarrolló el género *Trichoderma* sp. (TC1) y fitopatógeno *Rhizoctonia* sp. (RHZ1), seguido de *Penicillium* sp. (PEN1), *Aspergillus* sp. (ASP1), *Collectotrichum* sp. (COLL1) y *Fusarium* sp. (FUS1). Los tres primeros comenzaron su desarrollo al segundo día con 12 horas y el último lo inició al tercer día y 16 horas (Tabla 8).

Al evaluar el crecimiento de las cepas también se encontraron diferencias significativas con una R^2 de 0,988. *Trichoderma* sp. presentó el mayor crecimiento y fue la que inició más pronto su desarrollo en la siembra en cajas Petri en el medio PDA con un promedio de 3,60 cm, seguida de *Rhizoctonia* sp. con 3,29 cm y posteriormente el resto de los géneros de fitopatógenos con un crecimiento paulatino promedio de 2,04 a 2,89 cm (Tabla 8). Para el día 7 el género *Fusarium* mostró su crecimiento mayor al invadir toda la caja Petri.

Cabe mencionar que de acuerdo a los resultados, los fitopatógenos en estudio no muestran el mismo tiempo de inicio de su desarrollo y, por lo tanto, el crecimiento es diferente. Es decir, la velocidad de crecimiento no es igual.

Conclusiones

De la investigación se desprende que los suelos donde crece *Pinus arizonica* en Guachochi en su mayoría son de poca calidad en cuanto a materia orgánica, aunque con buena fertilidad y fuertemente salinos. Con respecto a los hongos identificados, el estudio indica que las raíces de *Pinus arizonica* están constantemente expuestas a varios géneros de fitopatógenos, pero la mayor rapidez de crecimiento de *Trichoderma* spp, al parecer, limita la acción de estos sobre el árbol. Se recomienda continuar con la identificación molecular de especies de los

Tabla 8. Tiempo y crecimiento micelial en la prueba de aislados antagonísticos y fitopatógenos.

Acrónimo	Género	\pm	Tiempo (Días)
ASP1	<i>Aspergillus</i> sp.	2,75 \pm 0,01b	4,00 \pm 0,00c
COLL1	<i>Collectotrichum</i> sp.	2,65 \pm 0,33c	6,00 \pm 0,33b
FUS1	<i>Fusarium</i> sp.	2,04 \pm 0,26d	7,00 \pm 0,00a
PEN1	<i>Penicillium</i> sp.	2,89 \pm 0,09b	3,00 \pm 0,00d
RHZ1	<i>Rhizoctonia</i> sp.	3,29 \pm 0,21a	3,00 \pm 0,00c
TC1	<i>Trichoderma</i> sp.	3,60 \pm 0,46a	3,00 \pm 0,00c

*a,b,c literales diferentes, entre renglones indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$)

géneros encontrados, así como realizar pruebas de patogenicidad en material vegetativo.

Con relación a las propiedades fisicoquímicas, se han determinado impactos negativos sobre la calidad de los suelos, ya que 5 de los 12 sitios muestreados se encuentran muy por abajo del límite del porcentaje de materia orgánica de acuerdo a la NOM-021-RECNAT, 2002 y con alto grado de salinidad y riesgo de erosión. Por lo tanto, se recomienda tomar medidas sustentables de

conservación de suelos como la restauración integral y la compensación ambiental. Con estas acciones se recuperará la calidad del suelo y aumentará la densidad arbórea de pino en la región silvícola de Guachochi, Chihuahua, México.

Agradecimientos

A Zayra Enriqueta Moreno Lazos, por su valiosa ayuda para la realización de este estudio.

Literatura citada

- Acosta, M.; Alvarado, C.; Cruz, M.; Leiva, M.; Sánchez, C.; Roque, B.; Quiala, E.; Chávez, M.; Jiménez, F.; Barbón, R.; Collado, R.; Rodríguez, M.; De Feria, M.; Borroto, I.; Pérez, M. 2009. Microbiota de plantas donadoras y hongos filamentosos contaminantes del establecimiento in vitro de cinco especies forestales. *Revista de Biotecnología Vegetal*, 9(2): 99-103.
- Alvarado, R.; Pompa, J.; Zúñiga, V.; Jiménez, C. 2019. Análisis espacial de las variables fenotípicas en un huerto clonal de *Pinus arizonica* Engelm. en el norte de México. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 25(2): 185-199.
- Arévalo, E.; Sánchez, A.; Guillén, M. 2022. Estudio del contenido materia orgánica por dos métodos analíticos en suelos de Honduras. *Revista de Ciencias Ambientales*, 57(1): 1-13.
- Armando, G.; Marfetán, A.; Folgarait, J. 2017. *Trichoderma* species associated with acromyrmexant nests from Argentina and first report of *Trichoderma lentiforme* for the country. *Darwiniana*, 5(1): 72-82.
- Betancourth, C.; Salazar, L.; Lagos, V.; Díaz, R.; Mora Ch. 2020. Caracterización de *Fusarium* spp. asociado con la pudrición basal de la cebolla de rama. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 23(1): article e1471. DOI: 10.31910/rudca.v23.n1.2020.1471.
- Díaz, I. 2020. Los acabados arquitectónicos del claustro del Templo de Bramante en Roma. Aproximación a su estudio mediante el sistema de ordenación del color Munsell. *Ge-conservación*, 18(1): 69-81.
- Domínguez, D.; Vázquez, B.; Reyes, J.; Arzaluz, R.; Martínez, C. 2013. Aislamiento y purificación del hongo ectomicorrízico *Helvella lacunosa* en diferentes medios de cultivo. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 16: 51-59.
- Dummel, M.; Badaracco, R.; Kramer, P.; Rohatsch K.; Agostini, J. 2022. Avances sobre la caracterización del "mal de la tela" en plantas de yerba mate *Ilex paraguariensis* A. St. -Hil. *RIA. Revista de Investigaciones Agropecuarias*, 48(2): 188-194.
- García, S. 2018. Manual para prevención y manejo de insectos y enfermedades en viveros forestales. Universidad Autónoma Chapingo, Estado de México. 99 p.
- Guigón, C.; Guerrero, V.; Carbajal, E.; Ávila, G.; Bravo, L.; Ruocco, M.; Lanzuise, S.; Lorito, M. 2010. Identificación molecular de cepas nativas de *Trichoderma* spp. su tasa de crecimiento in vitro y antagonismo contra hongos fitopatógenos. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 28: 87-96.
- Lugo, J.; Iriarte, M.; Crespo, E.; Ontivero, V.; Risio, E.; Menoyo, F.; L. Ballesteros S. 2018. Preparación de soluciones y colorantes. Manual de metodologías para el trabajo con hongos y sus simbiosis. Nueva Editorial Universitaria. San Luis, Argentina. 70 p.
- Morales, C.; Siqueiros, A.; Álvarez, del C.; Gil, R.; Corrales, L.; Martínez, S. 2021. Diversidad, estructura genética e hibridación en poblaciones de *Pinus arizonica* y *P. durangensis*. *Madera y Bosques*, 27(2) Article e2722170. DOI:10.21829/myb.2021.2722170
- Nawaz, A.; Shahid, L.; Bengyella, N.; Subhani, M.; Ali, W.; Anwar, S.; Iftikhar, A.; Ali, S. 2018. Diversity of *Trichoderma* species in chili rhizosphere that promote vigor and antagonism against virulent *Phytophthora capsici*. *Scientia Horticulturae*, 239: 242-252.
- Norambuena, P.; Luzio, W.; Vera, W. 2002. Comparación entre los métodos de la pipeta y Bouyoucos y su relación con la retención de agua en ocho suelos de la zona altiplánica de la provincia de Parinacota, Chile. *Agricultura Técnica*, 62(1). DOI: 10.4067/s0365-28072002000100015
- Pompa, G.; Corral, J.; Díaz, M.; Martínez, M. 2009. Función de ahumamiento y volumen compatible para *Pinus arizonica* Engelm. en el suroeste de Chihuahua. *Revista Ciencia Forestal en México*, 34(105): 119-136.
- Policelli, D.; Bruns, R.; Vilgalys, T.; Núñez M. 2019. Suiloid fungi as global drivers of pine invasions. *New Phytologist*, 222(2): 714-725.
- Rangel, E.; Valdivia, F.; Moreno, S.; Hernández, C.; Cruz, V.; Luna, T.; Quezada, R.; Ortiz, M.; Máyek, P. 2020. Caracterización de *Aspergillus flavus* y cuantificación de aflatoxinas en pienso y leche cruda de vacas en Aguascalientes, México. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 11(2): 435-454.
- Rodarte, Y.; Guzmán, J.; Ramírez, R.; Reveles, R.; Vidales, L. 2020. Aislamiento e identificación morfológica y molecular de hongos asociados a plantas de zanahoria enfermas. *Investigación Científica*, 14(2): 14-19.
- Royo, M.; Melgoza, A.; Santos, T. 2013. Flora medicinal de Chihuahua. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 18(4): 58-69.

- Ruiz, C.; Umaña, R.; Gómez, A.
2022. Identificación multilocus de especies de *Colletotrichum* asociadas a la antracnosis de papaya. *Agronomía Mesoamericana*, 33 (1): article e45495. DOI: 10.15517/am.v33i1.45495
- Sánchez, G. y Reséndiz, J.
2021. Aportaciones del INIFAP en materia de plagas y enfermedades forestales. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 12(1): 64-90.
- Savín, J.; Hernández, W.; Ceiro, G.; Ávila, A.; Palacios, F.; Ruiz, E.; Romero, B.
2021. Caracterización morfológica y potencial de biocontrol de especies de *Trichoderma* aisladas de suelos semiáridos. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 39(3): 435-451.
- SEMARNAT.
2002. NOM-021-RECNAT-2002, que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreos y análisis. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. México. 73 p.
- Schapovaloff, E.; Angeli, A.; Urrutia, M.; López, L.
2015. Ocurrencia natural de hongos entomopatógenos en suelos cultivados con yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) en Misiones, Argentina. *Revista Argentina de Microbiología*, 47(2): 138-142.
- Summerell, A.; Leslie, F.
2011. Fifty years of *Fusarium*: how could nine species have ever been enough? *Fungal Diversity*, 50(1): 135-144.
- Vivas, G.; Flores J.
2018. Efectividad de la aplicación de caldos minerales y biofertilizantes para el control de la enfermedad del Damping off (mal del talluelo, tizón foliar y bacteriosis) en *Pinus caribaea*. *Wani*, 73: 55-65.
- Zhang, F.; Wu, N.; Gu, X.; Wang, S.; Dhanasekaran, X.; Gu, L.; Zhao L.; Zhang, H.
2020. Postharvest biological control of *Rhizopus* rot and the mechanisms involved in induced disease resistance of peaches by *Pichia membranefaciens*. *Journal Postharvest Biology and Technology*, 163, Article e111146. DOI: 10.1016/j.postharvbio.2020.111146