

# ANTAGONISMO DE LOS GÉNEROS *Penicillium* Y *Aspergillus*, AISLADOS RIZOSFÉRICOS DEL CARDÓN GIGANTE (*Pachycereus pringlei*) CONTRA HONGOS FITOPATÓGENOS

Mirella Romero-Bastidas<sup>1</sup>, Aracely Vega-Hernández<sup>1</sup>, Jorge A. Villegas-Espinoza<sup>1</sup>  
y Sergio Zamora-Salgado<sup>1</sup>

## RESUMEN

*Aspergillus* sp. y *Penicillium* sp. son hongos ampliamente estudiados por sus aplicaciones biotecnológicas. En el ámbito agrícola, sus características benéficas, los hace una fuente atractiva como alternativa en el control biológico de enfermedades. Las cactáceas, como el cardón gigante (*Pachycereus pringlei*), agrupan una gran diversidad de este tipo de especies desérticas que presentan mayor acción metabólica, debido a su resistencia en ambientes extremos. El objetivo de esta investigación fue aislar, identificar y evaluar el antagonismo de *Penicillium* sp. y *Aspergillus* sp. aislados de la rizosfera del cardón gigante contra hongos fitopatógenos de raíz. Cuarenta muestras de suelo fueron colectadas de la rizosfera del cardón, a 30 cm de profundidad en cuatro sitios del municipio de La Paz, Baja California Sur. La población y diversidad fue calculada y los aislados purificados se identificaron macroscópicamente y microscópicamente. La patogenicidad de los aislados se determinó mediante inoculación en frutos de tomate. La capacidad antagonista se evaluó a través del cultivo dual, con los patógenos *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* y *Rhizoctonia solani*. Los resultados registraron una mayor población de *Penicillium* sp. que *Aspergillus* sp. (5 versus 2 aislados). La especie de mayor abundancia fue *P. digitatum*. El antagonismo, mostró diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre aislados del mismo género (especies diferentes), al presentar hasta 70% de inhibición micelial de los fitopatógenos. En la prueba de patogenicidad, todos los aislados indujeron síntomas, aunque dos aislados de *Penicillium* y un aislado de *Aspergillus* mostraron mayor efecto que el resto. Esta información confirma la capacidad de *Aspergillus* sp. y *Penicillium* sp. en el control de patógenos vegetales.

**Palabras clave adicionales:** Biocontrol, diversidad, eficacia, microorganismos

## ABSTRACT

### Antagonism of the genera *Penicillium* and *Aspergillus*, rhizospheric isolates of Giant Cardon (*Pachycereus pringlei*) against phytopathogenic fungi

*Aspergillus* sp. and *Penicillium* sp. are fungi widely studied for their biotechnological applications. In the agricultural field, their beneficial characteristics make them an attractive alternative source for biological disease control. Cacti, such as the giant cardon (*Pachycereus pringlei*) group a great diversity of this type of desert species that have greater metabolic action, due to their resistance to extreme environments. However, there are few studies on this subject. The objective of this research was to isolate, identify and evaluate the antagonism of *Penicillium* sp. and *Aspergillus* sp. isolated from the rhizosphere of giant cardon against phytopathogenic root fungi. Forty soil samples were collected from the rhizosphere of cardon, at 30 cm depth in four sites in the municipality of La Paz, Baja California Sur. The population and diversity were calculated and the purified isolates were identified macroscopically and microscopically. The pathogenicity of the isolates was determined by inoculation in tomato fruits. While the antagonism was evaluated through dual culture, with *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* and *Rhizoctonia solani*. The results were recorded in all the agroecosystems evaluated a higher population of *Penicillium* sp. than *Aspergillus* sp. (5 versus 2 isolates). The most abundant species was *P. digitatum*. The antagonism showed significant differences ( $p \leq 0.05$ ) between isolates of the same genus (different species), presenting up to 70% mycelial inhibition. While in the pathogenicity test, two *Penicillium* isolates and one *Aspergillus* isolate showed a greater effect than the rest. This information confirms the capacity of *Aspergillus* sp. and *Penicillium* sp. in the control of plant pathogens.

**Additional Keywords:** biocontrol, diversity, efficacy, microorganisms

---

Editor Asociado: Prof. María Elena Sanabria-Chópita

---

## INTRODUCCIÓN

Las cactáceas en México son un grupo de plantas representativas de las zonas áridas. Éstas,

desarrollan adaptaciones morfológicas y fisiológicas que le permiten afrontar largos periodos de escasez de agua y la colonización de un medio adverso, donde generalmente los suelos

---

Recibido: Octubre 19, 2024

Aceptado: Febrero 15, 2025

<sup>1</sup>Departamento Académico de Agronomía, Universidad Autónoma de Baja California Sur. Col. El Mezquitito, La Paz, Baja California Sur, México. e-mail: [miromero@uabcs.mx](mailto:miromero@uabcs.mx) (autor de correspondencia); [avega@uabcs.mx](mailto:avega@uabcs.mx); [jvillegas@uabcs.mx](mailto:jvillegas@uabcs.mx); [szamora@uabcs.mx](mailto:szamora@uabcs.mx)

son poco fértiles (Meza *et al.*, 2014). La existencia de un rico ecosistema rizosférico que incluye diversos microorganismos, contribuyen en la salud y el desarrollo vegetal de este tipo de plantas, debido a los mecanismos bioquímicos que realizan en simbiosis (Philippot *et al.*, 2013). En el caso de la especie de Cardón gigante (*Pachycereu pringlei*), la mayoría de las investigaciones sobre las comunidades microbianas rizosféricas están dirigidos particularmente en los filos bacterianos; Proteobacteria, Actinobacteria, Planctomycetes, Firmicutes, Bacteroidetes, Chloroflexi y Acidobacteria (Andrew *et al.*, 2012) y en menor medida en las comunidades fúngicas, las cuales se ha confirmado que poseen mayor predominancia en términos de biomasa, donde hongos como *Penicillium* sp. y *Aspergillus* sp., destacan debido a su alta producción de metabolitos secundarios que favorecen su capacidad de adaptación en distintos nichos ecológicos, lo que los hace una fuente atractiva en el estudio de diversas aplicaciones dentro de la producción de cultivos (Matúš *et al.*, 2023). Al respecto, en los últimos tres años, el uso de microorganismos benéficos aislados de ambientes extremos ha recibido gran atención como alternativa promisoría a la aplicación de agroquímicos sintéticos para el control de enfermedades en plantas, en gran parte provocadas por hongos fitopatógenos principalmente los que dañan las raíces y comúnmente asociados al género *Fusarium* sp., *Phytophthora* sp., *Pythium* sp. y *Rhizoctonia* sp. (Khan y Javaid, 2022), los cuales producen pudrición de raíz, amarillamiento y marchitez de follaje, así como retraso del crecimiento y eventual muerte de la planta (Lim *et al.*, 2006). En la actualidad, especies de *Aspergillus* sp. y *Penicillium* sp., aislados de ambientes terrestres y acuáticos han sido altamente estudiados, debido a sus propiedades metabólicas y aplicaciones biotecnológicas, donde han demostrado ser útiles como agentes de control biológico (Stouvenakers *et al.*, 2019), dada la producción de antibióticos, compuestos antitumorales, antifúngicos, antiinsectos y antivirales (Abastabar *et al.*, 2016). La adopción de este tipo de alternativas con enfoque seguro y respetuoso al medio ambiente, ha sido una acción necesaria para limitar la propagación de patógenos en los cultivos (Jiménez *et al.*, 2018). Por lo tanto, el estudio del potencial antagonico de especies fúngicas, adaptadas a

suelos de zonas áridas, sería de gran importancia en el biocontrol de patógenos vegetales para incrementar su biomasa, así como la búsqueda de nuevas cepas, resistentes a ambientes extremos, como la rizosfera de plantas desérticas (Eida *et al.*, 2018). Aunque son amplias las investigaciones en este tema, sorprendentemente, los estudios de la comunidad microbiana desértica en el control de patógenos vegetales son incipientes. Por lo anterior, el objetivo del presente estudio fue evaluar la capacidad antagonica de *Aspergillus* sp. y *Penicillium* sp. aislados de la rizosfera del cardón gigante, contra hongos fitopatógenos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Descripción del sitio experimental.** Este estudio se realizó en el Laboratorio de Fitopatología, del Departamento Académico de Agronomía, perteneciente a la Universidad Autónoma de Baja California Sur, en el Estado de Baja California Sur (BCS), México (24°8'32.3" N 110°18.79' O). Dicha zona está caracterizada como semiárida, con temperaturas máximas de 40°C y lluvias limitadas (122,5 mm anuales). Suelos arenosos y vegetación escasa representada por matorrales xerófilos y cactáceos.

**Patógenos.** Tres patógenos fúngicos (*Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* y *Rhizoctonia solani*), de patogenicidad comprobada previamente se obtuvieron de la colección micológica perteneciente al Laboratorio de Fitopatología. Los hongos fueron sembrados en placas Petri con papa-dextrosa-agar (PDA, Difco Laboratories, Detroit, MI, USA) e incubados por 7 días a 28°C para su reactivación.

**Sitios de muestreo.** Cuarenta muestras de suelo fueron colectadas de la rizosfera del cardón gigante en cuatro áreas silvestres del municipio de La Paz, BCS y fueron registradas como “El saltito” (Sitio I; 24.235565° N, - 110.202880° O), “Los Encinitos” (Sitio II; 24.002506° N, - 110.158321° O), “El Cajete” (Sitio III; 24.215821° N - 110.588114° O) y “Las Pocitas” (Sitio IV; 24.408371° N, - 111.098209° O). De cada sitio se obtuvieron diez muestras al azar en un radio de 20 m<sup>2</sup>. El criterio de muestreo se basó en la selección de 10 plantas de cardón aparentemente sanas y de tamaño similar. 500 g suelo fueron tomados de la rizosfera de cada una de las plantas a 30 cm de profundidad. El suelo se

depositó en bolsas de polietileno y se trasladaron al Laboratorio de Fitopatología, donde se almacenaron a 4°C para estudios posteriores. La ubicación de las áreas de muestreo, se registró mediante GPS.

**Aislamiento y purificación fúngica.** El aislamiento de los géneros *Aspergillus* sp. y *Penicillium* sp. fue realizado mediante la técnica de dilución en placa Petri, descrita por Clark (1965). 50 g de muestra de suelo se diluyeron en 450 ml de agua destilada estéril. Las suspensiones de las muestras se homogenizaron en un agitador a 120 rpm durante 2 minutos y a partir de esta solución, se hicieron diluciones de hasta  $1 \times 10^3$ . De cada dilución, se transfirieron 200  $\mu$ l a placas Petri con PDA. Éstas se incubaron a 28°C durante 7 días para llevar a cabo la purificación de los aislados y el conteo de poblaciones expresado como UFC·g<sup>-1</sup>.

**Identificación morfológica y diversidad de especies.** La identificación de los hongos, se realizó sobre la base de la morfología macroscópica y microscópica al utilizar de dos a cinco cepas representativas de cada grupo de hongo. La primera se evaluó en función de los caracteres fenotípicos como el color de la colonia, del micelio, la presencia de exudados y el color inverso según Klich (2002). Las observaciones microscópicas se basaron en la técnica de montaje en portaobjetos y mediante tinción con azul de metileno. Para determinar conidios, conidióforos y disposición de esporas, las estructuras se observaron bajo microscopio compuesto Labomed CxL (Labo, USA) y se tomaron micrografías de luz. Los hongos se identificaron según claves taxonómicas generales descritas por Barnett y Hunter (1972), Pitt (1991) y Jurjević *et al.* (2012). La diversidad de especies de *Aspergillus* sp. y *Penicillium* sp. se determinó a partir de las variables de la densidad poblacional fúngica obtenida previamente y la identificación de los aislados presentes en los sitios de muestreo. Esta variable fue calculada mediante la frecuencia de ocurrencia con la siguiente fórmula propuesta por Muniappan y Muthukumar (2014): Frecuencia de ocurrencia = # agroecosistemas con una especie de hongo/# agroecosistemas examinados  $\times$  100.

**Experimento 1. Screening antagonico de aislados fúngicos.** Para determinar la actividad antagonica de los aislados fúngicos obtenidos del cardón, éstos fueron confrontados con una cepa de

*F. oxysporum*. Dichos aislados y el hongo patógeno fueron cultivados en medio PDA e incubados a 28 °C en oscuridad durante 7 días. La inhibición del patógeno fue evaluada mediante cultivo dual, a través de la medición del área de crecimiento micelial del mismo, en comparación a un tratamiento control, que consistió en la siembra solamente del patógeno en un extremo de la caja Petri. Las placas se incubaron a 28°C hasta que los micelios fúngicos se encontraron. El ensayo se realizó por triplicado para cada aislado. Las placas se examinaron diariamente y se determinó la inhibición del crecimiento del hongo. Los aislados de *Aspergillus* y *Penicillium* que mostraron una reducción total de los patógenos fueron seleccionados para realizar más pruebas.

**Experimento 2. Ensayo patogénico de aislados en frutos de tomate.** La evaluación patogénica de los aislados se realizó con la finalidad de determinar su potencial de biodegradación asociado a la capacidad de producción de enzimas y/o metabolitos secundarios. Esto consistió en inocular cinco frutos de tomate variedad Río Grande mediante el método de herida propuesto por Sanders y Korsten (2003). Aquellos que presentaban un estado de madurez fisiológica avanzada fueron lavados dos veces con agua destilada estéril y desinfectados individualmente con etanol al 75%. Se dejaron secar al aire sobre papel filtro estéril, antes de la inoculación. Tres perforaciones de 0.5 cm de diámetro fueron realizadas en cada fruto a lo largo del eje longitudinal del mismo. Dicha herida fue maximizada justo para ofrecer una ventaja al hongo potencial patógeno y así evaluar el tamaño de la extensión micelial y su potencial carácter patogénico. En cada pozo se depositó un disco de agar de 0.5 cm de diámetro con los aislados de 7 días de crecimiento. Un grupo control se inoculó solo con discos de agar. Las piezas inoculadas se depositaron en cajas plásticas de polietileno previamente desinfectadas con hipoclorito de sodio al 2% (3 frutos x caja x repetición) y se almacenaron a 28°C, con 80% de humedad bajo un fotoperíodo de 12 h de luz y 12 h de oscuridad. Después de 72 h de incubación, se evaluó la colonización de *Aspergillus* sp. y *Penicillium* sp. contando el número de perforaciones y/o frutos con crecimiento de micelio y síntomas de pudrición, ablandamiento y/o necrosis de tejido. Para el reaislamiento de los hongos, se realizaron

cortes de 1 cm. Éstos se desinfectaron durante 1 min con hipoclorito de sodio al 2 %, posteriormente se enjuagaron con agua destilada estéril y se colocaron en el centro de cajas Petri con PDA y se incubaron a 28 °C durante 7 días, cumpliendo así con los postulados de Koch. La incidencia de la enfermedad fue obtenida por la fórmula:  $DI = \frac{Xi}{Xt} \times 100$ , donde; DI: incidencia de la enfermedad; Xi número de frutos infectados por aislados; Xt: total de frutos evaluados. Mientras que la severidad se determinó mediante el nivel de patogenicidad, siguiendo la escala de evaluación visual propuesta por N'Guettia *et al.* (2014), donde: la escala 0 = ausencia de lesiones (No patogénico), 1 = Lesiones de 1 a 5 mm (Débilmente patogénico), 2 = Lesiones de 6 a 15 mm (Levemente patogénico), 3 = Lesiones de 16 a 25 mm (Patogénico) y 4 = Lesiones mayores de 25 mm (Altamente patogénico).

**Experimento 3. Prueba antagónica contra patógenos fúngicos.** Los aislados de *Aspergillus* sp. y *Penicillium* sp. seleccionados previamente, fueron utilizados para determinar las interacciones antagónicas a nivel *in vitro* contra tres hongos fitopatógenos (*F. oxysporum*, *F. solani* y *R. solani*), mediante la técnica de placa de cultivo dual. A partir de cultivos puros de 7 días de crecimiento, de los microorganismos en estudio, se realizaron discos miceliales de 1 cm de diámetro y se depositaron en extremos opuestos de la misma placa de cultivo y se incubaron a 28 °C. Las placas control contenían solo el patógeno. Cada tratamiento se realizó por triplicado y el experimento fue repetido dos veces. Diariamente se midió el crecimiento micelial de los hongos. La eficacia de los aislados, se determinó mediante la inhibición del crecimiento micelial de la colonia. El porcentaje de inhibición de los hongos fitopatógenos se calculó cuando las colonias patógeno-antagonista entraron en contacto y se consideró la fórmula propuesta Khew y Barron (1971):  $L = \frac{(C - T)}{C} \times 100$ . Donde L = Porcentaje de inhibición del crecimiento radial del patógeno (%), C = Crecimiento radial del patógeno (mm) en control, T = Crecimiento radial del patógeno (mm) en tratamiento. Los aislados de *Aspergillus* sp. y *Penicillium* sp. fueron categorizados como efectivos, en base a su capacidad para sobrecrecer e inhibir el crecimiento de los patógenos, mediante el índice de antagonismo según la escala de Bell

modificada (Bell *et al.*, 1980): 1 = El antagonista ocupa completamente la superficie del medio de cultivo cubriendo totalmente al patógeno; 2 = El antagonista llega a sobrepasar las dos terceras partes de la superficie del medio de cultivo; 3 = El antagonista y el patógeno colonizan cada uno aproximadamente la mitad de la superficie del medio de cultivo, y ninguno parece dominar al otro; 4 = El patógeno sobrepasa al crecimiento del antagonista colonizando  $\frac{3}{4}$  de la caja Petri; 5 = El agente fitopatógeno llega a cubrir totalmente caja de Petri.

**Análisis estadístico.** El ensayo dual y el de patogenicidad, fueron realizados con un diseño experimental completamente al azar, con tres repeticiones. Los datos se analizaron mediante el programa Minitab, a través de un análisis estadístico de comparación de medias con la prueba de Duncan, con un factor de nivel de significancia del 5 %. Para los datos de incidencia y severidad de la enfermedad, así como la inhibición micelial expresadas en porcentaje se utilizó una regresión logística binaria y comparación a través de intervalos de predicción.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

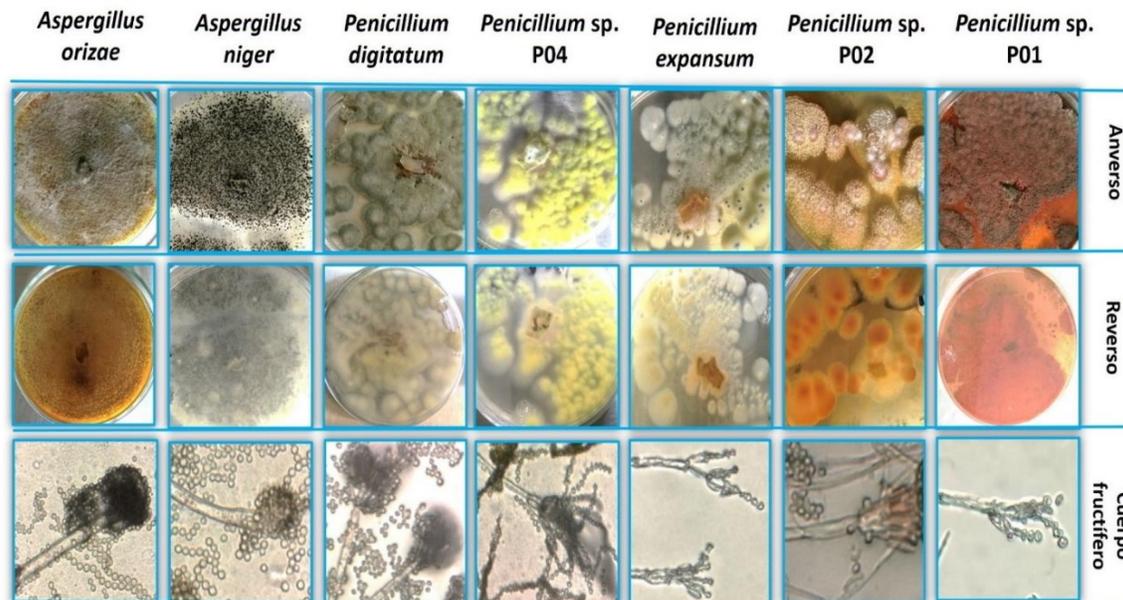
**Dinámica de población de *Aspergillus* sp. y *Penicillium* sp.** Los resultados de la frecuencia de ocurrencia de la población fúngica mostraron diferencias importantes entre *Aspergillus* sp. y *Penicillium* sp. en cada sitio evaluado (Figuras 1 y 2). El mayor número de colonias fúngicas fue del género *Penicillium* sp. en todos los sitios de muestreo. Mientras que *Aspergillus* sp. registró el menor valor. En el caso de “El Saltito” tanto *Penicillium* sp. como *Aspergillus* sp. presentaron mayor densidad poblacional; sin embargo, en el resto de los sitios dicha población varió, al registrarse una menor cantidad de *Aspergillus* en “Los Encinitos”, mientras que la densidad de *Penicillium* sp. fue menor en “Las Pocitas”; y en este último, *Penicillium* sp. mantuvo una población similar a la de *Aspergillus* sp. La diferencia entre ambos géneros también fue expresada en el número de aislados distintos (i.e. riqueza de cepas) que fueron registrados donde *Penicillium* sp. presentó hasta cinco aislados diferentes, mientras que *Aspergillus* sp. solo mostró dos aislados. El género *Penicillium* sp. destacó significativamente comparado con

*Aspergillus* sp. al estar en mayor proporción de población, lo que indicó que este género de hongos tiene una mayor capacidad de resistencia a los distintos ambientes y suelo. Esta respuesta está asociada a lo reportado por Allawi *et al.* (2022), quienes mencionaron que las especies de *Penicillium* sp. son los hongos que comúnmente viven en ambientes con diferentes temperaturas, radios de humedad y niveles de pH. Sin embargo, Giusiano *et al.* (2017), señalaron que también las especies de *Aspergillus* sp. presentan alta adaptabilidad a diferentes ambientes, siendo un factor decisivo para la producción de metabolitos secundarios, como las aflatoxinas, la gliotoxina, la patulina, el ácido ciclopiazónico y la ocratoxina. Así mismo, Paulussen *et al.* (2017), reportaron que la mayoría de las esporas de *Aspergillus* sp. son termotolerantes con capacidad de sobrevivir en temperaturas tan bajas como 12 °C y tan altas como 85 °C, debido a sus genes *tthA* y *cgrA*, que regulan eficientemente las proteínas de choque térmico. Esto indicó su capacidad de resistir ambientes desérticos, como los sitios de estudio en esta investigación.

**Caracterización de los aislados.** En la identificación a nivel de especie, se confirmaron dos especies de *Penicillium* sp. y de *Aspergillus* sp. asociadas a la rizosfera del cardón en zonas áridas del municipio de La Paz, BCS México (Figura 1 y 2B). Dentro del grupo de *Penicillium* sp. se identificó a *Penicillium expansum* y *Penicillium digitatum*, mientras que los tres aislados restantes (P01, P02 y P04), se clasificaron como especies no identificadas. Todas las colonias del género *Penicillium* iniciaban con un micelio blanco algodonoso, que posteriormente adquiría una textura aterciopelada o granulada, sin exudados presentes y esporulación densa con tonalidades tales como verde ligero (*P. expansum*), verde olivo (*P. digitatum*), amarillo brillante (*Penicillium* sp.-P04), salmón (*Penicillium* sp.-P02) y marrón rojizo (*Penicillium* sp.-P01). El reverso de las colonias, no mostró una variación en el color, presentando el mismo que en la parte anversa de la placa Petri. La morfología microscópica de las especies de *Penicillium* semejante a la forma de un pincel fue

diferencial; el aislado de *Penicillium*-P01, presentó conidióforos ramificados, verticilados con fialides ampuliformes y conidios elipsoidales dispuestos en cadenas cortas. El aislado de *Penicillium*-P02, mostró conidióforos simples, monoverticilados, fialides acerosas con conidios esféricos en cadenas cortas. Para *P. expansum*, los conidióforos fueron ramificados, tetraverticilados, fialides acerosas con cadena corta de conidios subsféricos. Finalmente, en *P. digitatum*, se observaron conidióforos monoverticilados, con fialides ampuliforme y conidios esféricos dispuestos en cadenas cortas. En el caso de los aislados de *Penicillium* no identificados, el color de las colonias principalmente fue una de las características que no coincidieron con las cepas reportadas, lo que dificultó su identificación. Al respecto, Hu *et al.* (2021), señalaron que la falta de pigmento o la esporulación deficiente, así como las similitudes interespecíficas, la variabilidad intraespecífica y la variación en los requisitos de crecimiento de algunos aislamientos pueden influir en el resultado de la identificación morfológica.

En el grupo de *Aspergillus* sp., solo se identificó a *A. niger* y *A. oryzae* (Figuras 1 y 2). La morfología colonial de *A. niger* era de tipo granular, color negro tanto en el anverso como en el reverso de la placa. El conidióforo de color café claro con vesícula globosa uniseriada y esporas redondeadas. Mientras que en *A. oryzae* la colonia fue de consistencia aterciopelada de coloración verde ligero en la parte superior de la placa y marrón amarillento en el reverso de la misma. Los conidióforos presentaban coloración gris-oscuro con una vesícula biseriada y conidios elipsoides y globosos. Se confirmó que estas especies de *Penicillium* sp. y *Aspergillus* sp. no estaban registrados en Baja California Sur. Al respecto, Nji *et al.* (2023), señalaron que la mayoría de las especies de *Aspergillus* han recibido una investigación limitada en relación con su papel en la ecología de los hongos del suelo, donde las poblaciones de especies son muy diversas y su estabilidad microbioana en el suelo y en las plantas es ambigua.



**Figura 1.** Características morfológicas de las colonias de cepas de *Aspergillus* sp. y *Penicillium* sp.

**Diversidad fúngica por sitio.** Tanto para las especies de *Aspergillus* sp. y *Penicillium* sp. no hubo evidencia de variación morfológica marcada entre los sitios evaluados. Es decir, en la mayoría de las áreas de estudio se presentaron las mismas especies. Dentro del género *Penicillium* (Figura 2A), *P. digitatum*, fue la especie dominante en la rizosfera del cardón, referente a su densidad poblacional, seguido de *Penicillium* P04 y P02. La diversidad de *Penicillium* fue mayor en “El saltito” y “Los Encinitos”. Mientras que *Penicillium expansum* y el aislado de *Penicillium* sp.-P01, fueron las únicas especies que no se encontraron en las zonas de “El Cajete” y “Las Pocitas” respectivamente (Figura 4A). En el género *Aspergillus* sp. (Figura 2B), tanto *A. niger* como *A. oryzae*, estaban presentes en todos los sitios evaluados; sin embargo, *A. niger* mostró mayor prevalencia, especialmente en “Las Pocitas”. La respuesta de diversidad reducida en los sitios de “El Cajete” y “Las Pocitas”, se asoció a que ambos lugares, se caracterizaron por presentar menor vegetación, lo que implica mayor impacto de las altas temperaturas, humedad en el suelo reducida, así como menor contenido de materia orgánica. Esto es consistente con lo reportado por N’Guettia *et al.* (2014), quienes mencionaron que largos períodos secos y/o húmedos, así como la densidad de la vegetación están asociados a la diferencia en la población de

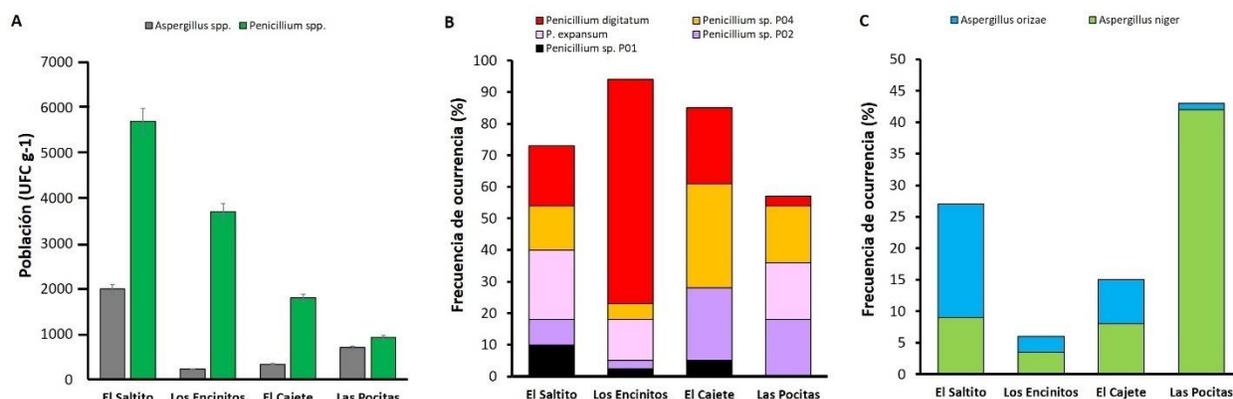
microorganismos. Esto puede explicar las diferencias significativas en la concentración de especies de *Aspergillus* sp. y *Penicillium* sp. en la rizosfera del cardón gigante de las distintas áreas de muestro. Awad *et al.* (2023), señalaron que la existencia de una significativa diversidad de especies es crucial para la conservación genética y protección de las mismas. Además, de esta forma las poblaciones reaccionan a las variables ambientales.

**Eficacia *in vitro* de aislados fúngicos.** En el presente estudio fueron examinados siete aislados fúngicos para determinar su actividad potencial contra *F. oxysporum* en el medio nutritivo PDA, utilizando la técnica de cultivo dual, de los cuales solamente cinco cepas (P03, P04, P05 y A06) presentaron actividad antagonista, al inhibir el crecimiento del patógeno por más del 75 %. Mientras que las tres cepas restantes (P01, P02 y A07) mostraron nula o baja actividad antifúngica contra el patógeno evaluado (Cuadro 1).

**Prueba de Patogenicidad.** En la segunda evaluación, se determinó el impacto de las especies de *Aspergillus* sp. y *Penicillium* sp. en la degradación de tejido vegetal de frutos de tomate, para corroborar su patogenicidad (Figuras 3A, B y C). 3 días después de la inoculación, todas las cepas indujeron síntomas como lesiones en forma de grietas, pudrición blanda y esporulación superficial y fueron las que destacaron entre el

tipo de daño, donde el porcentaje de incidencia de frutos enfermos fue de un 100 %, comparado con el tratamiento control. La severidad de las lesiones en los frutos permitió clasificar a las cepas en dos grupos patogénicos. El primer grupo estuvo formado por cepas con un “leve” nivel patogénico (40 %). El diámetro de estas lesiones fue menor a 15 mm y estuvo conformado por *Penicillium*-P01, P02 y P04 (lesión de 10 mm) y *A. oryzae* (14 mm). Mientras que el segundo, estuvo

representado por especímenes con un “alto” nivel de patogenicidad (60 %). Los diámetros de las lesiones ocasionadas por estos últimos fueron mayores a 25 mm, donde destacaron *P. digitatum* (26 mm), *P. expansum* (29 mm) y *A. niger* (40 mm), al degradar severamente el tejido, especialmente en *A. niger*. Los cultivos reaislados de los frutos inoculados con síntomas de daño fueron similares a los de los aislamientos originales utilizados para las inoculaciones.



**Cuadro1.** Screening *in vitro* de aislados de *Penicillium* sp. y *Aspergillus* sp.

No.	Aislado	Especie	Actividad antagonica contra <i>Fusarium oxysporum</i>
01	P01	<i>Penicillium</i> -P01	---
02	P02	<i>Penicillium</i> -P02	+
03	P03	<i>Penicillium expansum</i>	++++
04	P04	<i>Penicillium</i> -P04	++++
05	P05	<i>Penicillium digitatum</i>	+++
06	A06	<i>Aspergillus oryzae</i>	++++
07	A07	<i>Aspergillus niger</i>	+

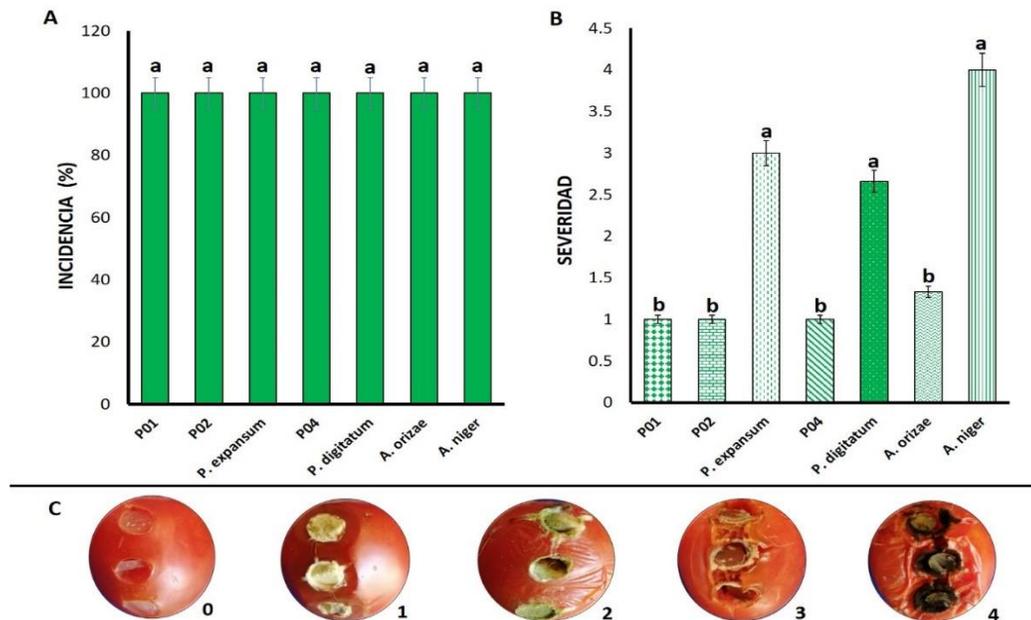
El ancho de la zona de inhibición del crecimiento es el siguiente: --- representan una inhibición del crecimiento de 0 mm, + representa una inhibición del crecimiento de 1 a 10 mm, ++ representan una inhibición del crecimiento de 11 a 20 mm, +++ representan una inhibición del crecimiento de 21 a 30 mm y ++++ representan una inhibición del crecimiento de 31 a 40 mm.

La respuesta de patogenicidad de las especies de *Aspergillus* sp. y *Penicillium* sp. fue variable en los frutos de tomate, lo que indicó que algunas cepas produjeron mayor concentración y tipo de compuestos químicos que otras. En este sentido, Taylor *et al.* (2015) señalaron que la producción de algunos metabolitos secundarios tóxicos es un mecanismo de supervivencia en condiciones de

estrés y que la capacidad de expresar factores de virulencia en diferentes condiciones distingue a las cepas patógenas de las no patógenas. Esto sugirió que la planta de cardón en su ambiente desértico crea un ambiente extremo en el que los microorganismos están sujetos a presiones selectivas únicas y esto a su vez favorece la producción de nuevas sustancias antimicrobianas

o secreciones mayores de metabolitos secundarios específicos y/o enzimas. En el caso del género *Aspergillus* sp., el cual presentó la mayor escala de patogenicidad y/o severidad, Nji *et al.* (2023), mencionaron que los diferentes hábitats han generado algunos de los atributos ecológicos que han contribuido enormemente al éxito de la patogenicidad de algunos miembros del género *Aspergillus* sp. a lo largo del tiempo. Al respecto, Bellaouchi *et al.* (2021), señalaron que *A. niger*

excreta en su entorno extracelular, cantidades significativas de enzimas que degradan los tejidos de las plantas, como xilanasas, amilasas, celulasas, endoxilanasas, b-xilosidasas y pectinasas. Aunque en el presente estudio no se analizó la excreción de enzimas o metabolitos secundarios, no se descarta que algunas de ellas fueran producidas por *A. niger*, lo que afectó severamente el tejido de los frutos de tomate inoculados, como se observó en el experimento.



**Figura 3.-** A) Incidencia y severidad (B) de *Aspergillus* sp. y *Penicillium* sp. C) Frutos de tomate con síntomas de varios grados de severidad. 0: No patogénico; 1: Débilmente patogénico; 2: Levemente patogénico; 3: Patogénico y 4: Altamente patogénico.

**Actividad antagonista *in vitro* de los agentes fúngicos.** Se observó que las colonias de *F. oxysporum*, *F. solani* y *R. solani* enfrentados con *P. expansum*, *P. digitatum* y *Penicillium*-P04, fueron inhibidas en un rango mayor al 70 % ( $p \leq 0,05$ ) (Figura 4). Por el contrario, el aislado de *A. oryzae*, registró una inhibición menor a las especies anteriores. Dicha acción inhibitoria de los aislados, confirma su potencial antagonista contra microorganismos fitopatógenos. Resultados similares fueron descritos por Silva *et al.* (2022), quienes reportaron la capacidad benéfica de *Aspergillus* sp. y *Penicillium* sp. aislados del cactus *Opuntia cochenillifera* y comprobaron su acción antagonista contra *Colletotrichum* sp. y *Fusarium* sp., donde relacionaron su eficacia con

la tasa de crecimiento micelial del antagonista y su capacidad de producción de metabolitos inhibitorios. Al respecto, Brzezinska y Jankiewicz (2012) reportaron que tanto *Aspergillus* como *Penicillium* tienen acción inhibitoria debido a algunos metabolitos secundarios con acción antifúngica como las Nafto-g-pironas, ocratoxina y fumonisinas. Así mismo, Lalaymia *et al.* (2022) señalaron que algunas especies de *Aspergillus* reducen la severidad de infección de *Fusarium oxysporum*, debido a una biopelícula que forma el hongo que evita la infección y penetración del patógeno.

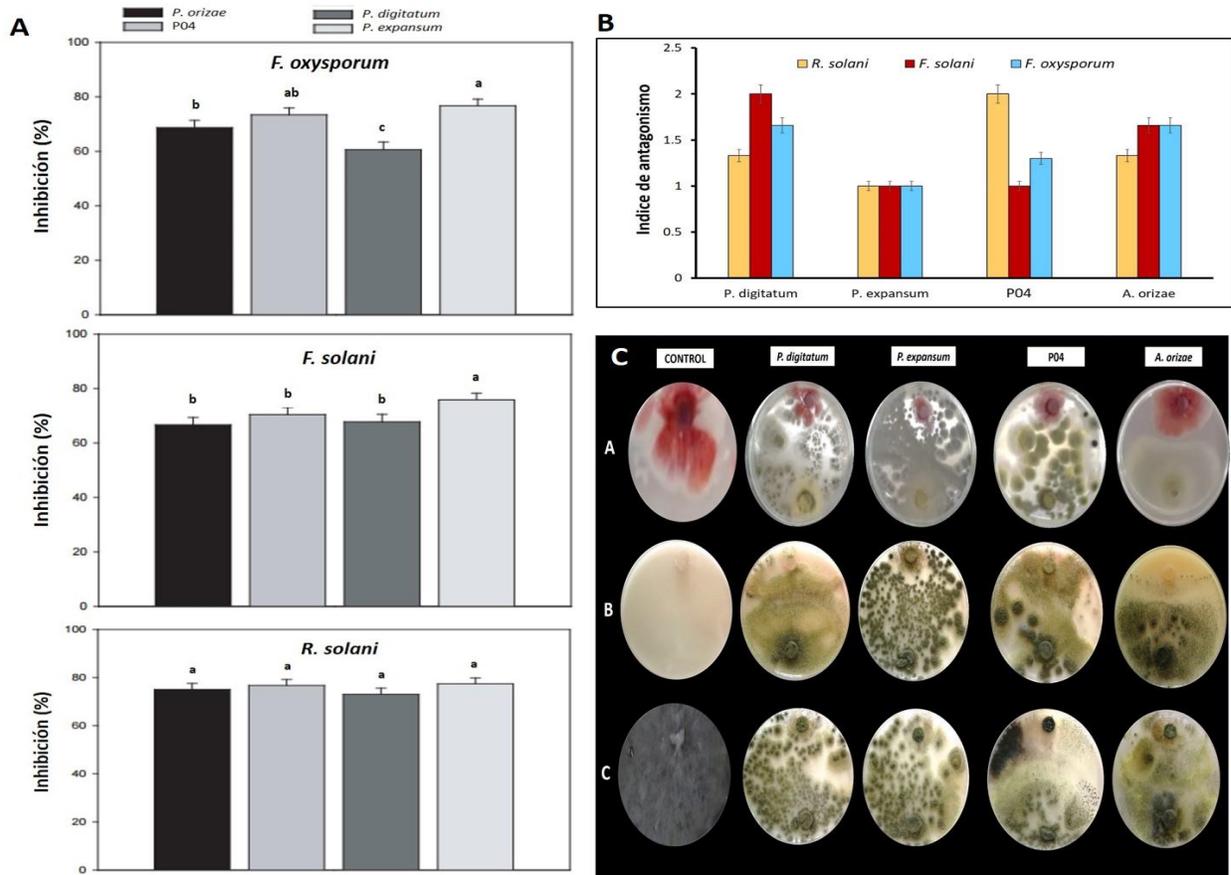
En el presente estudio, se observó que *P. expansum* destacó en la acción inhibitoria de los hongos fitopatógenos, al mostrar mayor eficacia

antagónica. Dicha respuesta, ha sido reportada anteriormente por Abdelaziz *et al.* (2023), quienes aislaron de la rizosfera del suelo a *T. harzianum* y *P. expansum* y confirmaron su actividad de biocontrol en la enfermedad del marchitamiento vascular por *Fusarium oxysporum* en plantas de pimiento. Sus resultados mostraron que el efecto combinado de *T. harzianum* y *P. expansum* aumentó la protección contra *Fusarium* en un (76,74 %), seguido de *T. harzianum* en un (50 %) y luego *P. expansum* en un (17,64 %). En este último, la respuesta de eficacia fue diferente a lo obtenido en este estudio, donde *P. expansum* generó una inhibición mayor al 70 % en los tres patógenos evaluados. Generalmente, *Aspergillus* sp. y *Penicillium* sp. no son considerados hongos que afecten las plantas establecidas en campo (Ousman *et al.*, 2023), sino más bien, se consideran a los dos géneros de mayor función como contaminantes ambientales de alimentos postcosecha (Bertuzzi *et al.*, 2019). Sin embargo, si bien en el presente estudio se corroboró esta observación en el experimento de patogenicidad, también se confirmó su efectividad como antagonistas de patógenos vegetales; los resultados revelaron que tanto *Penicillium* sp. como *Aspergillus* sp. inhibieron satisfactoriamente el crecimiento de los hongos fitopatógenos. En esta investigación se observó que el género *Penicillium* sp. mostró mayor efectividad de inhibición contra los patógenos. Al respecto, Zhao *et al.* (2021) señalaron que las especies de *Penicillium* sp. frecuentemente son reportadas en el control de enfermedades de plantas, donde algunas especies aisladas del suelo han mostrado reducir la incidencia de *Fusarium* sp., debido a que excretan en mayor medida enzimas extracelulares tales como proteasas, celulasas y B-1-3-glucanasas, lo cual podría explicar la reducción del crecimiento micelial de los patógenos en este estudio.

Es importante destacar la importancia del conocimiento de los microorganismos benéficos que habitan en la rizosfera de plantas desérticas, donde destacan los ambientes extremos y degradados, como es el caso de los aislamientos

fúngicos estudiados aquí. Los datos contribuyen a la selección de cepas con mayor tolerancia al estrés hídrico, alta salinidad del suelo, temperaturas superiores y baja materia orgánica. En este contexto, Moreira *et al.* (2020) afirmaron que en suelos salinos, la inoculación con microorganismos tiende a mitigar los efectos de los gradientes de NaCl. Además, Laranjeira *et al.* (2021), señalaron que la inoculación de plantas con estas especies microbianas tolerantes a este tipo de estrés proporciona un mejor desarrollo y productividad en los cultivos.

**Nivel de Antagonismo de los aislados.** El análisis estadístico ( $p \leq 0,05$ ) mostró que *P. expansum* presentó el mayor nivel de antagonismo, porque se ubicó en el nivel uno de inhibición de los tres hongos fitopatógenos (*Rhizoctonia solani*, *Fusarium solani* y *Fusarium oxysporum*). Este aislado mostró, después de los 7 días de evaluación, un crecimiento micelial de 100% cubriendo toda la placa; el resto de las especies se ubicaron cercanas al nivel 1.5 de antagonismo. Sin embargo, mostraron diferencia con cada patógeno. Por ejemplo, P-04, registró un menor antagonismo con *R. solani*, así mismo *P. digitatum* contra *Fusarium oxysporum* y estuvieron cercanas al nivel 2. Frente a *F. oxysporum*, *F. solani* y *R. solani*, las especies de *P. expansum*, *P. digitatum* y *Penicillium*-04 mostraron sobreposición y micoparasitismo. En los tres casos, se observó que éstos presentan una alta capacidad de dispersión de esporas, lo que contribuyó a su alto desempeño en la inhibición del crecimiento micelial de los patógenos. Mientras que *A. oryzae*, mostró una acción de competencia por espacio en comparación con las demás cepas, donde, el crecimiento de este hongo, se restringió al entrar en contacto con los fitopatógenos. Al igual que en otras investigaciones las cepas *Penicillium* sp. y *Aspergillus* sp. actúan como antagonistas, porque son colonizadores eficientes, produciendo metabolitos que inhiben el crecimiento de fitopatógenos, siendo utilizados para el biocontrol de enfermedades (Ruiz *et al.*, 2017; Jiménez, 2018).



**Figura 4.-** A) Inhibición de patógenos, B y C) índice de antagonismo de los aislados del cardón gigante. Las letras distintas muestran diferencia significativa ( $p \leq 0,05$ )

**CONCLUSIONES**

Se ha detectado la presencia de diferentes especies de *Aspergillus* sp. y *Penicillium* sp. en la rizosfera del cardón gigante. *Penicillium* sp. fue el género aislado de mayor abundancia, seguido de *Aspergillus* sp. Los aislados de *P. digitatum*, *Penicillium*-P04 y *P. expansum* registraron mayor diversidad poblacional. Mientras que el aislado de *P. expansum* inhibió significativamente el crecimiento de *F. oxysporum*, *F. solani* y *R. solani*. Este es el primer estudio de aislados rizosféricos del cardón gigante asociado con *Penicillium* y *Aspergillus* considerados con una potencial bioactividad antagónica frente a hongos radicales. Los resultados de este estudio son importantes para comprender mejor la presencia de hongos antagonistas en la rizosfera de plantas desérticas y los posibles usos en la agricultura de zonas áridas.

**LITERATURA CITADA**

1. Abastabar, M., H. Mirhendi, M.T. Hedayati, T. Shokohi, A. Rezaei-Matehkolaei, R. Mohammadi *et al.* 2016. Genetic and Morphological Diversity of the Genus *Penicillium* from Mazandaran and Tehran Provinces, Iran. *Jundishapur Journal of Microbiology* 9(1): 1-7. e28280.
2. Abdelaziz, A.M., M.H. Sharaf, A.H. Hashem, A.A. Al-askar, S.A. Marey, F.A. Mohamed *et al.* 2023. Biocontrol of Fusarium wilt disease in pepper plant by plant growth promoting *Penicillium expansum* and *Trichoderma harzianum*. *Notulae Botanicae Agrobotanici Cluj-Napoca* 51(3): 1-23.
3. Allawi, Y., M. Salim Al-Taie y B.R.M. Hmoshi. 2022. Isolation and identification of *Penicillium rubens* from the local strain in Mosul, Iraq, and investigation of Potassium

- Phosphate effect on its growth. Archives of Razi Institute, Razi Vaccine & Serum Research Institute 77(1): 421-427.
4. Andrew, D.R., R.R. Fitak, A.M. Vega, A.R., V.G. Martinson y K. Dontsovag. 2012. Abiotic factors shape microbial diversity in Sonoran desert soils. Applied and Environmental Microbiology 78(21): 7527-7537.
  5. Awad, M.F., B. Albogami, T. Mwabvu, M.M. Hassan, A. Baazeem, M.M. Hassan y M.M. Elsharkawy. 2023. Identification and biodiversity patterns of *Aspergillus* species isolated from some soil invertebrates at high altitude using morphological characteristics and phylogenetic analyses. PeerJ 11: e15035.
  6. Barnett, H. y B. Hunter. 1972. Illustrated genera of imperfect fungi. 3a edición. Burgess Publishing Company. Lincoln United Kingdom: pp. 241.
  7. Bell, D., H. Welland y C. Markham. 1980. "In vitro" antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. Phytopathology 72: 379-382.
  8. Bellaouchi, R., H. Abouloifa, Y. Rokni, A. Hasnaoui, N. Ghabbour, A. Hakkou, *et al.* 2021. Characterization and optimization of extracellular enzymes production by *Aspergillus niger* strains isolated from date by-products. Journal of Genetic Engineering and Biotechnology 19(1): 1-8.
  9. Bertuzzi, T., M. Romani, S. Rastelliand y P. Giorni. 2019. Mycotoxins and related fungi in Italian paddy rice during the growing season and storage. Toxins 11(3): 151.
  10. Brzezinska, M.S. y U. Jankiewicz. 2012. Production of antifungal chitinase by *Aspergillus niger* Lock 62 and its potential role in the biological control. Current Microbiology 65(6): 666-672.
  11. Clark, F.E. 1965. Agar-plate method for total microbial count. In C.A. Black, D.D. Evans, J.L. White, L.E. Ensminger, F.E. Clark, & R. C. Dinaver (Eds.), *Methods of soil analysis, Part 2. Chemical and microbiological properties* (pp. 1460-1466). USA: American Society of Agronomy, Soil Science Society of America.
  12. Eida, A.A., M. Ziegler, F.F. Lafi, C.T. Michell, C.R. Voolstra, H. Hirt *et al.* 2018. Desert plant bacteria reveal host influence and beneficial plant growth properties. PLoS ONE 13(12): e0208223.
  13. Giusiano, G.E., E. Piontelli, M.S. Fernández, M.L. Mangiaterra, M.E. Cattana, S. Kocsubé, y J. Vargas. 2017. Biodiversity of species of *Aspergillus* section Fumigati in semi-desert soils in Argentina. Revista Argentina de Microbiología 49: 247-254.
  14. Hu, Z.Y., S.C. Liu, Z.G. Xu, S.Q. Liu, T.T. Li, S.L. Yuy y W.P. Zhao. 2021. Comparison of *Aspergillus chevalieri* and related species in dark tea at different aspects: Morphology, enzyme activity and mitochondrial genome. Journal of Food Processing and Preservation 45: e15903.
  15. Jiménez-Camargo A., E. Valadez-Moctezuma y H. Lozoya-Saldaña. 2018. Antagonismo de *Penicillium* sp., contra *Phytophthora capsici* (leonian). Revista de Fitotecnia Mexicana 4(2): 137-148.
  16. Jurjević, Z., S.W. Peterson, G. Stea, M. Solfrizzo, J. Varga, V. Hubka y G. Perrone. 2012. Two novel species of *Aspergillus* section Nigri from indoor air. IMA Fungus 3: 159-173.
  17. Klich, M.A. 2002. Biogeography of *Aspergillus* species in soil and litter. Micología 94: 21-27.
  18. Khan, I.H. y A. Javaid, 2022. Antagonistic activity of *Aspergillus versicolor* against *Macrophomina phaseolina*. Brazilian Journal of Microbiology 53:1613-1621.
  19. Khew, L.V. y K.L. Barron, 1971. Fungitoxic spectrum of benzimidazole compounds. Phytopathology 61: 42-44.
  20. Lalaymia, I., F. Naveau, A.A. Arguelles, M. Ongena, T. Picaud, S. Declerck y M. Calonne-Salmon. 2022. Screening and efficacy evaluation of antagonistic fungi against *Phytophthora infestans* and combination with arbuscular mycorrhizal fungi for biocontrol of late blight in potato. Frontiers in Agronomy 4: 948309.
  21. Laranjeira, S., A. Fernandes-Silva, S. Reis, C. Torcato, F. Raimundo, L. Ferreira, V. Carnide y G. Marques. 2021. Inoculation of

- plant growth promoting bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi improve chickpea performance under water deficit conditions. *Applied Soil Ecology* 164(8): 103927.
22. Lim, G.T.T., G.P. Wang, M.N. Hemming, S. Basuki, D.J. McGrath, B.J. Carroll y D.A. Jones. 2006. Mapping the I-3 gene for resistance to *Fusarium* wilt in tomato: application of an I-3 marker in tomato improvement and progress towards the cloning of I-3. *Australas. Plant Pathology* 35: 671-680.
  23. Matúš, P., P. Littera, B. Farkas y M. Urík. 2023. Review on performance of *Aspergillus* and *Penicillium* species in biodegradation of organochlorine and organophosphorus pesticides. *Microorganisms* 11: 1485.
  24. Meza-Rangel, E., F. Tafoya, R. Lindig-Cisneros, J.J. Sigala-Rodríguez y E. Pérez-Molphe-Balch. 2014. Distribución actual y potencial de las cactáceas *Ferocactus histrix*, *Mammillaria bombycina* en el estado de Aguascalientes, México. *Acta Botánica Mexicana* 108: 67-80.
  25. Moreira, H., S.I.A. Pereira, A. Vega, P.M.L. Castro y A.P.G.C. Marques. 2020. Synergistic effects of arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth-promoting bacteria benefit maize growth under increasing soil salinity. *Journal of Environment Management* 257(3): 109982.
  26. Muniappan, V. y T.V. Muthukumar. 2014. Influence of crop species and edaphic factors on the distribution and abundance of *Trichoderma* in Alfisol soils of southern India. *Acta Botánica Croatica* 73(1): 37-50.
  27. N'Guettia, M.Y., N. Kouassi, H. Atta Diallo y F.R.Y. Kouakou. 2014. Evaluation of anthracnose disease of mango (*Mangifera indica* L.) fruits and characterization of causal agent in Côte d'Ivoire. *International Journal of Agriculture Innovations and Research* 2(6): 2319-1473.
  28. Nji, Q.N., O.O. Babalola y M. Mwanza. 2023. Soil *Aspergillus* species, pathogenicity and control. Perspectives. *Journal of Fungi* 9: 766: 1-19.
  29. Ousman, S.D., O.W. Javan, O.O. Julius y O.A. Elmada. 2023. Fungal pathogens affecting the quality of rice (*Oryza sativa* L.) seed in selected agro-ecological zones of Liberia. *World Journal of Agricultural Research* 11(1): 8-15.
  30. Paulussen, C., J.E. Hallsworth, S. Álvarez-Pérez, W.C. Nierman, P G. Hamill, D. Blain, H. Rediers y B. Lievens. 2017. Ecology of aspergillosis: Insights into the pathogenic potency of *Aspergillus fumigatus* and other *Aspergillus* species. *Microbial Biotechnology* 10: 296-322.
  31. Philippot, L., J.M. Raaijmakers, P. Lemanceau y W.H. Putten. 2013. Going back to the roots: The microbial ecology of the 566 rhizosphere. *Nature Rev Microbial* 11(11): 789-799.
  32. Pitt, J.I. 1991. A laboratory guide to common *Penicillium* species. North Ryde: N.S.W: Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization.
  33. Ruiz-Cisneros, M., F.C. Ríos-Velasco, D.I. Berlanga-Reyes, J.J.C. Ornelas-Paz, H. Acosta-Muñoz, A. Romo-Chacón *et al.* 2017. Incidencia y agentes causales de enfermedades de raíz y sus antagonistas en manzanos de Chihuahua, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 35(3): 437-462.
  34. Sanders, G.M. y L. Korsten. 2003. A comparative morphology of South African avocado and mango isolates of *Colletotrichum gloeosporioides*. *Canadian Journal of Botany* 81: 877-885.
  35. Silva, J.M., P.C.V. da Silva, V.A. da Dalbon, R.T. Massahud, T.M.C. Santos y G.S.A. de Lima. 2022. *In vitro* bioprospecting of rhizospheric fungi associated to cactus (*Opuntia cochenillifera*). to plant growth promotion. *Revista Peruana de Biología* 29(2): e22125 001-010.
  36. Stouvenakers, G., P. Dapprich, S. Massart, y J.M. Haissam. 2019. Acuaponis food production systems, chapter 14 plant pathogens and control strategies. *Cost European cooperation in Science & Technology*: 353-370.
  37. Taylor, J.W. 2015. Evolutionary perspectives on human fungal pathogens. *Cold Spring*

- Harb. Perspectives on Medical Education 5: a019588.
38. Zhao, X., Y. Ni, H. Zhao, X. Liu, B. He, B. Shi *et al.* 2021. Plant growth promoting ability and control efficacy of *Penicillium aurantiogriseum* 44M-3 against sesame fusarium wilt disease. Biocontrol Science and Technology 31(12): 1314-1329.

