

IMPACT OF A SHIFT FROM CONVENTIONAL TO ORGANIC WHEAT FARMING ON SOIL CULTIVABLE FUNGAL COMMUNITIES IN THE YAQUI VALLEY, MEXICO

IMPACTO DEL CAMBIO EN EL MANEJO DEL CULTIVO DE TRIGO DE CONVENCIONAL A ORGÁNICO SOBRE LAS COMUNIDADES FÚNGICAS CULTIVABLES DEL SUELO EN EL VALLE DEL YAQUI, MÉXICO

Arlett Leticia **Ibarra-Villarreal**¹, Fannie Isela **Parra-Cota**², Enrico A. **Yepez**¹, Marco Antonio **Gutiérrez-Coronado**¹, Luis Carlos **Valdez-Torres**¹, Sergio **de los Santos-Villalobos**^{1*}

¹Instituto Tecnológico de Sonora 5 de Febrero 818 Sur, C.P. 85000, Colonia Centro, Ciudad Obregón, Sonora, México. ²Campo Experimental Norman E. Borlaug-INIFAP Norman E. Borlaug Km 12, C.P. 85000, Ciudad Obregón, Sonora, México. (sergio.delossantos@itson.edu.mx).

ABSTRACT

In the Yaqui Valley, the use of organic fertilizers tends to reduce soil degradation in wheat production; however, biological impacts of this practice on soils are not evaluated yet. The aim of this experiment was to quantify the impact of a shift from conventional to organic wheat farming on reduction of the soil fungal degradation, by analyzing cultivable soil fungal population and diversity. The hypothesis was that the input of organic fertilizers to wheat farming leads to positive changes on soil physicochemical properties, which benefits soil fungal populations and decrease degradation. Three wheat commercial fields under 1) conventional synthetic fertilization (SF), 2) synthetic fertilization plus organic fertilization (SF+OF) and 3) only organic fertilization (OF) were selected. The study site under OF and SF+OF sites *vs.* SF showed higher organic matter content (1.5, 1.6 *vs.* 0.45%), fungal population (1.7×10^5 , 9.1×10^4 *vs.* 1.6×10^4 CFU g⁻¹ dry soil) and diversity (12, 12 *vs.* 2). Based on phylogenetic analysis, 9, 11, and 2 fungal genera were isolated from the study site under organic, synthetic + organic, and synthetic fertilization, respectively. The metabolic diversity of obtained fungal strains showed that the indole production ranged from 0.5 to 65.4 µg mL⁻¹ where the higher fungal indole producer was *Stachybotrys* sp. TSM35. The higher phosphate solubilization (21%) was observed by the strain *Talaromyces pinophilus* TSO42, and the higher siderophore producer strain was *Volutella ciliata* TSM43, 33.9%. In addition, 60% of the

RESUMEN

El uso de fertilizantes orgánicos en el Valle del Yaqui tiende a reducir la degradación del suelo en la producción de trigo, sin embargo, todavía no se han evaluado los impactos biológicos de esta práctica en el suelo. El objetivo de este experimento fue cuantificar el impacto del cambio en el manejo del cultivo de trigo, de convencional a orgánico, sobre la reducción de la degradación fúngica del suelo, por medio del análisis de sus poblaciones fúngicas cultivables y su diversidad. La hipótesis fue que la aportación de fertilizantes orgánicos al cultivo de trigo produce cambios positivos en las propiedades fisicoquímicas del suelo, lo cual beneficia a las poblaciones de hongos, y disminuye su degradación. Tres campos comerciales de trigo se seleccionaron con 1) fertilización sintética convencional (SF), 2) fertilización sintética más fertilización orgánica (SF+OF) y 3) sólo fertilización orgánica (OF). Los sitios de estudio bajo OF y SF+OF *vs.* SF mostraron mayores, contenidos de materia orgánica (1.5, 1.6 *vs.* 0.45%), población de hongos (1.7×10^5 , 9.1×10^4 *vs.* 1.6×10^4 CFU g⁻¹ de suelo seco) y diversidad (12, 12 *vs.* 2). Con base en el análisis filogenético, se aislaron 9, 11 y 2 géneros de hongos de los sitios de estudio bajo fertilización orgánica, sintética + orgánica y sintética, respectivamente. La diversidad metabólica de las cepas fúngicas obtenidas mostró que la producción de indoles osciló entre 0.5 y 65.4 µg mL⁻¹; el hongo *Stachybotrys* sp. TSM35 fue el productor de indoles mayor. La solubilización de fosfatos mayor (21%) se observó en la cepa *Talaromyces pinophilus* TSO42 y la cepa con producción de sideróforos mayor (33.9%) fue *Volutella ciliata* TSM43. Además, el 60% de las cepas mostraron riesgos potenciales para la salud (α - o β -hemólisis). La rotación de convencional a orgánico en el cultivo del trigo logró cambios positivos en las propiedades fisicoquímicas del suelo, en la diversidad

* Author for correspondence ♦ Autor para correspondencia.

Received: June, 2019. Approved: December, 2019.

Published as ARTICLE in *Agrociencia* 54: 643-659. 2020.

strains showed potential health risks (α - or β -hemolysis). Shift from conventional to organic wheat farming accomplished positive changes on soil physicochemical properties and cultivable soil fungal populations, in diversity and metabolic traits. Microbiologic quality control of organic fertilizers is needed to avoid microbial hazards in agronomic systems, caused by the introduction of potentially pathogenic strains.

Key words: farming practices, organic matter, fungal diversity, biofertilizers, pathogens.

INTRODUCTION

The Yaqui Valley, located in the state of Sonora (Mexico), contributes with 49% of the national wheat production (1.7×10^6 Mg y^{-1}) (SIAP-SAGARPA, 2018). In this region, agricultural practices have evolved towards maintaining or increasing the wheat productivity (~ 7.0 Mg ha^{-1}) by application of high amounts of synthetic fertilizers, *i.e.* nitrogen (N) (263 kg ha^{-1} , which has increased 25% from 1980 to 2000), P_2O_5 (120 kg ha^{-1}), and K_2O (60 kg ha^{-1}) (Matson, 2012). This intensive agricultural practice combined with semi-arid climatic conditions in the Yaqui Valley probably had negatively impacted the soil fertility, causing low organic matter content ($<1\%$), and saline (>4 dS m^{-1}) or alkaline (pH 8.1) soils.

In addition, in that region, the uptake of applied synthetic fertilizers by wheat is low, *i.e.* the N use efficiency is about 38% (Cortés *et al.*, 2011), which generates high economic costs for farmers due to synthetic fertilizers represent 32.7% of the total cost for wheat production. But also, environmental hazards by N leaching and volatilization, producing greenhouse gasses, pollution of groundwater, and ecological and nutrimental imbalances in soils (Cortés *et al.*, 2011; Santiago *et al.*, 2017). In order to reduce these economic and environmental risks, farmers have chosen the application of organic fertilizers to wheat, which improves the soil structure and porosity, water retention capacity, and nutrient bioavailability (Priyadharsini and Muthukumar, 2015).

However, the application of organic fertilizers also modifies the structure, and functional and genetic diversity of the native soil microbiota in agronomic systems (Matson, 2012), which is involved in vital eco-systemic services for the biosphere, such as:

y características metabólicas de las poblaciones fúngicas cultivable. El control de la calidad microbiológica de los fertilizantes orgánicos se necesita para evitar riesgos microbiológicos en los sistemas agronómicos, causados por la introducción de cepas con potencial patogénico.

Palabras clave: prácticas agrícolas, materia orgánica, diversidad de hongos, biofertilizantes, patógenos.

INTRODUCCIÓN

El Valle del Yaqui, situado en el estado de Sonora (México), contribuye con el 49% de la producción nacional de trigo (1.7×10^6 Mg y^{-1}) (SIAP-SAGARPA, 2018). En esta región, las prácticas agrícolas han evolucionado hacia el mantenimiento o el aumento de la productividad del trigo (~ 7.0 Mg ha^{-1}), por medio de la aplicación de cantidades altas de fertilizantes sintéticos, *i.e.* nitrógeno (N), cuya aplicación incrementó en un 25% (263 kg ha^{-1}) de 1980 a 2000; P_2O_5 (120 kg ha^{-1}) y K_2O (60 kg ha^{-1}) (Matson, 2012). Esta práctica agrícola intensiva combinada con las condiciones climáticas semiáridas en el Valle del Yaqui es probable que tuvo un impacto negativo en la fertilidad de sus suelos, al causar un contenido bajo de materia orgánica ($<1\%$) y suelos salinos (> 4 dS m^{-1}) o alcalinos (pH 8.1).

Además, en dicha región, la absorción por el trigo de los fertilizantes sintéticos aplicados es baja. Por ejemplo, la eficiencia del uso de N es alrededor del 38% (Cortés *et al.*, 2011), lo cual genera costos económicos altos para los agricultores, debido a que los fertilizantes sintéticos representan el 32.7% del costo total de la producción de este cereal. Sin embargo, el uso ineficiente de N genera peligros ambientales por su lixiviación y volatilización que produce gases de efecto invernadero, contaminación de las aguas subterráneas y desequilibrios ecológicos y nutricionales en los suelos (Cortés *et al.*, 2011; Santiago *et al.*, 2017). Para reducir estos riesgos económicos y ambientales, los agricultores han optado por la aplicación de fertilizantes orgánicos al cultivo de trigo, los cuales mejoran la estructura y la porosidad del suelo, la capacidad de retención de agua y la biodisponibilidad de los nutrimentos (Priyadharsini y Muthukumar, 2015).

Además, la aplicación de fertilizantes orgánicos también modifica la estructura y la diversidad funcional y genética de la microbiota nativa del suelo en los

transformation of organic matter, nutrient cycling, formation and aeration of soil aggregates, carbon sequestration, xenobiotic bioremediation, and growth regulation of plants and phytopathogens (de los Santos-Villalobos *et al.*, 2018).

Within this microbiota, fungi represent a diverse group of living organisms playing essential roles in agronomic systems, *i.e.* organic matter decomposition, biological control of phytopathogens, and plant growth regulation, by phosphatase activity, succinate, citrate, and lactate production, siderophore biosynthesis, phytohormones production, and activity of hydrolytic enzymes (de los Santos-Villalobos *et al.*, 2013; Priyadharsini and Muthukumar, 2015). However, the incorporation of organic fertilizers with different nutrients composition and quality modifies the fungal microbiota.

Organic fertilizers containing a low C:N ratio (from 20 to 40) favors the short term activation of fungal communities involved in the decomposition of manure, green debris or fresh compost, litter wastes, and root exudates (sugars, starches, and proteins). Organic fertilizers with a high C:N ratio (>80) help the long term activation of fungal communities specialized in decomposition of straw, woody debris or mature compost (cellulose, fats, waxes, resins and lignin) (Leite *et al.*, 2017).

Soil fungal community modifications and their metabolic regulations generated by organic fertilizer applications need to be studied in order to avoid fungal degradation, a key factor driving the soil to limited food production (Mulvaney *et al.*, 2014). In addition, the identification of potential ecological and environmental roles of resulting fungal communities, focused on increasing the crop productivity and quality without potential pathogenic hazards for plants, animals or human (de los Santos-Villalobos *et al.*, 2018); since fungi represent 70% of the total edaphic microbiota, and soil can serve as an infection reservoir for pathogenic microorganisms (Priyadharsini and Muthukumar, 2015).

The aim of this experiment was to quantify the impact of a shift from conventional to organic wheat farming on mitigation of soil fungal degradation, analyzing several approaches, such as: cultivable soil fungal population and diversity, as well as the metabolic traits of resulting strains to identify promising plant growth promoting fungi and phytopathogens. Hypothesis was that the input

sistemas agronómicos (Matson, 2012). Esta participa en diversos servicios ecosistémicos vitales para la biósfera, como la transformación de la materia orgánica, el ciclaje de los nutrientes, la formación y la aireación de los agregados del suelo, el secuestro de carbono, la biorremediación de compuestos xenobióticos y la regulación del crecimiento de los cultivos y microorganismos fitopatógenos (de los Santos-Villalobos *et al.*, 2018).

Dentro de esta microbiota, los hongos representan un grupo diverso de organismos vivos que desempeñan funciones esenciales en los sistemas agronómicos, *i.e.* la descomposición de la materia orgánica, el control biológico de fitopatógenos y la regulación del crecimiento de las plantas, por medio de la actividad de fosfatasas, la producción de succinato, citrato y lactato, la biosíntesis de sideróforos, la producción de fitohormonas y la actividad de las enzimas hidrolíticas (de los Santos-Villalobos *et al.*, 2013; Priyadharsini y Muthukumar, 2015). Sin embargo, la incorporación de fertilizantes orgánicos con diferente composición y calidad de nutrientes modifica la microbiota fúngica del suelo.

Los fertilizantes orgánicos que contienen una baja relación C:N (de 20 a 40) favorecen la activación a corto plazo de las comunidades fúngicas que intervienen en la descomposición del estiércol, los desechos verdes o la composta fresca, los desechos de la hojarasca y los exudados de las raíces (azúcares, almidones y proteínas). Los fertilizantes orgánicos con una elevada relación C:N (>80) ayudan a la activación a largo plazo de las comunidades fúngicas especializadas en la descomposición del rastrojo, los desechos leñosos o la composta madura (celulosa, grasas, ceras, resinas y lignina) (Leite *et al.*, 2017).

Por eso es necesario estudiar las modificaciones de la comunidad fúngica del suelo y sus regulaciones metabólicas generadas por las aplicaciones de fertilizantes orgánicos a fin de evitar la degradación de dichas comunidades, un factor clave para la producción sostenible de alimentos (Mulvaney *et al.*, 2014). Además, es determinante la identificación de las funciones ecológicas y ambientales de las comunidades fúngicas resultantes involucradas en el aumento de la productividad y la calidad de los cultivos, sin riesgos de contaminación por patógenos a plantas, animales o humanos (de los Santos-Villalobos *et al.*, 2018), dado que los hongos representan el 70% del total de la microbiota edáfica y el suelo puede servir como un

of organic fertilizers to wheat farming leads to positive changes on soil physicochemical properties, which benefit soil fungal populations and decrease degradation.

MATERIALS AND METHODS

Sampling sites

This study was carried out selecting three 5 ha- wheat commercial fields (during the 2014 autumn-winter cycle), located at the Yaqui Valley, Sonora (26° 45'-27° 33' N and 109° 30'-110° 37'). These fields received different agricultural practices in terms of fertilizer sources applied to wheat: 1) conventional synthetic fertilizer (SF), 2) synthetic fertilizer plus organic fertilizer (SF+OF), and 3) organic fertilizer (OF). The studied wheat commercial fields received the incorporation of those sources of fertilizers, for long periods of time. The site under SF received the application of ammonia gas and phosphorus for 40 y. The site under SF + OF was managed under SF for 15 y, and the next 25 y it received the application of urea, phosphorus, and bat guano. The study site under OF incorporated chicken manure, earthworm humus, and fish concentrate for 10 y to soil (and the previous 30 y was managed under SF).

Although, for years, study sites incorporated different sources of nutrients, regularly received similar nutrients amounts according to the wheat nutrimental requirements (N, 263 kg ha⁻¹; P, 120 kg ha⁻¹; and K, 60 kg ha⁻¹) (Cortés *et al.*, 2011). Additionally, all sites had the same conventional tillage (subsoiling, fallow, and leveling), irrigation (four times, 13 cm irrigation per time), and planting density (180 kg ha⁻¹), resulting in similar wheat yields (~7 Mg ha⁻¹).

Four composite soil samples by triplicate of each study site were collected (30 cm depth). Samples collected for physicochemical and nutrimental analyses were transferred to paper bags to dry (60 °C), and then analyzed according to NOM-021-SEMARNAT-2000; while those collected for microbiological analysis (fungal population and diversity) were placed in moist chambers and transported in a cooler at 4 °C (de los Santos-Villalobos *et al.*, 2013).

Fungal isolation

This experiment was performed by serial dilutions (1:10) method until 10⁻⁴. Thus, 10 g of soil were homogenized, during 1 h at 12 x g (using a Lab Companion AAH23475U rotary shaker), with 90 mL of sterile distilled water (121 °C and 103.42 kPa for 15 min). Later, 1 mL of each dilution was inoculated on Petri dishes containing Potato Dextrose Agar as culture medium,

reservorio de microorganismos patógenos (Priyadharsini *et al.*, 2015).

El objetivo de este estudio fue cuantificar el impacto del cambio en el sistema de producción de trigo, de forma convencional a orgánica, sobre la mitigación de la degradación de las poblaciones fúngicas cultivables del suelo, por medio de analizar enfoques tales como la diversidad de las poblaciones de hongos edáficos, así como las características metabólicas de las cepas resultantes, para identificar hongos promotores del crecimiento vegetal o patógenos potenciales. La hipótesis fue que la aportación de fertilizantes orgánicos al cultivo de trigo produce cambios positivos en las propiedades fisicoquímicas del suelo, lo cual beneficia a las poblaciones de hongos, y disminuye su degradación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitios de muestreo

Para realizar este estudio se seleccionaron tres campos comerciales de trigo de 5 ha (durante el ciclo otoño-invierno de 2014), situados en el Valle del Yaqui, Sonora (26° 45'-27° 33' N y 109° 30'-110° 37'). Los campos se sujetaron a prácticas agrícolas diferentes en cuanto a las fuentes de fertilizantes aplicados al trigo: 1) fertilizante sintético convencional (SF), 2) fertilizante sintético más fertilizante orgánico (SF+OF) y 3) fertilizante orgánico (OF). Los campos comerciales de trigo estudiados recibieron la incorporación de estas fuentes de fertilizantes durante períodos de tiempo largos. El sitio bajo SF recibió la aplicación de gas de amonio y fósforo durante 40 años. El sitio bajo SF + OF se manejó bajo SF durante 15 años y los siguientes 25 años recibió la aplicación de urea, fósforo y guano de murciélago. El sitio de estudio bajo OF incorporó estiércol de pollo, humus de lombriz y concentrado de pescado al suelo durante 10 años (y los 30 años anteriores se manejó bajo SF).

Aunque durante años los sitios de estudio incorporaron fuentes de nutrimentos diferentes, recibieron en forma regular cantidades similares de nutrimentos de acuerdo con los requerimientos nutricionales del trigo (N, 263 kg ha⁻¹; P, 120 kg ha⁻¹; y K, 60 kg ha⁻¹) (Cortés *et al.*, 2011). Además, todos los sitios tuvieron la misma labranza convencional (subsulado, barbecho y nivelación), riego (cuatro veces, 13 cm de riego cada vez) y densidad de siembra (180 kg ha⁻¹), todo lo cual dio como resultado rendimientos de trigo similares (~ 7 Mg ha⁻¹).

Cuatro muestras compuestas de suelo se recolectaron por triplicado de cada sitio de estudio (30 cm de profundidad). Las muestras para los análisis fisicoquímicos y nutricionales se

supplemented with 80 $\mu\text{g mL}^{-1}$ of nalidixic acid. Inoculated Petri dishes were incubated for 2 d, at 28 °C, and Colony Forming Units (CFU) were counted and isolated in order to estimate the fungal population and the macroscopic and microscopic diversity (based on single-spored isolates) for each study site. All obtained fungal isolates were preserved in Colección de Microorganismos Edáficos y Endófitos Nativos (COLMENA, www.itson.edu.mx/COLMENA) (de los Santos-Villalobos *et al.*, 2018).

Molecular identification of fungal isolates

Genomic DNA was extracted from obtained fungal isolates showing different macroscopic and microscopic traits, using the phenol-chloroform method reported by de los Santos-Villalobos *et al.* (2012). The 5.8S rRNA gene amplification was carried out using 50 μL PCR mixture, containing 100 ng genomic DNA as template, 0.2 μmol of ITS1F (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') and ITS4R (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') primers, and 4 U MyTaq DNA polymerase (Bioline). The PCR had an initial denaturation step at 94 °C (3 min), 35 cycles of denaturation at 94 °C (30 s), followed by annealing at 55 °C (30 s), and extension at 72 °C (1 min), and a final step at 72 °C (10 min). The PCR products were analyzed by electrophoresis on 2% agarose-TAE gel, and the expected amplicons were sequenced by the Sanger platform (Sanger ABI 3730 XL, Applied Biosystem).

The obtained DNA sequences were edited and analyzed using the software FinchTV 1.4.0 by Geospiza, Seattle, WA; and BLAST (NCBI, www.ncbi.nlm.nih.gov), respectively. In addition, obtained DNA sequences were aligned with ClustalX 2.0.12 (<http://www.clustal.org/>), and analyzed using MEGA 7.0 by the Neighbor-Joining method. 5.8S rRNA sequences of *Coemansia aciculifera* (JN942676) and *Syncephalis depressa* (KY001699) were used as the outgroup. Stability of clades was assessed with 1000 bootstrap replications.

Indoles production

The production of indole compounds was quantified by a colorimetric experiment described by de los Santos-Villalobos *et al.* (2013). 1×10^6 spores of each isolate were inoculated in 10 mL of nutrient broth, supplemented with 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ tryptophan, and incubated at 28 °C for 5 d at 12 x g (using a Lab Companion AAH23475U rotary shaker). After the incubation period, the cellular culture was centrifuged at 14000 x g (using a Labnet Hermle Z446K centrifuge) for 10 min, and the supernatant was mixed in a 1:2 volume ratio with Salkowsky reagent, incubating for 30 min in the dark at room temperature. The quantification of the total indole produced by isolates were analyzed at 540 nm in a Biotek ELx800 spectrometer, using an indole acetic acid standard curve (2, 4, 6, 8, 10, 15, 20, 25, 50 y 75 $\mu\text{g mL}^{-1}$).

transfirieron a bolsas de papel para secarlas (60 °C) y luego se analizaron de acuerdo con la NOM-021-SEMARNAT-2000; mientras que las muestras colectadas para los análisis microbiológicos (poblaciones fúngicas y diversidad) se colocaron en cámaras húmedas y transportaron en una hielera a 4 °C (de los Santos-Villalobos *et al.*, 2013).

Aislamiento fúngico

Este experimento se realizó por el método de diluciones en serie (1:10) hasta 10^{-4} . Así, se homogeneizaron 10 g de suelo, durante 1 hora a 12 x g (en un agitador rotatorio, Lab Companion AAH23475U), con 90 mL de agua destilada estéril (121 °C y 103.42 kPa durante 15 min). Después, se inoculó 1 mL de cada dilución en cajas Petri que contenían agar dextrosa de papa (PDA) como medio de cultivo, complementado con 80 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de ácido nalidíxico. Las cajas Petri inoculadas se incubaron durante 2 d a 28 °C y se contaron y aislaron las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) para estimar la población de hongos y la diversidad macroscópica y microscópica (basada en aislamientos de esporulación única) para cada sitio de estudio. Todos los aislados fúngicos obtenidos se conservaron en la Colección de Microorganismos Edáficos y Endófitos Nativos (COLMENA, www.itson.edu.mx/COLMENA) (de los Santos-Villalobos *et al.*, 2018).

Identificación molecular de los aislados fúngicos

El ADN genómico se extrajo de aislados fúngicos obtenidos que mostraban diferentes rasgos macroscópicos y microscópicos, con el método de fenol-cloroformo documentado por de los Santos-Villalobos *et al.* (2012). La amplificación del gen 5.8S rRNA se llevó a cabo con el uso de una mezcla de PCR de 50 μL , que contenía 100 ng de ADN genómico como molde, 0.2 μmol de los iniciadores ITS1F (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') e ITS4R (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') y 4 U de ADN polimerasa MyTaq (Bioline). La PCR tuvo un paso de desnaturalización inicial a 94 °C (3 min), 35 ciclos de desnaturalización a 94 °C (30 s), seguidos de un alineamiento a 55 °C (30 s), una extensión a 72 °C (1 min) y finalización a 72 °C (10 min). Los productos de la PCR se analizaron por electroforesis en un gel de agarosa TAE al 2% y los amplicones esperados se secuenciaron por medio de la plataforma Sanger (Sanger ABI 3730 XL, Applied Biosystem).

Las secuencias de ADN obtenidas se editaron y analizaron con el software FinchTV 1.4.0 (Geospiza, Seattle, WA) y BLAST (NCBI, www.ncbi.nlm.nih.gov), respectivamente. Además, las secuencias de ADN obtenidas se alinearon con ClustalX 2.0.12 (<http://www.clustal.org/>) y analizaron con MEGA 7.0, por el método de unión de vecinos (Neighbor-Joining). Secuencias de los genes 5.8S rRNA de *Coemansia aciculifera* (JN942676) y *Syncephalis depressa* (KY001699) se utilizaron como grupo externo. La estabilidad de los clados se evaluó con 1000 réplicas bootstrap.

Production of siderophore

Siderophore production by fungal isolates was quantified using CAS- agar (Chromo Azurol S). 1×10^6 spores of each isolate were inoculated in Petri dishes containing the culture medium mentioned previously, and incubated at 28 °C during 7 d, then the presence of an orange-yellow halo was observed. CAS-agar was prepared by combining four sterile solutions (121 °C and 103.42 kPa for 15 min). The Fe-CAS indicator solution (solution 1) was prepared with 10 mL of 1 mM FeCl_3 (dissolved in 1 mM HCl) and 50 mL of CAS (1.21 mg mL^{-1}), then 40 mL of CTAB (1.82 mg mL^{-1}) were added to the resulting blue solution.

The buffer solution (solution 2) was prepared by dissolving 30.24 g of PIPES in 750 mL salt solution (0.3 g KH_2PO_4 , 0.5 g NaCl, and 1 g NH_4Cl), the pH was adjusted to 6.8 with KOH at 500 g L^{-1} , the volume was adjusted to 800 mL, and 15 g agar was added. Solution 3 was prepared by dissolving 2 g glucose, 2 g mannitol, 493 mg MgSO_4 , 11 mg CaCl_2 , 1.17 mg MnSO_4 , 1.4 mg H_3BO_3 , 0.04 mg CuSO_4 , 1.2 mg ZnSO_4 , and 1 mg Na_2MoO_4 in 70 mL of water. Finally, a solution of 30 mL of 100 g L^{-1} casamino acids was sterilized by filtration (solution 4). All solutions were mixed carefully adding at the end the solution 1 (de los Santos-Villalobos *et al.*, 2012).

Solubilization of phosphates

Spores of each fungal isolate (1×10^6) were inoculated on Petri dishes containing Pikovskaya culture medium [0.5 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0.2 g NaCl, 0.1 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.2 g KCl, 0.002 g $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, and 0.002 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$] supplemented with 5 g $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, 10 g glucose, 0.5 g yeast extract, 15 g agar, 0.025 g bromophenol blue. The final volume was adjusted to 1000 mL with distilled water, and pH at 7.0. This culture medium was sterilized at 121 °C and 103.42 kPa for 15 min. The presence of a white-translucid halo by inoculated fungal isolates was observed after 7 d of incubation at 28 °C (Onyia and Anyanwu, 2013). The siderophore production and phosphate solubilization by fungal isolates was quantified using the following equation:

$$\% \text{ Siderophores production or phosphate solubilization} = ((H_1 - H_2) / H_2) \times 100$$

H_1 = diameter of halo.

H_2 = diameter of the fungal colony.

Hemolysis

Petri dishes containing blood agar (Becton Dickinson) were inoculated with 1×10^6 spores of each obtained fungal isolate, and

Producción de indoles

La producción de compuestos indólicos se cuantificó por medio de un experimento colorimétrico descrito por de los Santos-Villalobos *et al.* (2013). De cada aislado fúngico se inocularon 1×10^6 esporas en 10 mL de caldo nutritivo, y se complementaron con $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ de triptófano, e incubaron a 28 °C durante 5 d a $12 \times \text{g}$ (con un agitador rotatorio, Lab Companion AAH23475U). Después del período de incubación, el cultivo celular se centrifugó a $14000 \times \text{g}$ (Labnet Hermle Z446K) durante 10 min, y el sobrenadante se mezcló en una relación de volumen de 1:2 con el reactivo Salkowsky, para incubar durante 30 min en la oscuridad a temperatura ambiente. La cuantificación de los indoles totales producidos por los aislados fúngicos se analizó a 540 nm en un espectrómetro Biotek ELx800, con el uso de una curva estándar de ácido indol acético (2, 4, 6, 8, 10, 15, 20, 25, 50 y $75 \mu\text{g mL}^{-1}$).

Producción de sideróforos

La producción de sideróforos por los aislados fúngicos obtenidos se cuantificó con el uso del agar CAS (Chromo Azurol S). De cada aislado se inocularon 1×10^6 esporas en cajas Petri que contenían el medio de cultivo mencionado anteriormente y se incubaron a 28 °C durante 7 d; se observó entonces la presencia de un halo amarillo-anaranjado. El agar CAS se preparó con la combinación de cuatro soluciones estériles (121 °C y 103.42 kPa durante 15 min). La solución indicadora de Fe-CAS (solución 1) se preparó con 10 mL de 1 mM de FeCl_3 (disuelto en 1 mM de HCl) y 50 mL de CAS (1.21 mg mL^{-1}), luego se añadieron 40 mL de CTAB (1.82 mg mL^{-1}) a la solución azul resultante.

La solución amortiguadora (solución 2) se preparó con 30.24 g de PIPES en 750 mL de solución salina (0.3 g de KH_2PO_4 , 0.5 g de NaCl y 1 g de NH_4Cl), el pH se ajustó a 6.8 con KOH a 500 g L^{-1} , el volumen se ajustó a 800 mL y se añadieron 15 g de agar. La solución 3 se preparó con la disolución de 2 g de glucosa, 2 g de manitol, 493 mg de MgSO_4 , 11 mg de CaCl_2 , 1.17 mg de MnSO_4 , 1.4 mg de H_3BO_3 , 0.04 mg de CuSO_4 , 1.2 mg de ZnSO_4 y 1 mg de Na_2MoO_4 en 70 mL de agua. Por último, una solución de 30 mL de 100 g L^{-1} de casaminoácidos (solución 4) se esterilizó por filtración. Todas las soluciones se mezclaron con cuidado con la adición final de la solución 1 (de los Santos-Villalobos *et al.*, 2012).

Solubilización de fosfatos

Esporas de cada aislado fúngico (1×10^6) se inocularon en cajas Petri que contenían el medio de cultivo Pikovskaya [0.5 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0.2 g NaCl, 0.1 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.2 g KCl, 0.002 g $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ y 0.002 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$] complementados con 5 g

incubated at 28 °C for 48 h. Hemolysis was observed with the presence of a clear zone around the fungal colony (β -hemolysis), α -hemolysis was observed by the presence of a dark green halo coloration, and γ -hemolysis did not show any type of halo coloration or alteration of the culture medium (Villa-Rodriguez *et al.*, 2019).

Statistical analyses

All assays were conducted by, at least, three independent replicates. Data were analyzed by one-way analyses of variance (ANOVA) test and Tukey-Kramer method ($p \leq 0.05$), using the Statgraphics Plus software v5.1.

RESULTS AND DISCUSSION

Soil collected in the study site under SF showed typical physicochemical and nutrimental characteristics reported for the Yaqui Valley, where the low concentration of the organic matter (0.45%) and major nutrients in soil (N: $6.10 \mu\text{g mL}^{-1}$, P: $11.07 \mu\text{g mL}^{-1}$, K: $600.23 \mu\text{g mL}^{-1}$), as well as slightly alkaline pH (8.0), helps explain the soil degradation observed in this region (Matson, 2012). On the contrary, incorporation of organic fertilizers to soil showed significant positive impacts on those soil fertility parameters, *i.e.* the study site under OF and SF+OF showed the highest content of soil organic matter (OF and SF+OF *vs.* SF, 1.5% and 1.6% *vs.* 0.45%, respectively), and analyzed major nutrients, compared with the study site under SF (Table 1).

A healthy agricultural soil is one that is capable of supporting the production of food and fiber up to a level and with sufficient quality to meet human requirements, together with continued delivery of other ecosystem services that are essential for maintenance of the quality of life for humans and the conservation of biodiversity. In this study, it was

de $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, 10 g de glucosa, 0.5 g de extracto de levadura, 15 g de agar y 0.025 g de azul de bromofenol. El volumen final se ajustó a 1000 mL con agua destilada y el pH a 7.0. Este medio de cultivo se esterilizó a 121 °C y 103.42 kPa durante 15 min. La presencia de un halo blanco-translúcido generado por el aislado fúngico inoculado se observó después de 7 d de incubación a 28 °C (Onyia y Anyanwu, 2013). La producción de sideróforos y la solubilización de fosfatos por cada aislado fúngico se cuantificaron con la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Producción de sideróforos o solubilización de fosfatos} = ((H_1 - H_2) / H_2) \times 100$$

H_1 = diámetro del halo.

H_2 = diámetro de la colonia fúngica.

Hemólisis

Cajas Petri que contenían agar sangre (Becton Dickinson) se inocularon con 1×10^6 esporas de cada aislado fúngico obtenido y se incubaron a 28 °C durante 48 h. En ellas se observó hemólisis con la presencia de una zona clara alrededor de la colonia fúngica (β -hemólisis), α -hemólisis con la presencia de una coloración verde oscuro del halo, y γ -hemólisis, la cual no mostró ningún tipo de coloración de halo o alteración del medio de cultivo (Villa-Rodriguez *et al.*, 2019).

Análisis estadísticos

Todos los ensayos se hicieron con al menos tres repeticiones independientes. Los datos se analizaron con la prueba de análisis de varianza (ANOVA), el método Tukey-Kramer ($p \leq 0.05$), y el uso del software Statgraphics Plus v5.1.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El suelo recolectado en el sitio de estudio bajo SF mostró características fisicoquímicas y nutricionales

Table 1. Physicochemical and major nutrient characteristics of soil from the three study sites.

Cuadro 1. Características fisicoquímicas y de los principales nutrimentos del suelo de los tres sitios de estudio.

Study site under	Texture	pH	OM %	N	P $\mu\text{g g}^{-1}$	K
SF	Clay	$8.01 \pm 0.15\text{a}$	$0.45 \pm 0.01\text{b}$	$6.10 \pm 0.57\text{b}$	$11.07 \pm 1.00\text{c}$	$600.23 \pm 50.42\text{c}$
SF + OF	Clay	$6.92 \pm 0.05\text{c}$	$1.60 \pm 0.05\text{a}$	$12.08 \pm 0.50\text{a}$	$21.10 \pm 2.51\text{b}$	$900.89 \pm 90.21\text{b}$
OF	Clay	$7.51 \pm 0.05\text{b}$	$1.50 \pm 0.03\text{a}$	$12.12 \pm 0.45\text{a}$	$75.09 \pm 2.00\text{a}$	$1120.98 \pm 30.15\text{a}$

Means with different letter indicate statistical difference (Tukey-Kramer test; $p \leq 0.05$). SF: Conventional synthetic fertilization, SF+OF: Synthetic fertilization + Organic fertilization, and OF: Organic fertilization. ♦ Medias con letra diferente indican diferencia estadística (prueba de Tukey-Kramer; $p \leq 0.05$). SF: Fertilización sintética convencional, SF+OF: Fertilización sintética + Fertilización orgánica, y OF: Fertilización orgánica.

observed a positive impact of the incorporation of organic fertilizers into the soil for increasing, not only its organic matter and nutrients, but also its fungal communities (Figure 1), due to the fungal population and macroscopic-microscopic diversity was higher ($p \leq 0.05$) in the study site under OF (1.7×10^5 CFU g^{-1} dry soil, 12 strains), compared with those under SF + OF (9.1×10^4 CFU g^{-1} dry soil, 12 strains), and SF (1.6×10^4 CFU g^{-1} dry soil, 2 strains).

In addition, the fungal population and diversity showed a positive correlation according to the content of soil organic matter ($R^2=0.815$ and $R^2=0.996$, $p \leq 0.05$), as a consequence of the organic fertilizer application to the agronomic system (Table 1 and Figure 1). These findings could be explained by the use of organic fertilizers as a substrate for native fungi communities, as well as carriers of exogenous microorganisms, where these find a complex habitat that allows a major success in their establishment (Zhen *et al.*, 2014). Organic fertilizers such as bat guano have been reported for containing 3.4×10^3 CFU g^{-1} dry bat guano, and eight different fungal isolates (Ogórek *et al.*, 2016). Chicken manure is also a suitable matrix for the establishment and reproduction of fungal strains of the genus *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Penicillium* and *Rhizopus*,

típicas registradas en el Valle del Yaqui, donde la concentración baja de materia orgánica (0.45%), los nutrimentos principales en el suelo (N: $6.10 \mu g mL^{-1}$, P: $11.07 \mu g mL^{-1}$, K: $600.23 \mu g mL^{-1}$), así como un pH ligeramente alcalino (8.0), ayudan a explicar la degradación del suelo observada en esta región (Mason, 2012). Por el contrario, la incorporación de fertilizantes orgánicos mostró importantes impactos positivos en estos parámetros de fertilidad del suelo, *i.e.* el sitio de estudio bajo OF y SF+OF mostraron los contenidos mayores de materia orgánica en el suelo (OF y SF+OF *vs.* SF, 1.5% y 1.6% *vs.* 0.45%, respectivamente), y de los principales nutrimentos analizados, en comparación con el sitio de estudio bajo SF (Cuadro 1).

Un suelo agrícola sano es aquel que puede sostener la producción de alimentos y fibras hasta niveles y calidad suficientes para satisfacer las necesidades humanas, junto con la prestación continua de otros servicios ecosistémicos que son esenciales para el mantenimiento de la calidad de vida de los seres humanos y la conservación de la biodiversidad. En este estudio, se observó un impacto positivo por la incorporación de fertilizantes orgánicos al suelo para aumentar, no sólo su materia orgánica y nutrimentos, sino también sus comunidades fúngicas (Figura 1),

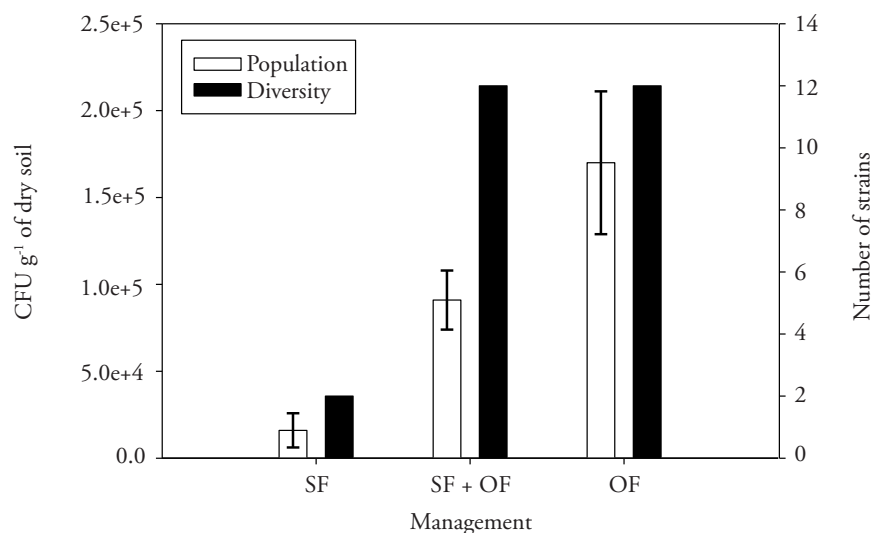


Figure 1. Fungal populations and number of strains isolated from the study sites in the Yaqui Valley. SF: application of ammonia gas and phosphorus; SF + OF: application of urea, phosphorus, and bat guano; and OF: application of chicken manure, earthworm humus, and fish concentrate.

Figura 1. Poblaciones fúngicas y número de cepas aisladas de los sitios de estudio en el Valle del Yaqui. SF: aplicación de gas de amonio y fósforo; SF + OF: aplicación de urea, fósforo y guano de murciélago; y OF: aplicación de estiércol de pollo, humus de lombriz y concentrado de pescado.

which were established in the soil after the organic fertilizer application, suggesting versatile metabolic traits of these genera for tolerating soil biotic and abiotic stresses (Escobar *et al.*, 2012).

Phylogenetic analysis based on the amplification and sequencing of the 5.8S rRNA gene, showed that 17 fungal genera were isolated from the study sites. The genus *Mortierella* and *Setophoma* were isolated from the study site under SF (Figure 2), which indicate that *M. alpina* TSQ32 and *S. terrestris* TSQ33 are adapted to intensive agricultural practices used for wheat production in the Yaqui Valley, such as the application of high amount of synthetic fertilizers. *Mortierella* has been strongly associated to dissolve inorganic phosphate from rock phosphate, releasing or immobilizing this nutrient to the soil solution or into mycelia, under the presence of different sources of synthetic nitrogen fertilizers, such as nitrate or ammonia (Habte and Walter, 2012). *Setophoma terrestris*, the causal agent of pink root rot in green onions, has been isolated from agronomic systems under high temperatures, minimal crop rotation, and low content of soil organic matter; such climate and soil conditions are similar to those observed in the Yaqui Valley.

However, Knapp and Kovács (2016) reported that *S. terrestris* utilizes a wide spectrum of carbon sources, which evidences the high metabolic adaptation of this fungal species to substrates having different organic matter content. That dual ability of *S. terrestris* was observed in this study, due to strains TSQ33 and TSM33 belonging to this species were isolated from soil under SF and SF + OF, suggesting the metabolic versatility of *S. terrestris* to use several sources of organic matter for its growth and development (Figure 2).

The study site under SF + OF showed a higher fungal diversity compared with the study site under SF, confirming that 25 years incorporating bat guano to a study site under SF increases the soil fertility, this is, physicochemical parameters and major nutrients, fungal population and diversity (Table 1, Figure 1, and Figure 2). Eleven fungal (genera or species) were identified at the study site under SF + OF, from which one species (*Setophoma terrestris*) was shared with the study site under SF (Figure 2). In addition, seven (63.6%) strains were site-specific genera or species to the study site under SF + OF, *i.e.* *Stachybotrys* sp. TSM35, *Paramyrothecium*

debido a que la población de hongos y la diversidad macroscópica-microscópica fue mayor ($p \leq 0.05$) en el sitio de estudio bajo OF (1.7×10^5 UFC g^{-1} de suelo seco, 12 cepas) en comparación con los sitios bajo SF + OF (9.1×10^4 UFC g^{-1} de suelo seco, 12 cepas) y SF (1.6×10^4 UFC g^{-1} de suelo seco, 2 cepas).

Además, la población y la diversidad de hongos mostraron una correlación positiva con el contenido de materia orgánica del suelo ($R^2 = 0.815$ y $R^2 = 0.996$, $p \leq 0.05$), como consecuencia de la aplicación de fertilizantes orgánicos al sistema agronómico (Cuadro 1 y Figura 1). Estos hallazgos podrían explicarse por el uso de los fertilizantes orgánicos como sustrato para las comunidades nativas de hongos, así como portadores de microorganismos exógenos, donde éstos encuentran un hábitat complejo que permite un éxito mayor en su establecimiento (Zhen *et al.*, 2014). En los fertilizantes orgánicos como el guano de murciélago se han registrado contenidos de 3.4×10^3 UFC g^{-1} de guano de murciélago seco y ocho aislados diferentes de hongos (Ogórek *et al.*, 2016). El estiércol de pollo es también una matriz adecuada para el establecimiento y la reproducción de cepas de hongos de los géneros *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Penicillium* y *Rhizopus*, que se establecen en el suelo después de la aplicación de fertilizantes orgánicos, lo cual sugiere rasgos metabólicos versátiles de estos géneros que les confieren una tolerancia mayor al estrés por factores bióticos y abióticos del suelo (Escobar *et al.*, 2012).

El análisis filogenético basado en la amplificación y secuenciación del gen 5.8S ARNr mostró que se aislaron 17 géneros de hongos en los sitios de estudio. Los géneros *Mortierella* y *Setophoma* se aislaron del sitio de estudio bajo SF (Figura 2), lo que indica que *M. alpina* TSQ32 y *S. terrestris* TSQ33 están adaptados a las prácticas agrícolas intensivas utilizadas para la producción de trigo en el Valle del Yaqui, tal como la aplicación de una gran cantidad de fertilizantes sintéticos. *Mortierella* muestra una asociación fuerte con la solubilización del fosfato inorgánico a partir de la roca fosfórica, sea por liberar este nutrimento en la solución del suelo o por inmovilizarlo en el micelio, bajo la presencia de diferentes fuentes de fertilizantes nitrogenados sintéticos, como el nitrato o el amonio (Habte y Walter, 2012). *Setophoma terrestris*, el agente causante de la podredumbre rosada de la raíz en las cebollas verdes, se ha aislado de los sistemas agronómicos sujetos a temperaturas altas, rotación mínima de cultivos y contenido bajo de materia orgánica en

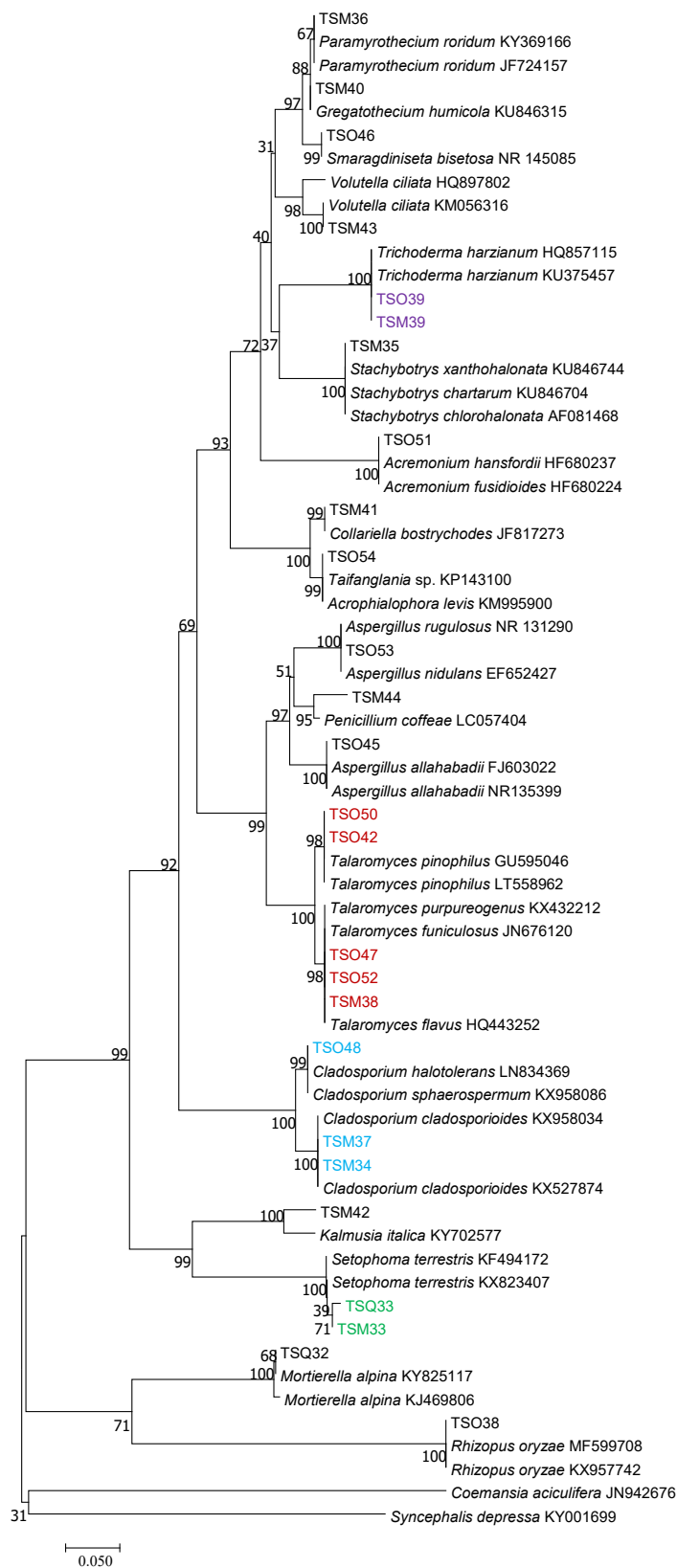


Figure 2. Phylogenetic relationships of obtained fungal strains inferred by neighbor-joining analysis of 5.8S rRNA sequences. *Coemansia aciculifera* (Accession No. JN942676) and *Syncephalis depressa* (Accession No. KY001699) were used as the outgroup. The numbers given over selected branches indicate the percentage of 1000 bootstrap resampled data sets supporting the clade to the right of the branch. Codes indicate the study site where the fungal strains were isolated: TSO = study site under OF, TSM = study site under OF + SF, and TSQ = study site under SF. Strains highlighted with the same color (green, blue, or purple) in different study sites mean that these are shared among them.

Figura 2. Relaciones filogenéticas inferidas con el análisis neighbor joining de las secuencias de 5.8S ARNr de las cepas fúngicas aisladas. *Coemansia aciculifera* (Número de acceso JN942676) y *Syncephalis depressa* (Número de acceso KY001699) se utilizaron como grupo externo. Las cifras sobre las ramas seleccionadas indican el porcentaje de conjuntos de datos remuestreados por los 1000 bootstraps que apoyan el clado a la derecha de la rama. Los códigos indican el sitio de estudio donde se aislaron las cepas de hongos; TSO = sitio de estudio bajo OF, TSM = sitio de estudio bajo OF + SF y TSQ = sitio de estudio bajo SF. Las cepas resaltadas con el mismo color (verde, azul o morado) en sitios diferentes de estudio son cepas compartidas entre ellos.

roridum TSM36, *Gregatothecium humicola* TSM40, *Collariella bostrychodes* TSM41, *Kalmusia italica* TSM42, *Volutella ciliata* TSM43, and *Penicillium coffeae* TSM44 (Figure 2).

Those fungal genera and species have been reported living in biological structures with high content of organic matter, since *Stachybotrys*, *Kalmusia*, *Collariella*, *Paramyrothecium*, and *Gregatothecium* have been isolated as saprophytes that grow on wet cellulose-based materials including cardboard, compost, crop straw, decorticated wood, organic litter, and humus in forest soil (Hernández-Restrepo *et al.*, 2017).

Penicillium has a vital role in soil decomposition process, driving natural cycling of chemical elements; in particular, the carbon cycle. This genus is one of the most abundant and widely distributed fungi in nature, including organic agronomic systems. All seven site-specific genera or species isolated from the study site under SF + OF were strongly associated to the mycobiota of bat guano, where *Penicillium* has been reported as the largest group (75%) of filamentous fungi in that biological matrix (Ogórek *et al.*, 2016).

The remaining three fungal genera (*Cladosporium*, *Talaromyces*, and *Trichoderma*) isolated from the study site under SF + OF were also found in the study site under OF (Figure 2). Those three genera were isolated worldwide as saprophytes on several substrates, especially organic materials undergoing slow decomposition or rotting wood, in different types of soils (Ogórek *et al.*, 2016, Tranchida *et al.*, 2016; de los Santos-Villalobos *et al.*, 2013), such as those organic substrates applied into the soil under OF (bat guano, chicken manure, fish concentrate, and earthworm humus).

In addition, six site-specific genera or species were isolated from the study site under OF, *Aspergillus allahabadii* TSO45, *Smaragdiniseta bisetosa* TSO46, *Rhizopus oryzae* TSO38, *Acremonium* sp. TSO51, *Aspergillus* sp. TSO53, *Acrophialophora* sp. TSO54 (Figure 2). *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Rhizopus*, *Acremonium*, and *Smaragdiniseta* have been isolated and associated to the chicken manure as well as to healthy soils, which is favorable for improving soil quality and inhibiting soil pathogens in agronomic systems (Escobar *et al.*, 2012). Besides, those genera are the most abundant fungi in soil, improving its fertility by degradation and mineralization of straw, wood, and organic matter (Chen *et al.*, 2018).

el suelo; tales condiciones de clima y suelo son similares a las observadas en el Valle del Yaqui.

Sin embargo, Knapp y Kovács (2016) encontraron que *S. terrestris* utiliza un espectro amplio de fuentes de carbono, lo cual evidencia la elevada adaptación metabólica de esta especie de hongo a sustratos con contenidos diferentes de materia orgánica. Esta capacidad doble de *S. terrestris* se observó en este estudio, debido a las cepas TSQ33 y TSM33 pertenecientes a dicha especie fúngica, las cuales se aislaron de suelos bajo SF y SF + OF. Ello sugiere una versatilidad metabólica de esta especie para utilizar fuentes de materia orgánica diversas para su crecimiento y desarrollo (Figura 2).

El sitio de estudio bajo SF + OF mostró una diversidad de hongos mayor en comparación con el sitio bajo SF, lo cual confirma que la incorporación de guano de murciélago a un sitio antes sujeto a SF por 25 años, aumenta la fertilidad del suelo, esto es, los parámetros fisicoquímicos y principales nutrimentos, la población de hongos y su diversidad (Cuadro 1, Figura 1 y Figura 2). Once géneros o especies de hongos se identificaron en el sitio de estudio bajo SF + OF, de los cuales hubo una especie (*Setophoma terrestris*) compartida con el sitio de estudio bajo SF (Figura 2). Además, siete cepas (63.6%) fueron géneros o especies específicas del sitio de estudio bajo SF + OF, *Stachybotrys* sp. TSM35, *Paramyrothecium roridum* TSM36, *Gregatothecium humicola* TSM40, *Collariella bostrychodes* TSM41, *Kalmusia italica* TSM42, *Volutella ciliata* TSM43 y *Penicillium coffeae* TSM44 (Figura 2).

Dichos géneros y especies de hongos se ha encontrado que colonizan estructuras biológicas con contenidos altos de materia orgánica; por ejemplo, *Stachybotrys*, *Kalmusia*, *Collariella*, *Paramyrothecium* y *Gregatothecium* se han aislado como saprofitos que crecen en materiales húmedos de celulosa, como cartón, composta, rastrojo de cultivos, madera sin corteza, hojarasca orgánica y humus en el suelo forestal (Hernández-Restrepo *et al.*, 2017).

El género *Penicillium* tiene una función vital en los procesos de descomposición en el suelo, al impulsar los ciclos naturales de los elementos químicos; en particular, el ciclo del carbono. Este género es uno de los hongos más abundantes y distribuidos con amplitud en la naturaleza y los sistemas agronómicos orgánicos. Los siete géneros específicos del sitio, aislados en el campo de estudio bajo SF + OF estuvieron asociados con la micobiota del guano de murciélago,

Acrophialophora is a soil fungal genus that is widely distributed in temperate and tropical regions, involved in decomposition of compost and other substrates by its capacity to produce large quantities of cellulases and xylanases (Sandoval-Denis *et al.*, 2015). However, this genus includes emerging opportunistic fungi, capable of causing human infections, as it was isolated from some respiratory specimens, and subcutaneous or corneal tissue samples (Sandoval-Denis *et al.*, 2015).

The incorporation of organic fertilizers to agronomic systems (study sites under OF and SF +OF) showed positive impacts on chemical, and biological fertility of soil. However, ecological and environmental roles of the resulting fungal communities, as consequence of organic fertilizer applications, need to be explored for contributing to food safety, without potential fungal hazards by plant, animal, or human pathogens. Thus, a special group of microorganisms (Plant Growth Promoting Microorganisms - PGPM) were studied for their ability to contribute to the soil structure formation, decomposition of organic matter, soil fertility, degradation of organic pollutants, biocontrol of phytopathogens, solubilization of nutrients, and production of plant hormones (Gupta *et al.*, 2015).

The use of these groups of microorganisms in the current agriculture was increased to reduce the application of synthetic fertilizers to agricultural soils, developing a sustainable agriculture. In this study, two strains showed the highest production of indoles (*Stachybotrys* sp. TSM35, 65.4 $\mu\text{g mL}^{-1}$; and *Cladosporium cladosporioides* TSM34, 26.3 $\mu\text{g mL}^{-1}$), which were isolated from the site under SF+OF (Table 2). This phytohormone is involved in regulate plant growth and development by increasing root and plant biomass for nutrient uptake, cell proliferation, xylem development, responses to light, photosynthesis, pigment biosynthesis, and resistance to stressful conditions (Gupta *et al.*, 2015). Seventy-seven percent of the total evaluated strains showed indole productions lower than 5 $\mu\text{g mL}^{-1}$ which suggest that these strains might be not involved in wheat growth regulation by this mechanism. There is evidence of positive effects on root development by fungal strains producing more than 12 μg indoles mL^{-1} (Banerjee *et al.*, 2017).

Phosphate solubilization is an important microbial growth promotion mechanism, since most

en la cual se ha documentado que *Penicillium* es el grupo más abundante (75%) de hongos filamentosos dentro de esa matriz biológica (Ogórek *et al.*, 2016).

Los tres géneros de hongos restantes (*Cladosporium*, *Talaromyces* y *Trichoderma*) aislados del sitio de estudio bajo SF + OF también se encontraron en el sitio de estudio bajo OF (Figura 2). Estos tres géneros se han aislado en todo el mundo como saprofitos de sustratos diversos, en especial materiales orgánicos que se descomponen lentamente o de madera en descomposición, en diferentes tipos de suelos (Ogórek *et al.*, 2016, Tranchida *et al.*, 2016; de los Santos-Villalobos *et al.*, 2013), tal como los sustratos orgánicos aplicados al suelo bajo OF (guano de murciélago, estiércol de pollo, concentrado de pescado y humus de lombriz).

Además, se aislaron seis géneros o especies específicos del sitio de estudio bajo OF, *Aspergillus allahabadii* TSO45, *Smaragdiniseta bisetosa* TSO46, *Rhizopus oryzae* TSO38, *Acremonium* sp. TSO51, *Aspergillus* sp. TSO53, *Acrophialophora* sp. TSO54 (Figura 2). Los géneros *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Rhizopus*, *Acremonium* y *Smaragdiniseta* se han aislado y asociado con el estiércol de pollo. También se han encontrado en suelos sanos, lo cual es favorable para mejorar la calidad del suelo e inhibir patógenos del suelo en los sistemas agronómicos (Escobar *et al.*, 2012). Además, estos géneros son los hongos más abundantes en el suelo y mejoran su fertilidad por medio de la degradación y mineralización del rastrojo, la madera y la materia orgánica (Chen *et al.*, 2018).

Acrophialophora es un género de hongos edáficos de distribución amplia en las regiones templadas y tropicales, y participa en la descomposición del abono y otros sustratos por su capacidad de producir grandes cantidades de celulasas y xilanasas (Sandoval-Denis *et al.*, 2015). Sin embargo, este género incluye hongos oportunistas emergentes, capaces de causar infecciones al ser humano, pues se ha aislado de algunos especímenes respiratorios y muestras de tejido subcutáneo o corneal (Sandoval-Denis *et al.*, 2015).

La incorporación de fertilizantes orgánicos a los sistemas agronómicos (sitios de estudio bajo OF y SF +OF) mostró impactos positivos en la fertilidad química y biológica del suelo. Es necesario explorar las funciones ecológicas y ambientales de las comunidades fúngicas resultantes como consecuencia de las aplicaciones de fertilizantes orgánicos, para contribuir a la inocuidad de los alimentos, al identificar

Table 2. Metabolic traits of the obtained fungal strains from study sites.**Cuadro 2. Los rasgos metabólicos de las cepas de hongos obtenidas en los sitios de estudio.**

Taxa	Indole production ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Phosphate solubilization (%)	Siderophore production (%)	Hemolysis
Synthetic fertilizer (SF)				
<i>Mortierella alpina</i> TSQ32	4.9 $\pm$ 0.4 ef	0.0 $\pm$ 0.0 f	0.0 $\pm$ 0.0 e	γ
<i>Setophoma terrestris</i> TSQ33	4.5 $\pm$ 0.1 ef	0.0 $\pm$ 0.0 f	0.0 $\pm$ 0.0 e	β
Synthetic fertilizer plus organic fertilizer (SF+OF)				
<i>Setophoma terrestris</i> TSM33	0.5 $\pm$ 0.2 h	0.0 $\pm$ 0.0 f	0.0 $\pm$ 0.0 e	γ
<i>Cladosporium cladosporioides</i> TSM34	26.3 $\pm$ 0.5 b	0.0 $\pm$ 0.0 f	0.0 $\pm$ 0.0 e	α
<i>Cladosporium cladosporioides</i> TSM37	2.4 $\pm$ 0.1 fg	0.0 $\pm$ 0.0 f	0.0 $\pm$ 0.0 e	α
<i>Talaromyces</i> sp. TSM38	2.0 $\pm$ 0.1 g	5.3 $\pm$ 0.2 d	0.0 $\pm$ 0.0 e	β
<i>Trichoderma harzianum</i> TSM39	5.4 $\pm$ 0.6 de	0.0 $\pm$ 0.0 f	0.0 $\pm$ 0.0 e	γ
<i>Stachybotrys</i> sp. TSM35	65.4 $\pm$ 2.6 a	0.0 $\pm$ 0.0 f	15.0 $\pm$ 3.0 b	α
<i>Parasitotrichum roridum</i> TSM36	4.2 $\pm$ 0.3 ef	8.3 $\pm$ 0.3 b	0.0 $\pm$ 0.0 e	γ
<i>Gregatohypha humicola</i> TSM40	2.9 $\pm$ 0.2 efg	5.1 $\pm$ 0.1 d	0.0 $\pm$ 0.0 e	γ
<i>Collariella bostrychodes</i> TSM41	1.9 $\pm$ 0.1 g	8.2 $\pm$ 0.3 b	0.0 $\pm$ 0.0 e	γ
<i>Kalmusia italica</i> TSM42	2.5 $\pm$ 0.5 fg	0.0 $\pm$ 0.0 f	12.3 $\pm$ 0.3 c	α
<i>Volutella ciliata</i> TSM43	6.6 $\pm$ 0.3 d	0.0 $\pm$ 0.0 f	33.9 $\pm$ 0.1 a	α
<i>Penicillium coffeae</i> TSM44	1.1 $\pm$ 0.1 g	0.0 $\pm$ 0.0 f	10.1 $\pm$ 0.1 d	α
Organic fertilizer (OF)				
<i>Cladosporium</i> sp. TSO48	3.0 $\pm$ 0.1 efg	0.0 $\pm$ 0.0 f	0.0 $\pm$ 0.0 e	α
<i>Talaromyces</i> sp. TSO47	3.7 $\pm$ 0.2 efg	2.9 $\pm$ 0.1 e	0.0 $\pm$ 0.0 e	α
<i>Talaromyces pinophilus</i> TSO50	2.4 $\pm$ 0.3 fg	0.0 $\pm$ 0.0 f	0.0 $\pm$ 0.0 e	β
<i>Talaromyces</i> sp. TSO52	2.7 $\pm$ 0.1 fg	7.4 $\pm$ 0.2 c	0.0 $\pm$ 0.0 e	γ
<i>Talaromyces pinophilus</i> TSO42	6.9 $\pm$ 0.2 d	21.0 $\pm$ 1.0 a	0.0 $\pm$ 0.0 e	β
<i>Trichoderma harzianum</i> TSO39	2.4 $\pm$ 0.4 fg	0.0 $\pm$ 0.0 f	0.0 $\pm$ 0.0 e	γ
<i>Aspergillus allahabadii</i> TSO45	7.2 $\pm$ 0.1 d	0.0 $\pm$ 0.0 f	0.0 $\pm$ 0.0 e	γ
<i>Smaragdinisetia bisetosa</i> TSO46	8.9 $\pm$ 0.1 c	0.0 $\pm$ 0.0 f	9.7 $\pm$ 0.3 d	α
<i>Rhizopus oryzae</i> TSO38	5.0 $\pm$ 0.9 e	0.0 $\pm$ 0.0 f	0.0 $\pm$ 0.0 e	α
<i>Acremonium</i> sp. TSO51	3.9 $\pm$ 0.2 efg	0.0 $\pm$ 0.0 f	0.0 $\pm$ 0.0 e	β
<i>Aspergillus</i> sp. TSO53	2.5 $\pm$ 0.5 fg	0.0 $\pm$ 0.0 f	0.0 $\pm$ 0.0 e	γ
<i>Acrophialophora</i> sp. TSO54	3.0 $\pm$ 0.1 efg	0.0 $\pm$ 0.0 f	0.0 $\pm$ 0.0 e	γ

Means with different letter indicate statistical difference (Tukey-Kramer test; $p \leq 0.05$). Strains highlighted with the same color (green, blue, or purple) in different study sites mean that these are shared among them. ♦ Medias con letra diferente indican una diferencia estadística (prueba Tukey-Kramer; $p \leq 0.05$). Las cepas resaltadas con el mismo color (verde, azul o morado) se comparten entre sitios de estudio diferentes.

of the P present in soil is insoluble as iron phosphates (FePO_4) and aluminum phosphates (AlPO_4) in acid soils, and calcium phosphates $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ in alkaline soils. In addition, phosphorus is involved in several microbial and plant functions, such as: respiration, photosynthesis, macromolecular biosynthesis, energy transfer, and signal transduction (Gupta *et al.*, 2015).

Twenty-seven percent of evaluated fungal strains showed the phosphate solubilization activity, where *Talaromyces pinophilus* TSO42 (isolated from the site under OF) showed the highest value, 21% (Table 2).

riesgos patogénicos potenciales de los hongos a plantas, animales o humanos. Para esto, se estudió un grupo especial de microorganismos (Microorganismos Promotores del Crecimiento Vegetal – PGPM, por sus siglas en inglés) por su capacidad de contribuir a la formación de la estructura del suelo, la descomposición de la materia orgánica, la fertilidad del suelo, la degradación de los contaminantes orgánicos, el biocontrol de los fitopatógenos, la solubilización de los nutrientes y la producción de hormonas vegetales (Gupta *et al.*, 2015).

These findings are like those reported by Banerjee *et al.* (2017), where from 28 to 50% of phosphate solubilization by fungal strains isolated from India was observed. Although fungi can solubilize mineral phosphates in soil by phosphatase activities and organic acids production, values reported here are 375% lower than those observed in bacteria (Ghosh *et al.*, 2012).

Like P, iron is a necessary element for the development of microorganisms and plants, as an enzyme cofactor (Gupta *et al.*, 2015). For that purpose, microorganisms produce siderophores, chelating compounds with low molecular weights that help to promote plant growth and phytopathogen inhibition by iron sequestration (de los Santos Villalobos *et al.*, 2012). Twenty percent of studied fungi strains showed the ability to produce siderophores, from 9.7 to 33.9%, where 33.9% was observed for the strain *Volutella ciliata* TSM43 isolated from the study site under SF+OF (Table 2). However, even when the siderophore production by those fungal strains was lower, these values are typical for fungi (Kumar *et al.*, 2015).

The metabolic diversity associated with plant growth promotion of the obtained fungal strains was not correlated to the study site or the type of organic fertilizer applied to the soil. But these traits appear to be associated to the genetic background of each specific strain. Thus, even when metabolic diversity suggests that most of obtained strains might not be involved in plant growth regulation, other metabolites or mechanisms should be studied to identify promising PGPM contributing to food safety, by formulation and use of microbial inoculants. In addition, these bio-products need to be safe for humans, animals, and plants.

The hemolysis test explores the potential impact of microbial strains on human and animal health, by hemolysins. Forty percent of the studied strains showed γ -hemolysis, which indicates that do not cause any alteration to erythrocytes in the culture medium, suggesting no harm for human and animals. The remaining 60% of studied strains showed potential for human health risks (α - or β -hemolysis), totally or partially degrading erythrocytes (Villa-Rodriguez *et al.*, 2019). The hemolytic activity of the obtained strains was not completely associated to the source of their isolation or taxonomy; thus, it was a strain-specific trait. *Setophoma terrestris* TSQ33 showed

El uso de estos grupos de microorganismos en la agricultura actual se ha incrementado para reducir la aplicación de fertilizantes sintéticos a los suelos agrícolas, para desarrollar una agricultura sostenible. En este estudio, dos cepas mostraron la producción mayor de indoles (*Stachybotrys* sp. TSM35, 65.4 $\mu\text{g mL}^{-1}$; y *Cladosporium cladosporioides* TSM34, 26.3 $\mu\text{g mL}^{-1}$), las cuales se aislaron del sitio bajo SF+OF (Cuadro 2). Esta fitohormona participa en la regulación del crecimiento y desarrollo de las plantas por medio del aumento de la biomasa de las raíces y plantas por la absorción de nutrientes, la proliferación celular, el desarrollo del xilema, las respuestas a la luz, la fotosíntesis, la biosíntesis de los pigmentos y la resistencia a las condiciones de estrés (Gupta *et al.*, 2015). El 77% del total de las cepas evaluadas mostraron producciones de indoles inferiores a 5 $\mu\text{g mL}^{-1}$, esto sugiere que dichas cepas podrían no estar involucradas en la regulación del crecimiento del trigo por este mecanismo. Hay evidencias de efectos positivos en el desarrollo de las raíces al usar cepas de hongos que producen más de 12 μg indoles mL^{-1} (Banerjee *et al.*, 2017).

La solubilización de fosfatos es un mecanismo importante de promoción del crecimiento microbiano, ya que la mayor parte del P presente en el suelo es insoluble, como fosfatos de hierro (FePO_4) y fosfatos de aluminio (AlPO_4) en suelos ácidos y fosfatos de calcio $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ en suelos alcalinos. Además, el fósforo interviene en algunas funciones microbianas y vegetales, como respiración, fotosíntesis, biosíntesis macromolecular, transferencia de energía y transducción de señales (Gupta *et al.*, 2015).

El 27% de las cepas de hongos evaluadas mostraron actividad de solubilización de fosfatos, de ellas, *Talaromyces pinophilus* TSO42 (aislado del sitio bajo OF) exhibió el valor más alto, 21% (Cuadro 2). Estos resultados coinciden con los observados por Banerjee *et al.*, (2017), una solubilización de fosfatos del 28 al 50% en cepas fúngicas aisladas de la India. Aunque los hongos pueden solubilizar los fosfatos minerales en el suelo por actividad de la fosfatasa y producción de ácidos orgánicos, los valores que aquí se consiguen son 375% menores a los observados en bacterias (Ghosh *et al.*, 2012).

Como el P, el hierro es un elemento necesario como cofactor enzimático para el desarrollo de los microorganismos y las plantas (Gupta *et al.*, 2015). Para ello, los microorganismos producen sideróforos,

β -hemolysis, and TSM33 showed γ -hemolysis (Table 2).

The evolution of fungal hemolysins for the sole purpose of lysing red blood cells *in vivo* to improve growth is highly unlikely. However, most fungi are saprophytes, growing on or in living tissues, especially in an immune suppressed individual. This metabolic trait may provide an opportunity for colonization and infection, even when the hemolytic activity was not detected (γ -hemolysis), due to animal hosts are a rich source of organic material (Nayak *et al.*, 2013). Thus, several specific and detailed assays need to be developed in order to guarantee that the application of organic fertilizers, or microbial inoculants, may not cause treated soils to be a reservoir for harmful or pathogenic microorganisms to human, animals, or plants; nevertheless they improve the soil fertility and food production.

CONCLUSIONS

Shift from conventional to organic wheat farming in the Yaqui Valley (Mexico) was accompanied by positive changes on soil physicochemical and nutrimental properties, as well as cultivable soil fungal populations and diversity, at genetic and metabolic levels.

The resulting fungal species have the ability to promote wheat plant growth and inhibit the growth of phytopathogens, but also, they can become pathogens for crops, animals, or human, and their presence in the soil is associated with the origin and source of the applied organic fertilizer.

Microbiological quality control of organic fertilizers applied to soil is necessary to prevent microbial hazards in agronomic systems, caused by the introduction of potentially pathogenic strains.

ACKNOWLEDGEMENTS

To the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) for funding the research through: the scholarship (CVU 479660) granted to A.L. Ibarra Villarreal; CONACYT Cátedras Program (Project 1774) "Alternativas agrobiotecnológicas para incrementar la competitividad del cultivo de trigo en el Valle del Yaqui: desde su ecología microbiana hasta su adaptabilidad al cambio climático"; CONACYT Project 253663, "Fortalecimiento de la infraestructura del Laboratorio de Biotecnología del Recurso

compuestos quelantes de peso molecular bajo que ayudan a promover el crecimiento de las plantas y la inhibición de fitopatógenos por medio del secuestro de hierro (de los Santos Villalobos *et al.*, 2012). El 20% de las cepas de hongos estudiadas mostraron la capacidad de producir sideróforos, de 9.7 a 33.9%, donde se observó un 33.9% para la cepa *Volutella ciliata* TSM43 aislada del sitio de estudio bajo SF+OF (Cuadro 2). Sin embargo, incluso cuando la producción de sideróforos por parte de estas cepas fúngicas es baja, esos valores son los documentados de forma típica en hongos (Kumar *et al.*, 2015).

La diversidad metabólica asociada a la promoción del crecimiento vegetal de las cepas fúngicas obtenidas no se correlacionó con el sitio del estudio, ni con el tipo de fertilizante orgánico aplicado al suelo. Pero estos rasgos parecen asociarse con los antecedentes genéticos de cada cepa en específico. Por lo tanto, aun cuando la diversidad metabólica sugiera que la mayoría de las cepas obtenidas podrían no estar involucradas en la regulación del crecimiento vegetal, otros metabolitos o mecanismos deberían estudiarse para identificar los PGPM prometedores que contribuyan a la seguridad alimentaria, con la formulación y el uso de inoculantes microbianos. De manera adicional, estos bioproductos deben ser inocuos para seres humanos, animales y plantas.

La prueba de hemólisis explora el impacto potencial de las cepas microbianas en la salud humana y animal por medio de las hemolisinas. El 40% de las cepas estudiadas mostraron γ -hemólisis, lo cual indica que no causan alteración a los eritrocitos en el medio de cultivo, y sugiere que no causan daño a humanos o animales. El 60% restante de las cepas estudiadas mostraron un riesgo potencial para la salud humana (α - o β -hemólisis), por degradación parcial o total de eritrocitos (Villa-Rodríguez *et al.*, 2019). La actividad hemolítica de las cepas obtenidas no se asoció por completo a la fuente de su aislamiento o taxonomía; por lo tanto, este rasgo es específico por cepa. La cepa TSQ33 *Setophoma terrestris* mostró γ -hemólisis y la cepa TSM33 mostró β -hemólisis (Cuadro 2).

La evolución de las hemolisinas fúngicas con el propósito único de lisar los glóbulos rojos *in vivo* para mejorar el crecimiento es muy poco probable. Sin embargo, la mayoría de los hongos son saprófitos, que crecen en o sobre tejidos vivos, en especial en un individuo inmunosuprimido. Esta característica

Microbiano del Instituto Tecnológico de Sonora (ITSON) para la creación de COLMENA [COLección de Microorganismos Edáficos y Endófitos Nativos], para contribuir a la seguridad alimentaria regional y nacional”; and to CONACYT Project 257246, “Interacción trigo x microorganismos promotores del crecimiento vegetal: identificando genes con potencial agrobiotecnológico”.

LITERATURE CITED

- Banerjee, A., D. A. Bareh, and S. R. Joshi. 2017. Native microorganisms as potent bioinoculants for plant growth promotion in shifting agricultural (*Jhum*) systems. *J. Soil. Sci. Plant. Nutr.* 17: 127-140.
- Chen, X., X. Wang, T. A. Zhang, Y. Li, J. Hu, Y. F. Tsang, H. Zhang, and M. T. Gao. 2018. Influence of rice straw-derived dissolved organic matter on lactic acid fermentation by *Rhizopus oryzae*. *J. Biosci. Bioen.* 2: 1-7.
- Cortés, J., M., G. Fuentes D., J. E. Ortiz E., L. M. Tamayo E., E. Cortez M., A. A. Ortiz A., P. Félix V., y I. Armenta C. 2011. Agronomía del trigo en el sur de Sonora Centro de Investigación Regional del Noroeste Campo Experimental Norman E. Borlaug. México. 238 p.
- De los Santos- Villalobos, S., F. I. Parra-Cota, A. Herrera S., B. Valenzuela A., y J. C. Estrada M. 2018. Colección de microorganismos edáficos y endófitos nativos para contribuir a la seguridad alimentaria nacional. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 9: 191-202.
- De los Santos-Villalobos, S., D. A. Guzmán-Ortiz, M. A. Gómez-Lim, J. P. Delano-Frier, S. de-Folter, P. Sánchez-García, J. J. Peña-Cabriaes. 2013. Potential use of *Trichoderma asperellum* (Samuels, Liechfeldt et Nirenberg) T8a as a biological control agent against anthracnose in mango (*Mangifera indica* L.). *Biol. Control.* 64: 37-44.
- De los Santos-Villalobos, S., L. E. Hernández-Rodríguez, F. Villaseñor-Ortega, y J. J. Peña-Cabriaes. 2012. Production of *Trichoderma asperellum* T8a spores by a “home- made” solid-state fermentation of mango industrial wastes. *BioResources* 7: 4938-4951.
- Escobar E., N., J. Mora D., y N. J. Romero J. 2012. Identificación de poblaciones microbianas en compost de residuos orgánicos de fincas cafeteras de Cundinamarca (Colombia). *Bol. Cient. Mus. Hist. Nat. Univ. Caldas.* 16: 75-88.
- Ghosh, U., P. Subhashini, E. Dilipan, S. Raja, T. Thangaradjou, and L. Kanna. 2012. Isolation and characterization of phosphate-solubilizing bacteria from seagrass rhizosphere soil. *J. Ocean. Univ. China* 11: 86-92.
- Gupta, G., S. Singh P., N. Kumar A., S. Kumar S., and V. Singh. 2015. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): Current and future prospects for development of sustainable agriculture. *J. Microb. Biochem.* 7: 96-102.
- Habte, M., and Walter N. O. 2012. Effect of nitrogen form on the effectiveness of a phosphate-solubilizing fungus to dissolve rock phosphate. *J. Biofertil. Biopestici.* 3: 1-4.
- Hernández-Restrepo, M., J. Gené, R. F. Castañeda-Ruiz, J. Mena-Portales, P. W. Crous, and J. Guarro. 2017. Phylogeny of saprobic microfungi from southern Europe. *Stud. Mycol.* 86: 53-97.
- metabólica puede brindar una oportunidad para la colonización y la infección, incluso cuando no se detecte actividad hemolítica (γ -hemolysis), debido a que los hospederos animales de hongos son una fuente rica en material orgánico (Nayak *et al.*, 2013). Así pues, es necesario desarrollar diversos ensayos específicos y detallados con el fin de garantizar que la aplicación de fertilizantes orgánicos, o inoculantes microbianos, no provoque que los suelos tratados sean una reserva de microorganismos nocivos o patógenos para seres humanos, animales o plantas, aun cuando mejoren la fertilidad del suelo y la producción de alimentos.

CONCLUSIONES

El cambio del cultivo de trigo convencional a orgánico en el Valle del Yaqui (México) estuvo acompañado de cambios positivos en las propiedades físico-químicas y nutrimentales del suelo, así como en las poblaciones fúngicas cultivables del suelo, en su diversidad genética y metabólica.

Las especies fúngicas resultantes tienen la capacidad de promover el crecimiento de las plantas e inhibir el crecimiento de fitopatógenos, pero también, pueden resultar patogénicas para cultivos, animales o seres humanos, y su presencia en el suelo se asocia con el origen y la fuente del fertilizante orgánico aplicado.

El control de la calidad microbiológica de los fertilizantes orgánicos aplicados al suelo es necesario para prevenir el riesgo microbiológico en los sistemas agronómicos, causado por la introducción de cepas con potencial patogénico.

—Fin de la versión en Español—



- Knapp, D. G., and G. M. Kovács. 2016. Interspecific metabolic diversity of root-colonizing endophytic fungi revealed by enzyme activity tests. *FEMS. Microbiol. Ecol.* 92: 1-10.
- Kumar, G. S., S. Pal, and N. Chakraborty. 2015. The qualitative and quantitative assay of siderophore production by some microorganisms and effect of different media on its production. *Int. J. Chem. Sci.* 13: 1621-1629.
- Leite, M., Y. Pan, J. Bloem, H. Ten B., and E. E. Kuramae. 2017. Organic nitrogen rearranges both structure and activity of the soil-borne microbial seedbank. *Sci. Rep. UK.* 7: 1-11.

- Matson, P. A. 2012. *Seeds of Sustainability Lessons from the Birthplace of the Green Revolution*. Island Press. Washington. 250 p.
- Mulvaney, M. J., N. Verhulst, J. M. Herrera, M. Mezzalama, and B. Govaerts. 2014. Improved wheat performance with seed treatments under dry sowing on permanent raised beds. *Field. Crops. Res.* 164: 189-198.
- Nayak, A.P., B.J. Green, and D. H. Beezhold. 2013. Fungal hemolysins. *Med. Mycol.* 51: 1-16.
- Ogórek, R., M. Dylag, B. Kozak, Z. Visnovska, D. Tancinova, and A. Lejman. 2016. Fungi isolated and quantified from bat guano and air in harmanecká and driny caves (Slovakia). *J. Caves. Karst. Stud.* 78: 41- 49.
- Onyia, C. E., and C. U. Anyanwu. 2013. Comparative study on solubilization of tri-calcium phosphate (TCP) by phosphate solubilizing fungi (PSF) isolated from Nsukka pepper plant rhizosphere and root free soil. *J. Yeast. Fungal. Res.* 4: 52-45.
- Priyadharsini, P., and T. Muthukumar. 2015. Insight into the role of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable agriculture. *In: Thangavel P, G. Sridevi (eds). Environmental Sustainability*. Springer. New Delhi, India. pp: 3-35.
- Sandoval-Denis, M., J. Gené, D. A. Sutton, N. P. Wiederhold, and J. Guarro. 2015. *Acrophialophora*, a poorly known fungus with clinical significance. *J. Clin. Microbiol.* 53: 1549-1555.
- Santiago, C. D., S. Yagi, M. Ijima, T. Nashimoto, M. Sawada, S. Ikeda, K. Asano, Y. Orikasa, and T. Ohwada. 2017. Bacterial compatibility in combined inoculations enhances the growth of potato seedlings. *Microbes environ.* 32: 14-23.
- SIAP-SAGARPA (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación). 2018. Atlas agroalimentario 2012-2018. https://nube.siap.gob.mx/gobmx_publicaciones_siap/pag/2018/Atlas-Agroalimentario-2018 REFERENCIA INCOMPLETA. Falta agregar la fecha de consulta; Brenda, puedes agregar la fecha del mes de recepción, si el autor la desconoce.
- Tranchida, M. C, N. D. Centeno, S. A. Stenglein, and M. N. Cabello. 2016. First record of *Talaromyces udagawae* in soil related to decomposing human remains in Argentina. *RAM.* 48: 86-90.
- Villa-Rodríguez, E, F. Parra-Cota, E. Castro-Longoria, J. Lopez-Cervantes, S. de los Santos-Villalobos. 2019. *Bacillus subtilis* TE3: a promising biological control agent against *Bipolaris sorokiniana*, the causal agent of spot blotch in wheat (*Triticum turgidum* L. subsp. *durum*). *Biol Control.* 132:135-143.
- Zhen, Z., H. Liu, N. Wang, L. Guo, J. Meng, N. Ding, G. Wu, and G. Jiang. 2014. Effects of manure compost application on soil microbial community diversity and soil microenvironments in a temperate cropland in china. *PLOS ONE.* 9: 1-11.

