



HONGOS RIZOSFÉRICOS AISLADOS DE ARÁNDANO Y SU EFECTO EN EL DESARROLLO DE *Arabidopsis thaliana* L.

RHIZOPHERIC FUNGI ISOLATED FROM BLUEBERRY AND THEIR EFFECT ON THE DEVELOPMENT OF *Arabidopsis thaliana* L.

Sandra Estefanía García-Rueda¹, María de los Ángeles Beltrán-Nambo¹, Héctor Javier Anselmo Villegas-Moreno², Angel Rebollar-Alviter³, Miguel Martínez-Trujillo¹ y Yazmín Carreón-Abud^{1*}

¹Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH), Facultad de Biología, Morelia, Michoacán, México. ²UMSNH, Instituto de Investigaciones Químico Biológicas, Morelia, Michoacán, México. ³Universidad Autónoma Chapingo, Centro Regional Universitario Centro Occidente, Morelia, Michoacán, México.

*Autor de correspondencia (yazmin.carreon@umich.mx, ycabud@gmail.com)

RESUMEN

Los microorganismos presentes en su entorno influyen en el crecimiento de las plantas y pueden ser mutualistas, como los hongos formadores de micorrizas, o no mutualistas, como los hongos endófitos. En este estudio se aislaron especies fúngicas de la raíz y suelo rizosférico de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) cultivado en el estado de Michoacán, México con la finalidad de analizar su potencial como promotores de desarrollo vegetal. Seis cepas fúngicas fueron identificadas molecularmente mediante las regiones del espaciador transcrito interno (ITS) del ADN ribosomal. Se evaluó su capacidad de modificar el desarrollo de plántulas de *Arabidopsis thaliana* (Col 0) mediante dos configuraciones experimentales (cajas Petri compartimentadas y no compartimentadas), para investigar la influencia de compuestos difusibles y volátiles sobre el fenotipo de la planta. *Phialocephala fortinii* y *Mortierella alpina* promovieron el crecimiento de *Arabidopsis thaliana*, sobre todo en cajas compartimentadas, donde se observó un incremento de la longitud de raíz principal (≥ 2 cm) y en el número de raíces laterales (≥ 34), sugiriendo que los compuestos volátiles son los responsables de estos incrementos. Las especies promotoras de desarrollo vegetal seleccionadas se evaluaron mediante líneas reporteras *ARR5::GUS* y *DR5::GUS* para estimar la respuesta de genes a la acumulación de citocininas y auxinas en los tejidos vegetales. Los resultados indican que *Phialocephala fortinii* y *Mortierella alpina* actúan diferencialmente sobre el crecimiento de las plantas y representan un recurso biológico con gran potencial para su uso como bioestimulantes en la agricultura actual.

Palabras clave: *Mortierella alpina*, *Phialocephala fortinii*, *Vaccinium corymbosum*, exudados fúngicos, hongos promotores del crecimiento vegetal.

SUMMARY

Microorganisms present in their environment influence plant growth and can be mutualists, such as mycorrhizal-forming fungi; or nonmutualists, such as endophytic fungi. In this study, fungal species from the root and rhizospheric soil of blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) cultivated in the state of Michoacán, México were isolated in order to analyze their potential as promoters of plant development. Six fungal strains were molecularly identified by the internal transcribed spacer (ITS) regions of ribosomal DNA. Its ability to modify the development of *Arabidopsis thaliana* (Col 0) seedlings was evaluated through two experimental configurations (compartmentalized

and non-compartmentalized Petri dishes), to investigate the influence of diffusible and volatile compounds on plant phenotype. *Phialocephala fortinii* and *Mortierella alpina* promoted growth of *Arabidopsis thaliana* especially in compartmentalized dishes, where an increase in the main root length (≥ 2 cm) and in the number of lateral roots (≥ 34) was observed, suggesting that volatile compounds are responsible for these increases. The selected plant-development promoter species were evaluated by *ARR5::GUS* and *DR5::GUS* reporter lines to estimate the response of genes to the accumulation of cytokinins and auxins in plant tissues. Results indicate that *Phialocephala fortinii* and *Mortierella alpina* act differentially on plant growth and represent a biological resource with great potential for use as biostimulants in current agriculture.

Index words: *Mortierella alpina*, *Phialocephala fortinii*, *Vaccinium corymbosum*, fungal exudates, plant-growth promoting fungi.

INTRODUCCIÓN

Las plantas mantienen una constante interacción con los microorganismos que se desarrollan a su alrededor, mediante procesos bioquímicos como la señalización del regulador maestro TOR (por sus siglas en inglés: Target of Rapamycin), el cual funciona como receptor de señales ambientales regulando el crecimiento y metabolismo de eucariontes (Corona *et al.*, 2018). En dichas interacciones interviene también la liberación de compuestos volátiles o difusibles como terpenos, compuestos sulfurados y sideróforos, entre otros (Cantúa *et al.*, 2020; Hernández-León *et al.*, 2015); a su vez, participan en el establecimiento de relaciones que pueden clasificarse como asociativas, simbióticas, neutrales o patógenas (Bouwmeester *et al.*, 2019; Yadav *et al.*, 2018); es por esto que las asociaciones planta-microorganismo están directamente relacionadas con la modulación del desarrollo, metabolismo y defensa vegetal (Agarwall *et al.*, 2019; Wenke *et al.*, 2019).

El cultivo del arándano (*Vaccinium corymbosum* L.)

representa un potencial de desarrollo económico para México, ya que de su producción total anual (66,482 t) se exporta el 96.1 % al mercado estadounidense, siendo los estados de Jalisco, Michoacán y Sinaloa los principales productores de esta frutilla con un total de 31,912; 15,490 y 9130 t, respectivamente (SIAP, 2022). Para cumplir con la demanda actual, los productores se basan en el uso de productos sintéticos que afectan directamente a las comunidades microbianas de la rizósfera y disminuyen su diversidad, por lo que modifican la estructura y propiedades del suelo, llevándolo a su degradación y pérdida de fertilidad (Meena *et al.*, 2020). *Vaccinium* tiene un amplio rango de interacciones, en su mayoría con ascomicetos que mejoran su nutrición mineral (Van Geel *et al.*, 2020). *Oidiodendron maius* (Pescie *et al.*, 2021), *Cadophora* sp. y *Lachnum* sp. (Bizabani y Dames, 2015) se han identificado en las células rizodérmicas de plantas ericáceas sanas formando la micorriza ericoide, caracterizada por la presencia de finas bobinas de hifas intracelulares (Read, 1996) encargadas de conferir beneficios, como una mejor adquisición de nutrientes minerales (Pescie *et al.*, 2023) y el alivio de estrés por sequía (Mu *et al.*, 2021), entre otros. También destaca su asociación con hongos endófitos septados oscuros, como *Phialocephala fortinii*, con capacidad de liberar enzimas capaces de disolver nutrientes insolubles como el fósforo (Daghino *et al.*, 2022) o algunos hongos de la división Basidiomycota, destacando algunos Sebaciales (Vohník *et al.*, 2016). Desafortunadamente la identidad de los hongos asociados con *V. corymbosum* en México es aún limitada, por lo que es necesario ampliar el conocimiento de su función y establecer herramientas de manejo que permitan su mejor aprovechamiento.

La especie vegetal *A. thaliana* puede ser utilizada como organismo modelo (Piacentini *et al.*, 2019), ya que el amplio conocimiento de su genoma ha permitido la generación de líneas transgénicas con las que es posible analizar la expresión de genes clave en diferentes vías de señalización, convirtiéndose en una herramienta para explorar las respuestas vegetales (Méndez-Gómez *et al.*, 2021). El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto promotor de crecimiento vegetal de seis hongos aislados de la raíz y suelo rizosférico de *V. corymbosum* sobre el desarrollo de *A. thaliana*, cambios en la estructura de la raíz y elucidar posibles mecanismos involucrados a través de líneas reporteras.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de muestras

Se seleccionó un cultivo en producción de arándano, ubicado en San Rafael Coapa, Michoacán. Mediante un muestreo aleatorio se seleccionaron cinco plantas

aparentemente sanas y vigorosas, de las cuales se obtuvieron muestras de raíces y suelo rizosférico que se mantuvieron en frío hasta su procesamiento.

Obtención y purificación de aislados fúngicos

De cada muestra de rizósfera se realizaron cinco diluciones con agua destilada estéril. En la dilución 1×10^{-5} se observaron las hifas con un microscopio estereoscópico (marca Labomed, modelo Luxeo 4D, Fremont, California, EUA) y se tomó cada una para sembrarse en cajas Petri con medio de cultivo agar dextrosa papa (PDA, por sus siglas en inglés, Bioxon). Las raíces se desinfectaron superficialmente sumergiéndolas en una dilución de cloro al 10 %, seguida de una solución antibiótica de eritromicina 2 % y gentamicina 1 % con enjuagues de agua destilada estéril (Ortega, 2008); se cortaron en segmentos transversales de 1 cm y se sembraron en medio de cultivo elaborado con 20 g de extracto malta (Sigma Aldrich), 1 g de peptona de caseína (BD, Bioxon), 20 g de agar nutritivo (BD, Bioxon) y 20 g de sacarosa comercial, obteniendo un total de tres réplicas por raíz que se mantuvieron en incubación a 25 °C durante 30 días; posteriormente, se sembraron en agar agua 2 % durante 24-36 h y se observó su crecimiento al microscopio en cámara de flujo laminar para seleccionar una hifa solitaria y transferirla a PDA obteniendo cultivos axénicos por punta de hifa (French y Hebert, 1980).

Determinación molecular de aislados fúngicos

Los aislados fúngicos se sembraron en papa dextrosa Broth (PDB, por sus siglas en inglés, Sigma Aldrich) y se mantuvieron en agitación a 50 rpm a 25 °C durante 15-30 días en un agitador en seco (Thermo Scientific, modelo MaxQ 4450, Waltham, Massachusetts, EUA). Las hifas desarrolladas se transfirieron a membranas de diálisis (0.2 µm) montadas en una bomba de extracción al vacío para obtener el micelio fúngico, siguiendo el protocolo de Beltrán-Nambo *et al.* (2018). Para la extracción de ADN se utilizaron aproximadamente 3 cm³ de micelio de cada aislado, el cual se molió en frío en un tubo de 2 mL con el protocolo establecido por Sambrook y Russel (2001) con modificaciones en el buffer de extracción (LiCl 0.4 M y SDS 1 %, EDTA 25 mM, Tris-HCl 200 mM). La amplificación se realizó mediante la reacción en cadena de polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés) en un termociclador (Eppendorf, modelo AG 22331, Hamburgo, Alemania) utilizando los cebadores universales ITS 1F (5'-CTT GGT CAT TTA GAG GAA GTA A-3') (Gardes y Bruns, 1993) e ITS 4 (5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3') (White *et al.*, 1990), siguiendo el protocolo sugerido por Swarts *et al.* (2010), pero utilizando ADN polimerasa de la compañía Invitrogen (Platinum Green Hot Start PCR Master Mix 2x). Los productos se

corrieron en gel de agarosa 1 % y se observaron bajo luz UV en un transiluminador (High Performance, modelo UVP 95-0429-02, Madrid, España). La secuenciación en ambas direcciones (5'-3' y 3'-5') se llevó a cabo por Macrogen (Seul, Korea). Las secuencias se editaron en el software Sequencher version 4.1.4 y la identificación de secuencias similares se llevó a cabo con la herramienta BLAST de GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>) considerando 99-100 % de similitud.

Respuesta de *A. thaliana* (Col 0) a compuestos liberados por los aislados fúngicos

De manera previa, se realizaron pruebas de germinación para asegurar la viabilidad de semillas de *A. thaliana* ecotipo silvestre Columbia (Col 0); se desinfectaron superficialmente con etanol 95 % (v/v) durante 5 min y una solución de hipoclorito de sodio 20 % por 7 min, se lavaron tres veces con agua destilada estéril y se refrigeraron a 4 °C durante 48 h. Con la finalidad de conocer si la respuesta de *A. thaliana* es provocada por compuestos involucrados en interacción directa (difusibles más volátiles) o indirecta (sólo volátiles), se prepararon dos configuraciones experimentales: 1) cajas no compartimentadas que contenían medio de cultivo Murashige y Skoog (MS, Phytotechlab), en las cuales se sembraron 10 semillas en un extremo y se inoculó cada cepa fúngica en el extremo contrario; 2) cajas Petri compartimentadas, las cuales contenían en un compartimento medio de cultivo MS donde se sembraron cinco semillas, y en el otro, medio de cultivo PDA donde se colocó cada cepa fúngica. La siembra de semillas e inoculación fúngica se realizaron de acuerdo con la tasa de crecimiento de cada hongo dando ventaja a la semilla para la germinación, o en su caso, al hongo para iniciar el conteo de 14 días de interacción con tres réplicas por tratamiento. Las cajas Petri se mantuvieron con una inclinación de 65° en una cámara de crecimiento (fotoperiodo 16 h luz/8 h oscuridad, humedad relativa 89 % y temperatura 22 °C) durante 14 días, después de los cuales se midió el crecimiento de la raíz primaria y se contaron las raíces laterales. Se determinó la biomasa en peso fresco, por tratamiento, utilizando una balanza analítica (Radwag, modelo AS 220.R2, Miami, Florida, EUA). Se obtuvieron imágenes con una cámara digital (SONY modelo Carl Zeiss DSC-S75, Tokio, Japón). Los datos se analizaron con una prueba de ANDEVA y comparación de medias de Tukey ($P \leq 0.05$) con el software SPSS Statistics (IBM) Versión 28.0.1 para establecer diferencias significativas entre los tratamientos.

Interacción de líneas reporteras de *A. thaliana* con cepas fúngicas seleccionadas

Se seleccionaron los hongos promotores de crecimiento

vegetal y se analizó su efecto sobre las líneas reporteras *ARR5::GUS* (citocininas) y *DR5::GUS* (auxinas). Se prepararon dos configuraciones experimentales (cajas Petri compartimentadas y no compartimentadas) con el método descrito anteriormente. Se realizó un análisis histoquímico del gen reportero GUS, en el cual las plantas de *A. thaliana* se incubaron en X-Gluc [0.5 mg mL⁻¹ 5-bromo-4-cloro-3-indolil- β -D-glucuronido 0.1 % en tampón fosfato (NaH₂PO₄ y Na₂HPO₄, 0.1 M; pH 7), EDTA 10 mM 0,1 % (v/v) Triton X-100 con ferrocianuro de potasio 2 mM y ferricianuro de potasio 2 mM] durante 12 h y se clarearon utilizando el método de Malamy y Benfey (1997). Las plantas procesadas se fijaron en portaobjetos con glicerol 50 % (v/v). Para cada línea reportera, por cada tratamiento, se analizaron 15 plantas en un microscopio (Carl Zeiss, Modelo Axiostar plus, Göttingen, Alemania) y se tomaron fotografías representativas de los tejidos teñidos con una cámara digital (SONY modelo Carl Zeiss DSC-S75, Tokio, Japón).

RESULTADOS

Identificación molecular de hongos asociados a arándano (*V. corymbosum*)

Se obtuvieron seis cepas fúngicas (cinco de raíz y una de suelo rizosférico), de las cuales *Phialocephala fortinii*, *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata*, *Phialemonium obovatum* y *Botrytis cinerea* pertenecen al Phylum Ascomycota, mientras que *Mortierella alpina* a la división Mucoromycota. Por su parte, *F. oxysporum*, *A. alternata* y *B. cinerea* son patógenos de plantas (Sánchez-Fernández *et al.*, 2013), *P. obovatum* y *M. alpina* son hongos saprófitos, y *P. fortinii* es un hongo endófito septado oscuro con alto potencial como formador de micorriza tipo ericoide. Los hongos identificados se registraron en GenBank y el número de acceso se muestra en el Cuadro 1.

Respuesta de *A. thaliana* (Col 0) a compuestos liberados por aislados fúngicos

El tiempo de germinación de las semillas de *A. thaliana* fue de 3 días. Por su parte, en cajas no compartimentadas, la mayoría de los hongos afectaron negativamente el crecimiento de las plantas, con excepción los de *P. fortinii* que promovió el desarrollo, indicando un efecto benéfico de su interacción directa (Figura 1). Cabe aclarar que, en este caso, además de los compuestos difusibles, están los compuestos volátiles. En el caso de cajas compartimentadas, *P. fortinii* y *M. alpina* promovieron el desarrollo vegetal (Figura 2), mejorando las tres variables de crecimiento analizadas (Figura 3). La longitud de la raíz principal se promovió en ambas configuraciones de caja Petri por *P. fortinii* (5.1 y 4.6 cm respectivamente) con

Cuadro 1. Especies fúngicas asociadas a raíz y suelo rizosférico de arándano identificadas molecularmente y su número de acceso en GenBank.

Especie	Zona de extracción	Número de acceso GenBank	Similitud (%)
<i>Phialocephala fortinii</i>	Raíz	OP895174	99.76
<i>Fusarium oxysporum</i>	Raíz	OP932005	100.00
<i>Alternaria alternata</i>	Raíz	OP932006	100.00
<i>Phialemonium obovatum</i>	Raíz	OP932009	99.79
<i>Mortierella alpina</i>	Suelo rizosférico	OP912989	99.89
<i>Botrytis cinerea</i>	Raíz	OP932012	99.80

respecto al control (2.4 y 2.6 cm), así como mediante los volátiles (caja Petri compartimentada) de *M. alpina* (4.4 cm; Figura 3A). El número de raíces laterales se favoreció con estas dos cepas fúngicas en cajas compartimentadas; las plantas control tuvieron tres en promedio, mientras que en las plantas en interacción con los hongos esta variable aumentó a más de 50 (Figura 3B); además, la biomasa incrementó de 10 mg en los controles a más de 50 mg con los tratamientos fúngicos (Figura 3C).

**Expresión diferencial de las líneas
reporteras *DR5::GUS* y *ARR5::GUS***

Se observaron respuestas significativas a la inoculación de *P. fortinii* y *M. alpina*. En el área foliar de *A. thaliana*, los compuestos volátiles incrementaron la expresión del gen *DR5::GUS*, pero no de *ARR5::GUS*, indicando una mayor presencia de auxinas. Por su parte, en la raíz primaria de cajas no compartimentadas (presencia de compuestos difusibles y volátiles), se incrementó la expresión de ambos genes reporteros; este comportamiento también se observó en cajas compartimentadas (compuestos volátiles) en la interacción *A. thaliana*-*P.fortinii*. Se detectó también la influencia de los volátiles sobre el ensanchamiento de la zona apical de la raíz primaria mediada por la actividad de auxinas, sugiriendo un desencadenamiento de mecanismos relacionados con la elongación y división celular (Figura 4). *Mortierella alpina* no incrementó la expresión de los genes reporteros analizados en el área foliar; en cambio, en la raíz hay un incremento en la expresión causada por citocininas únicamente por efecto de volátiles (cajas compartimentadas). En cajas no compartimentadas, la presencia de ambos tipos de compuestos (difusibles y volátiles) de este hongo inhiben la expresión del gen reportero de auxinas con respecto al control en la variable raíz primaria (Figura 5).

DISCUSIÓN

En este estudio se identificaron hongos reportados como patógenos (*F. oxysporum*, *B. cinerea* y *A. alternata*) que provocan pérdidas considerables a los agricultores (Moya-Elizondo *et al.*, 2019; Ramos-Bell *et al.*, 2022; Wang *et al.*, 2021). *Phialemonium obovatum* es un hongo saprótrofo oportunista (Gams y McGinnis, 1983) y *P. fortinii* es un hongo endófito septado oscuro con capacidad de mejorar la absorción de nutrientes como el calcio, fierro, aluminio y fósforo (Surono y Narisawa, 2021); siendo este último un potencial promotor de desarrollo vegetal, lo cual es corroborado con este estudio al aumentar la expresión de genes de respuesta a auxinas y citocininas mediante compuestos difusibles y volátiles en *A. thaliana*. *Mortierella alpina* pertenece a un género con especies conocidas por ser hongos promotores de crecimiento vegetal que mejoran la absorción de elementos no biodisponibles para las plantas (Ozimek y Hanaka, 2021), lo cual coincide con los resultados reportados en este trabajo en que las plantas de *A. thaliana* aumentaron la expresión de genes de respuesta a auxinas y citocininas en su interacción con compuestos volátiles de *M. alpina*, aislada por primera vez en el año 2014 en Corea (Yadav *et al.*, 2014) y de suelo rizosférico de manzano en el estado de Chihuahua, México, por Mares-Ponce de León *et al.* (2018), su estudio en la agricultura es aún limitado; sin embargo, su aislamiento en el presente estudio permitió elucidar algunos mecanismos involucrados en su actividad promotora de crecimiento. A pesar de que en este estudio no se determinaron los compuestos liberados por los hongos, algunos otros reportan que especies del género *Mortierella* sintetizan fitohormonas como ácido indolacético y ácido giberélico, colocándolos en un lugar importante como hongos con potencial de mejorar el crecimiento vegetal (Ozimek *et al.*, 2018).

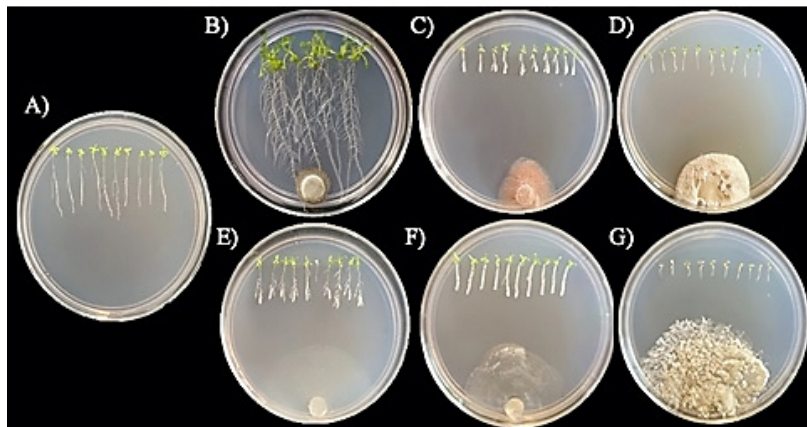


Figura 1. Efecto de interacción de hongos aislados de arándano (*V. corymbosum*) sobre el desarrollo de plántulas de *A. thaliana* (Col 0) en caja Petri no compartimentada. A) control B) *Phialocephala fortinii*, C) *Fusarium oxysporum*, D) *Alternaria alternata*, E) *Phialemonium obovatum*, F) *Mortierella alpina*, G) *Botrytis cinerea*.

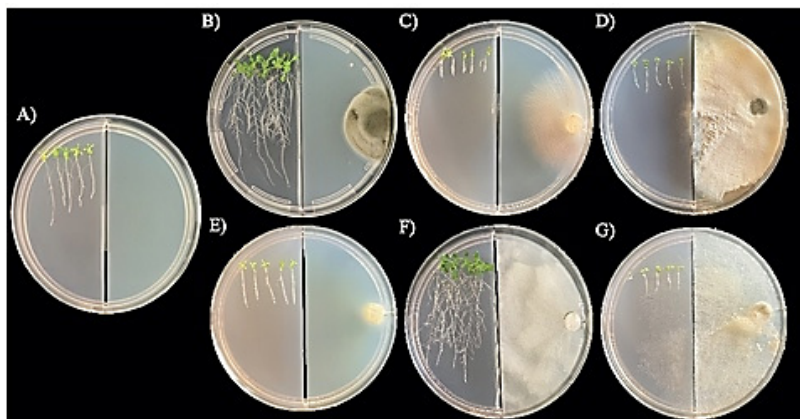


Figura 2. Efecto de interacción de hongos aislados de arándano (*V. corymbosum*) sobre el desarrollo de plántulas de *A. thaliana* (Col 0) en caja Petri compartimentada. A) control, B) *Phialocephala fortinii*, C) *Fusarium oxysporum*, D) *Alternaria alternata*, E) *Phialemonium obovatum*, F) *Mortierella alpina*, G) *Botrytis cinerea*.

De acuerdo con los resultados encontrados, los volátiles aumentaron el número de raíces y área foliar, sugiriendo que la presencia de una barrera física permite que estos compuestos desencadenen respuestas relacionadas con la división y elongación celular, estimulando el crecimiento. Las respuestas encontradas en cajas compartimentadas en este estudio coinciden con los resultados de Coria-Arellano *et al.* (2023), quienes evaluaron el efecto de rizobacterias aisladas de *Suaeda* sp. sobre *A. thaliana*; los autores reportaron que *Aneurinibacillus migulanus*, *Staphylococcus* sp. y *Bacillus cereus* mejoraron el desarrollo vegetal. El presente estudio sugiere que los hongos evaluados sintetizan metabolitos secundarios que estimulan la divergencia de raíces, como lo observado por Contreras-Cornejo *et al.* (2009) al evaluar el efecto de *Trichoderma virens* sobre *A. thaliana*, donde se reporta que los efectos observados son el resultado de la presencia de

compuestos fúngicos similares a las auxinas. Casarrubia *et al.* (2016) evaluaron la capacidad de *Oidiodendron maius* para influir en el crecimiento de *A. thaliana* utilizando las mismas configuraciones experimentales para investigar la influencia de las moléculas fúngicas solubles y volátiles en el fenotipo de la planta; los autores reportaron que *O. maius* promovió el crecimiento en ambas configuraciones; sin embargo, observaron un fenotipo peculiar caracterizado por el acortamiento de la raíz primaria y un aumento en la longitud y el número de raíces laterales sólo en las placas no compartimentadas, por lo que sugieren que ambos tipos de moléculas son las responsables.

Al no observar una promoción de crecimiento en cajas no compartimentadas dentro de los resultados del presente estudio, es posible que el contacto directo planta-hongo desencadene otros mecanismos donde se

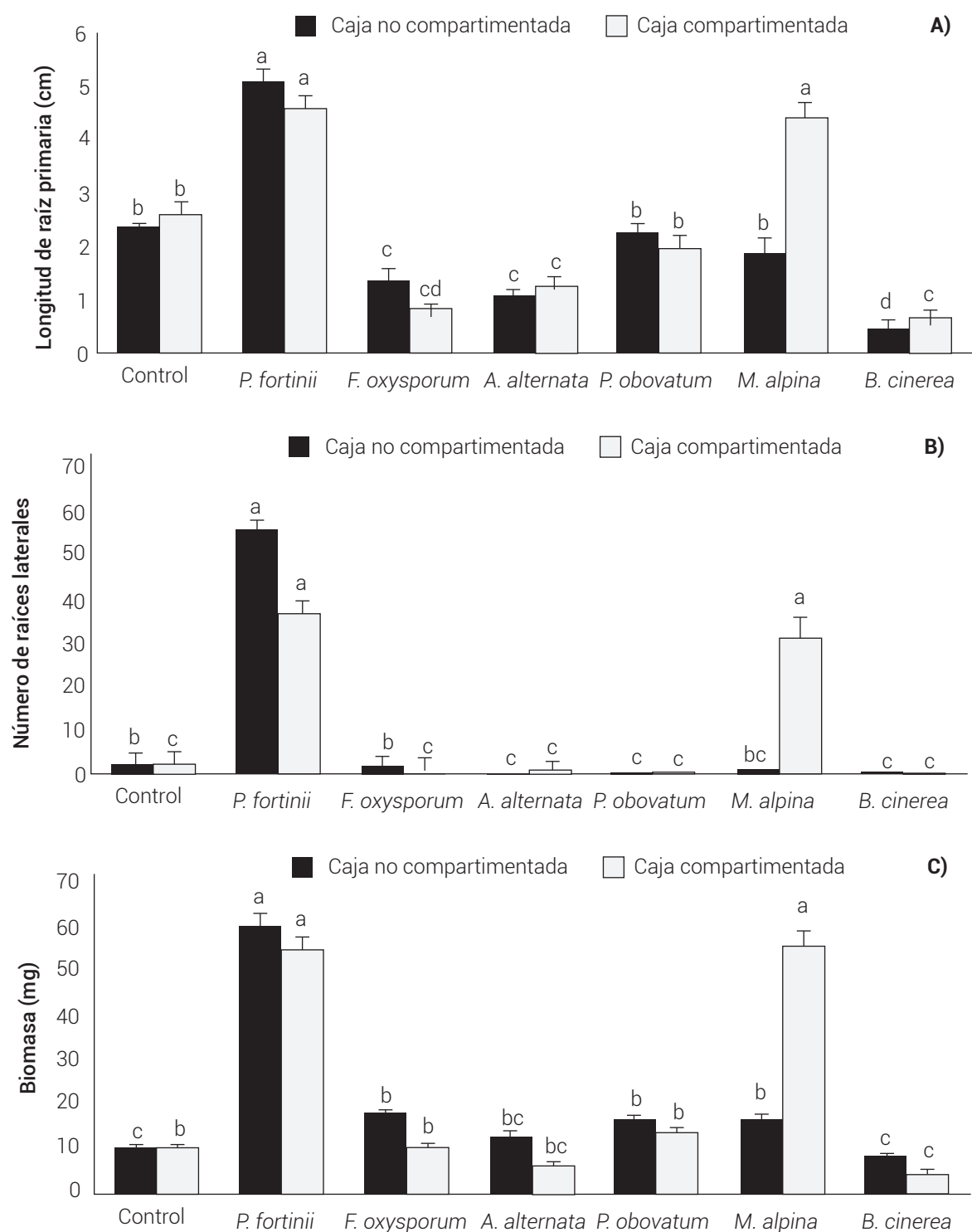


Figura 3. Variables evaluadas en plántulas de *A. thaliana* en co-cultivo con hongos aislados de arándano (*V. corymbosum*) en dos configuraciones de caja Petri (compartimentada y no compartimentada). A) longitud de raíz principal, B) número de raíces laterales y C) biomasa en peso fresco. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos (Tukey, $P \leq 0.05$).

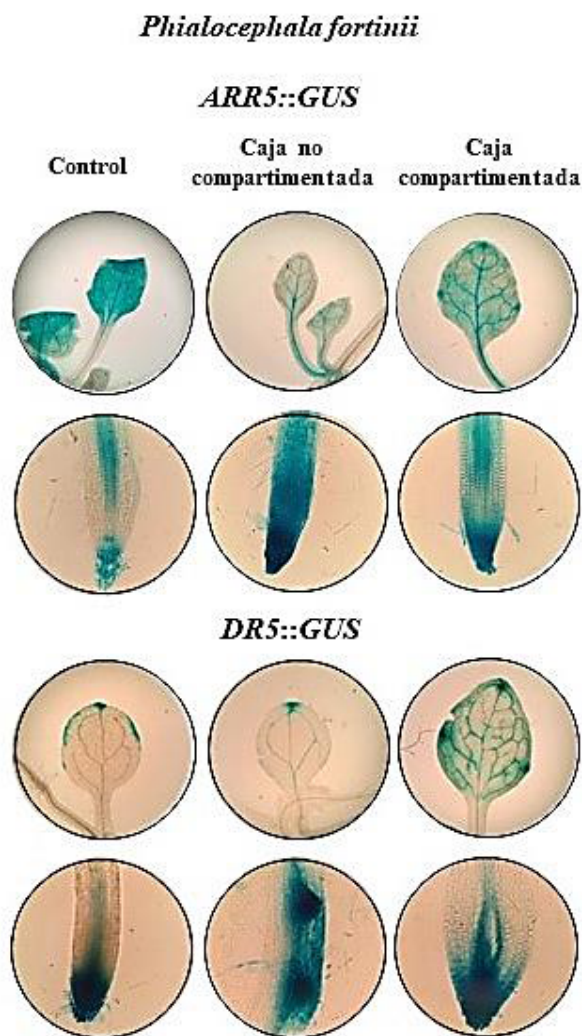


Figura 4. Efecto de *P. fortinii* aislado de raíz de arándano (*V. corymbosum*) sobre la expresión de los genes reguladores de citocininas y auxinas (**ARR5::GUS** y **DR5::GUS**) en el área foliar y radicular de *A. thaliana*.

involucran compuestos reportados como inductores de defensa vegetal como el ácido jasmónico o ácido salicílico (Glazebrook, 2005; Pieterse et al., 2012).

CONCLUSIONES

El presente estudio es un aporte importante acerca de la identidad de las especies fúngicas asociadas con *Vaccinium corymbosum* en el estado de Michoacán, México; sin embargo, son necesarios estudios más detallados que amplíen el panorama acerca de la diversidad fúngica asociada al arándano y que mejoren el entendimiento de las vías de señalización activadas por estos microorganismos. *Phialocephala fortinii* y

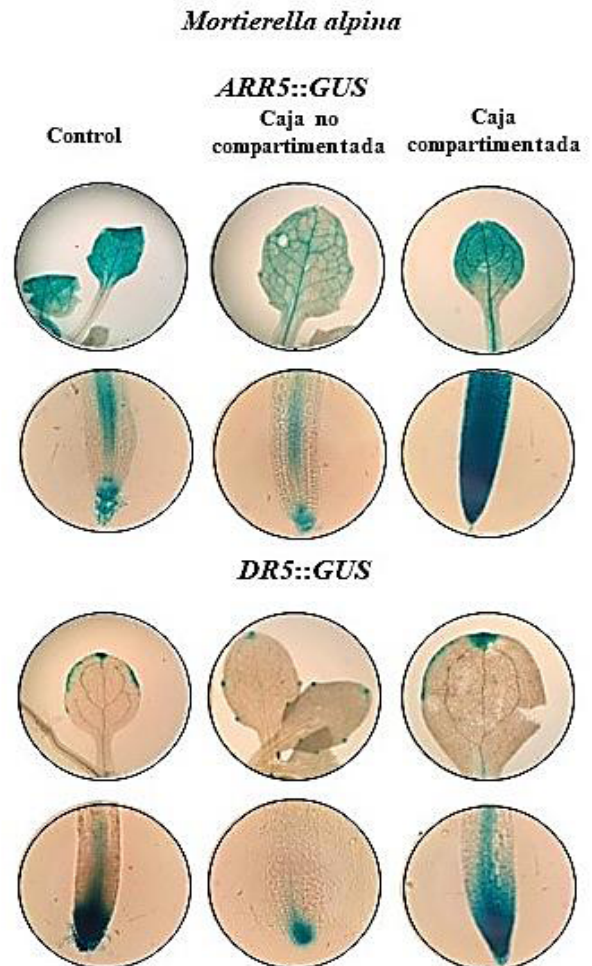


Figura 5. Efecto de *M. alpina* aislado de suelo rizosférico de arándano (*V. corymbosum*) sobre la expresión de los genes reguladores de citocininas y auxinas (**ARR5::GUS** y **DR5::GUS**) en el área foliar y radicular de *A. thaliana*.

Mortierella alpina promovieron el crecimiento de *A. thaliana*; esta estimulación correlacionó con algunos cambios en la expresión de genes de respuesta a las hormonas auxinas y citocininas, observándose de manera diferencial en hojas y raíz, lo que sugiere que el efecto en la promoción del crecimiento es mediado por el incremento de estas hormonas. Estos hongos representan un recurso biológico con potencial de uso como bioestimulantes en la agricultura actual.

BIBLIOGRAFÍA

Agarwal P., P. C. Singh, V. Chaudhry, P. A. Shirke, D. Chakrabarty, A. Farooqui, ... and V. A. Sane (2019) PGPR-induced *OsASR6* improves plant growth and yield by altering root auxin sensitivity and the xylem structure in transgenic *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Plant Physiology* 240:153010, <https://doi.org/10.1016/j.jplp.2019.153010>

- jp.lph.2019.153010
- Beltrán-Namboo M. A., M. Martínez-Trujillo, J. C. Montero-Castro, R. Salgado-Garciglia, J. T. Otero-Ospina and Y. Carreón-Abud (2018) Fungal diversity in the roots of four epiphytic orchids endemic to Southwest México is related to the breadth of plant distribution. *Rhizosphere* 7:49-56, <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2018.07.001>
- Bizabani C. and J. Dames (2015) Effects of inoculation of *Lachnum* and *Cadophora* isolates on the growth of *Vaccinium corymbosum*. *Microbiological Research* 181:68-74, <https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.08.005>
- Bouwmeester H., R. C. Schuurink, P. M. Bleeker and F. Schiestl (2019) The role of volatiles in plant communication. *The Plant Journal* 100:892-907, <https://doi.org/10.1111/tpj.14496>
- Cantúa A. J. A., A. Flores O. y J. H. Valenzuela S. (2020) Compuestos orgánicos volátiles de plantas inducidos por insectos: situación actual en México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 10:729-742, <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i3.678>
- Casarrubia S., S. Sapienza, H. Fritz, S. Daghino, M. Rosenkranz, J. P. Schnitzler, ... and E. Martino (2016) Ecologically different fungi affect *Arabidopsis* development: contribution of soluble and volatile compounds. *PLoS ONE* 11:e0168236, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0168236>
- Contreras-Cornejo H. A., L. Macías-Rodríguez, C. Cortés-Penagos and J. López-Bucio (2009) *Trichoderma virens*, a plant beneficial fungus, enhances biomass production and promotes lateral growth through an auxin-dependent mechanism in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 149:1579-1592, <https://doi.org/10.1104/pp.108.130369>
- Coria-Arellano J. L., J. Sáenz-Mata, M. Fortis-Hernández and M. Á. Gallegos-Robles (2023) Effect of rhizobacteria isolated from *Suaeda* sp. in the growth of *Arabidopsis thaliana* and *Solanum lycopersicum* L. (Sahariana). *Terra Latinoamericana* 41:1-14.e1666, <https://doi.org/10.28940/terra.v41i0.1666>
- Corona I., H. Reyes y E. Beltrán (2018) Regulación del crecimiento vegetal a través de la vía TOR. In: Fronteras en la Biología: Señalización y Comunicación en las Plantas. E. Beltrán, J. L. Bucio y M. Martínez (eds.). Editorial Morevalladolid. Morelia, México. pp:41-51.
- Daghino S., E. Martino, S. Voyron and S. Perotto (2022) Metabarcoding of fungal assemblages in *Vaccinium myrtillus* endosphere suggests colonization of above-ground organs by some ericoid mycorrhizal and DSE fungi. *Scientific Reports* 12:11013, <https://doi.org/10.1038/s41598-022-15154-1>
- French E. R. y T. T. Hebert (1980) Métodos de Investigación Fitopatológica. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas. San José, Costa Rica. 289 p.
- Gams W. and M. R. McGinnis (1983) *Phialemonium*, a new anamorph genus intermediate between *Phialophora* and *Acremonium*. *Mycologia* 75:977-987, <https://doi.org/10.1080/00275514.1983.12023783>
- Gardes M. and T. D. Bruns (1993) ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes - application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Molecular Ecology* 2:113-118, <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.1993.tb00005.x>
- Glazebrook J. (2005) Contrasting mechanisms of defense against biotrophic and necrotrophic pathogens. *Annual Review of Phytopathology* 43:205-227, <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.43.040204.135923>
- Hernández-León R., D. Rojas-Solís, M. Contreras-Pérez, M. C. Orozco-Mosqueda, L. I. Macías-Rodríguez, H. Reyes-de la Cruz, ... and G. Santoyo (2015) Characterization of the antifungal and plant growth-promoting effects of diffusible and volatile compounds produced by *Pseudomonas fluorescens* strains. *Biological Control* 81:83-92, <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2014.11.011>
- Malamy J. E. and P. N. Benfey (1997) Organization and cell differentiation in lateral roots of *Arabidopsis thaliana*. *Development* 124:33-44, <https://doi.org/10.1242/dev.124.1.33>
- Mares-Ponce de León Y., L. N. Muñoz-Castellanos, M. F. Ruiz-Cisneros, D. A. Pérez-Corral, J. J. Ornelas-Paz, C. H. Acosta-Muñiz, ... y C. Rios-Velasco (2018) Morphological and molecular identification of *Mortierella* species associated to rhizosphere of apple trees with symptoms of root diseases. *Revista Mexicana de Fitopatología* 36:184-195, <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1710-2>
- Meena R. S., S. Kumar, R. Datta, R. Lal, V. Vijayakumar, M. Brtnicky, ... and T. Danso (2020) Impact of agrochemicals on soil microbiota and management: a review. *Land* 9:34, <https://doi.org/10.3390/land9020034>
- Méndez-Gómez M., S. Barrera-Ortiz, E. Castro-Mercado, J. López-Bucio and E. García-Pineda (2021) The nature of the interaction *Azospirillum*-*Arabidopsis* determine the molecular and morphological changes in root and plant growth promotion. *Protoplasma* 258:179-189, <https://doi.org/10.1007/s00709-020-01552-7>
- Moya-Elizondo E. A., H. Doussoulín, J. San Martín, B. Ruiz and P. Del Valle (2019) First report of *Fusarium oxysporum* causing wilt on blueberry (*Vaccinium corymbosum*) in Chile. *Plant Disease* 103:2669, <https://doi.org/10.1094/PDIS-02-19-0275-PDN>
- Mu D., N. Du and J. J. Zwiazek (2021) Inoculation with ericoid mycorrhizal associations alleviates drought stress in lowland and upland velvetleaf blueberry (*Vaccinium myrtilloides*) seedlings. *Plants* 10:2786, <https://doi.org/10.3390/plants10122786>
- Ortega L. M. P. (2008) Propagación simbiótica de orquídeas terrestres con fines de restauración edafocológica. In: Técnicas de Estudio de las Asociaciones Micorrízicas y sus Implicaciones en la Restauración. J. Álvarez-Sánchez y A. Monroy A. (comps.). Facultad de Ciencias, UNAM. Ciudad de México. pp:85-96.
- Ozimek E. and A. Hanaka (2021) *Mortierella* species as the plant growth promoting fungi present in the agricultural soils. *Agriculture* 11:7, <https://doi.org/10.3390/agriculture11010007>
- Ozimek E., J. Jaroszuk-Ścisł, J. Bohacz, T. Kornilowicz-Kowalska, R. Tyśkiewicz, A. Slomka, ... and A. Hanaka (2018) Synthesis of indolacetic acid, gibberellic acid and ACC-deaminase by *Mortierella* strains promote winter wheat seedlings growth under different conditions. *International Journal of Molecular Sciences* 19:3218, <https://doi.org/10.3390/ijms19103218>
- Pescie M. A., M. Fradkin, R. S. Lavado and V. M. Chiochio (2021) Endophytic fungi in blueberry cultivars, in three production areas of Argentina. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 115:101662, <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2021.101662>
- Pescie M. A., M. Montecchia, R. S. Lavado and V. M. Chiochio (2023) Inoculation with *Oidiodendron maius* BP improves nitrogen absorption from fertilizer and growth of *Vaccinium corymbosum* during the early nursery stage. *Plants* 12:792, <https://doi.org/10.3390/plants12040792>
- Piacentini D., G. Falasca, S. Canepari, and L. Massimi (2019) Potential of PM-selected components to induce oxidative stress and root system alteration in a plant model organism. *Environment International* 132:105094, <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105094>
- Pieterse C. M. J., D. Van der Does, C. Zamioudis, A. León-Reyes and S. C. M. Van Wees (2012) Hormonal modulation of plant immunity. *Annual Review of Cell and Developmental Biology* 28:489-521, <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-092910-154055>
- Ramos-Bell S., L. G. Hernández-Montiel, R. M. Velázquez-Estrada, J. A. Herrera-González and P. Gutiérrez-Martínez (2022) Potential of *Debaryomyces hansenii* strains on the inhibition of *Botrytis cinerea* in blueberry fruits (*Vaccinium corymbosum* L.). *Horticulturae* 8:1125, <https://doi.org/10.3390/horticulturae8121125>
- Read D. J. (1996) The structure and function of the ericoid mycorrhizal root. *Annals of Botany* 77:365-374, <https://doi.org/10.1006/anbo.1996.0044>
- Sambrook J. and D. W. Russell (2001) Molecular Cloning: A Laboratory Manual. Vol. 1. Third edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York, USA. 373 p.
- Sánchez-Fernández R. E., B. L. Sánchez-Ortiz, Y. K. M. Sandoval-Espinoza, A. Ulloa-Benítez, B. Armendáriz-Guillen, M. C. García-Méndez y M. L. Macías-Rubalcava (2013) Hongos endófitos: fuente potencial de metabolitos secundarios bioactivos con utilidad en agricultura y medicina. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas* 16:132-146, [https://doi.org/10.1016/S1405-888X\(13\)72084-9](https://doi.org/10.1016/S1405-888X(13)72084-9)
- SIAP, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (2022) Panorama Agroalimentario 2022. Servicio de Información Agroalimentaria

- y Pesquera, Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. Ciudad de México. 215 p.
- Surono and K. Narisawa (2021) The cellulolytic activity and symbiotic potential of dark septate endophytic fungus *Phialocephala fortinii* to promote non-mycorrhizal plants growth. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* 648:012165, <https://doi.org/10.1088/1755-1315/648/1/012165>
- Swarts N. D., E. A. Sinclair, A. Francis and K. W. Dixon (2010) Ecological specialization in mycorrhizal symbiosis leads to rarity in an endangered orchid. *Molecular Ecology* 19:3226-3242, <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2010.04736.x>
- Van Geel M., H. Jacquemyn, G. Peeters, K. van Acker, O. Honnay and T. Ceulemans (2020) Diversity and community structure of ericoid mycorrhizal fungi in European bogs and heathlands across a gradient of nitrogen deposition. *New Phytologist* 228:1640-1651, <https://doi.org/10.1111/nph.16789>
- Vohník M., M. Pánek, J. Fehrer and M. A. Selosse (2016) Experimental evidence of ericoid mycorrhizal potential within Serendipitaceae (Sebacinales). *Mycorrhiza* 26:831-846, <https://doi.org/10.1007/s00572-016-0717-0>
- Wang F., S. Saito, T. J. Michailides and C. L. Xiao (2021) Postharvest use of natamycin to control *Alternaria* rot on blueberry fruit caused by *Alternaria alternata* and *A. arborescens*. *Postharvest Biology and Technology* 172:111383, <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2020.111383>
- Wenke K., J. Kopka, J. Schwachtje, J. van Dongen and B. Piechulla (2019) Volatiles of rhizobacteria *Serratia* and *Stenotrophomonas* alter growth and metabolite composition of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Biology* 21:109-119, <https://doi.org/10.1111/plb.12878>
- White T. J., T. Bruns, S. Lee and J. Taylor (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: PCR Protocols. A Guide to Methods and Applications. M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky and T. J. White (eds.). Academic Press. San Diego, California, USA. pp:315-322, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-372180-8.50042-1>
- Yadav D. R., S. W. Kim, A. G. Babu, M. Adhikari, C. Kim, H. B. Lee and Y. S. Lee (2014) First report of *Mortierella alpina* (Mortierellaceae, Zygomycota) isolated from crop field soil in Korea. *Mycobiology* 42:401-404, <https://doi.org/10.5941/MYCO.2014.42.4.401>
- Yadav A. N., V. Kumar, H. S. Dhaliwal, R. Prasad and A. K. Saxena (2018) Microbiome in crops: diversity, distribution, and potential role in crop improvement. In: Crop Improvement through Microbial Biotechnology: New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering. R. Prasad, S. S. Gill and N. Tuteja (eds.). Elsevier. Amsterdam, The Netherlands. pp:305-332, <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63987-5.00015-3>