



UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y ARTES DE CHIAPAS

FACULTAD DE INGENIERIA
SEDE VILLA CORZO

TESIS

**HONGOS ENDÓFITOS DE RAÍCES DE
Ceratozamia mirandae CON POTENCIAL DE
BIOFERTILIZANTES**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRA
EN CIENCIAS AGROFORESTALES

PRESENTA

NIDIA DEL CARMEN RÍOS DE LEÓN

DIRECTOR

DR. MIGUEL ÁNGEL SALAS MARINA

Villa Corzo, Chiapas

junio de 2024





UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y ARTES DE CHIAPAS

FACULTAD DE INGENIERIA
SEDE VILLA CORZO

TESIS

HONGOS ENDÓFITOS DE RAÍCES DE *Ceratozamia mirandae* CON POTENCIAL DE BIOFERTILIZANTES

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRA
EN CIENCIAS AGROFORESTALES

PRESENTA

NIDIA DEL CARMEN RÍOS DE LEÓN

COMITÉ TUTORIAL

DR. MIGUEL ÁNGEL SALAS MARINA (DIRECTOR)

DR. VIDAL HERNÁNDEZ GARCÍA (CODIRECTOR)

DR. WEL OLVEIN CRUZ MACÍAS (ASESOR)

Villa Corzo, Chiapas

junio de 2024.





UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y ARTES DE CHIAPAS
SECRETARÍA ACADÉMICA
DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

Tuxtla Gutiérrez, Chiapas a 04 de junio de 2024
Oficio No. SA/DIP/0358/2024
Asunto: Autorización de Impresión de Tesis

C. Nidia del Carmen Ríos de León
CVU: 1181454
Candidata al Grado de Maestra en Ciencias Agroforestales
Facultad de Ingeniería
UNICACH
Presente

Con fundamento en la **opinión favorable** emitida por escrito por la Comisión Revisora que analizó el trabajo terminal presentado por usted, denominado **Hongos endófitos de raíces de *Ceratozamia mirandae* con potencial de biofertilizantes** cuyo Director de tesis es el Dr. Miguel Ángel Salas Marina (CVU: 166113) quien avala el cumplimiento de los criterios metodológicos y de contenido; esta Dirección a mi cargo **autoriza** la impresión del documento en cita, para la defensa oral del mismo, en el examen que habrá de sustentar para obtener el **Grado de Maestra en Ciencias Agroforestales**.

Es imprescindible observar las características normativas que debe guardar el documento impreso, así como realizar la entrega en esta Dirección de un ejemplar empastado.

Atentamente
"Por la Cultura de mi Raza"

Dra. Carolina Orantes García
Directora



C.c.p. Ing. Mónica Catalina Cisneros Ramos, Directora de la Facultad de Ingeniería, UNICACH. Para su conocimiento.
Dr. Miguel Ángel Salas Marina, Coordinador del Posgrado, Facultad de Ingeniería, UNICACH. Para su conocimiento.
Archivo/minutario.

RJAG/COG/hxb/figp/gtr

2024 Año de Felipe Carrillo Puerto
BENEMÉRITO DEL PROLETARIADO,
REVOLUCIONARIO Y DEFENSOR DEL MAYAB.



Dirección de Investigación y Posgrado
Libramiento Norte Poniente 1150 C.P. 29039
Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México
Teléfono: (961) 61 70440 Ext: 4360
investigacionyposgrado@unicach.mx

Dedicatoria

A mis Padres: María de Jesús de León Silva e Idalberto Ríos Ruíz, por su apoyo incondicional, por formarme, por motivarme a seguir superándome profesionalmente dándome sus consejos y palabras de aliento, por estar siempre pendientes de mí y acompañarme de una u otra forma en todo este proceso.

A mi esposo: Enrique Valadez, por acompañarme durante estos dos años arduos de trabajo, por sentirse orgulloso de mí, por animarme y escucharme siempre que lo necesité y darme su apoyo emocional.

Agradecimientos

Al CONACYT: por la beca que me permitió financiar y cubrir los gastos para la realización de este posgrado.

A la UNICACH: por el respaldo académico durante todo el proceso.

A la Facultad de Ingeniería sede Villa Corzo: por la oportunidad que me dieron para seguir con mi proceso de formación y por abrirme siempre el espacio en el laboratorio para llevar a cabo la realización de este proyecto.

Al ejido Juan Sabines: por colaborar en este proyecto de investigación y permitirme el acceso y la guía a sus predios.

A mis directores: Dr. Miguel Ángel Salas Marina y Dr. Vidal Hernández García por la oportunidad que me dieron y el acompañamiento en todo momento, por su dirección y orientación para continuar mejorando mi proceso de formación, por su apoyo y motivación para realizar cada etapa del proyecto de investigación ¡Muchas gracias!

Al Laboratorio de Biofertilizantes y Bioinsecticidas de la UNICACH: Ing. Mauricio Hernández Mondragón por darme su apoyo, estar pendiente y resolver siempre cualquier situación en el laboratorio.

Al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD-Cuauhtémoc, Chihuahua): al Dr. Claudio Ríos Velasco y Dr. Daniel Pérez Alonso por su gran colaboración y ayuda para la realización de este proyecto de investigación, gracias por su profesionalismo sin dejar de lado la parte humana.

Índice

Declaración institucional	3
Dedicatoria	4
Agradecimientos	5
Resumen	8
Abstract	10
Introducción	12
Objetivos.....	15
General	15
Específicos.....	15
Revisión de literatura	16
Especies forestales	16
<i>Ceratozamia mirandae</i>	17
Biofertilizantes.....	18
Bacterias promotoras del crecimiento	20
Hongos endófitos	21
Respuestas antagónicas de los endófitos.....	22
Micoparasitismo	22
Antagonismo	23
Antibiosis.....	24
Mecanismos de control biológico	25
Atributos ecológicos de los endófitos.....	26
Promoción del crecimiento	27
Respuesta de defensa de las plantas	28
Hongos fitopatógenos	28
Género <i>Fusarium</i>	29
Características morfológicas de <i>Fusarium</i>	29
Biología del género <i>Fusarium</i>	30
El género <i>Fusarium</i> como fitopatógeno.....	30
Especies saprófitas del género <i>Fusarium</i>	31
Endófitos del género <i>Fusarium</i>	31

Mecanismos de acción de <i>Fusarium</i>	32
Colonización de la raíz por <i>Fusarium</i>	32
Promoción del crecimiento vegetal por <i>Fusarium</i>	33
Inducción de la resistencia sistémica por <i>Fusarium</i>	33
Resultados.....	34
Capítulo I: artículo.....	34
Constancias de participaciones en congresos	55
Congreso nacional de control biológico, 2022, Querétaro, México.	55
Congreso nacional de control biológico 2023, Saltillo, Coahuila, México.	56
Reconocimientos	57
Participación en el marco de la XL semana de la ingeniería, “la ingeniería en la sociedad 2022” Tuxtla Gutiérrez.	57
Participación en el marco de la XLI semana de la ingeniería, “la transversalidad de la ingeniería en México 2023” Tuxtla Gutiérrez.	58
Constancia de estancia de investigación en CIAD-Unidad Cuauhtémoc, Chihuahua, México.....	59
Acta de retribución social CONAHCYT	60
Discusiones generales	64
Conclusiones generales	69
Anexos	70
Bibliografía.....	74

Resumen

Las enfermedades en cultivos agrícolas causadas por hongos fitopatógenos provocan pérdidas económicas, el principal método de control es el uso de fungicidas impactando de manera negativa en la salud humana y medio ambiente. Una alternativa de biocontrol es el uso de microorganismos endófitos de las plantas que sintetizan sustancias biológicamente activas con diferentes propiedades. El objetivo de este trabajo fue caracterizar hongos endófitos de raíces de *Ceratozamia mirandae* con potencial de biofertilizantes. Los hongos fueron identificados molecularmente, caracterizados bioquímicamente y evaluados en cuanto a su efectividad biológica de micoparasitismo y/o antagonismo contra *Colletotrichum karstii*, *Neopestalotiopsis* sp. y *Fusarium oxysporum* (FoC), promoción de crecimiento en *Arabidopsis thaliana* y *S. lycopersicum* e inducción de protección sistémica contra *Botrytis cinerea*. Se identificaron 14 cepas de hongos endófitos pertenecientes a seis géneros; *Fusarium*, *Pestalotiopsis*, *Trichoderma*, *Umbelopsis*, *Nectria* y *Podospora*. De las cuales *Fusarium proliferatum* (JS311) y *F. oxysporum* (JS239) presentaron antagonismo contra los patógenos evaluados *C. karstii*, *Neopestalotiopsis* sp. y FoC. Ocho cepas produjeron ácido indol-3-acético (AIA) y promovieron el crecimiento de *A. thaliana* y jitomate, de las cuales *F. oxysporum* (JS439) y *F. solani* (JS240, JS256 y JS4101) produjeron sideróforos y fijaron nitrógeno. Todos los hongos endófitos indujeron resistencia sistémica contra *B. cinerea* en jitomate, no obstante, *Nectria* sp. (JS285) indujo la mayor resistencia sistémica con un valor de severidad más bajo (2.89 %), siendo estadísticamente igual al tratamiento control (agua; T1) con 0.07%. Los hongos endófitos de *C. mirandae* del género *Fusarium* son microorganismos promisorios biofertilizantes como promotores de crecimiento vegetal y biocontroladores de patógenos, este es el primer reporte en México de cepas no

patogénicas del género *Fusarium*, es por ello que la exploración y el aislamiento de endófitos de plantas silvestres de áreas naturales protegidas y conservadas son un reservorio importante de cepas nativas.

Palabras clave: *Arabidopsis thaliana*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium*, *Solanum lycopersicum*.

Abstract

Diseases in agricultural crops caused by phytopathogenic fungi cause economic losses, the main control method is the use of fungicides, negatively impacting human health and environment. An alternative biocontrol is the use of endophytic microorganisms of plants that synthesize biologically active substances with different properties. The aim of this study was to characterize endophytic fungi of *Ceratozamia mirandae* roots with biofertilizer potential. The fungi were molecularly identified, biochemically characterized and evaluated for their biological effectiveness of mycoparasitism and/or antagonism against *Colletotrichum karstii*, *Neopestalotiopsis* sp. and *Fusarium oxysporum* (FoC), growth promotion in *Arabidopsis thaliana* and *Solanum lycopersicum*, and induction of systemic protection against *Botrytis cinerea*. Fourteen strains of endophytic fungi belonging to six genera were identified; *Fusarium*, *Pestalotiopsis*, *Trichoderma*, *Umbelopsis*, *Nectria* and *Podospora*. Of which *Fusarium proliferatum* (JS311) and *F. oxysporum* (JS239) presented antagonism against the evaluated pathogens *C. karstii*, *Neopestalotiopsis* sp. and FoC. Eight strains produced indole-3-acetic acid (IAA) and promoted the growth of *A. thaliana* and tomato, of which *F. oxysporum* (JS439) and *F. solani* (JS240, JS256 and JS4101) produced siderophores and fixed nitrogen. All endophytic fungi induced systemic resistance against *B. cinerea* in tomato, however, *Nectria* sp. (JS285) induced the highest systemic resistance with a lower severity value (2.89%), being statistically equal to the control treatment (water) with 0.07%. Endophytic fungi of *C. mirandae* of the genus *Fusarium* are promising microorganisms as biofertilizers, plant growth promoters and pathogen biocontrollers. This is the first report in Mexico of non-pathogenic strains of the genus *Fusarium*. For this reason, the exploration

and isolation of endophytes from wild plants in protected and conserved natural areas are an important reservoir of native strains.

Key words: *Arabidopsis thaliana*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium*, *Solanum lycopersicum*.

Introducción

Las enfermedades de las plantas causadas por microorganismos fitopatógenos como bacterias y hongos son una de las limitantes que reducen el rendimiento y calidad de los cultivos agrícolas (Aliye *et al.*, 2008; Pérez y Chamorro, 2013). El principal método de control utilizado es el uso de productos químicos, sin embargo, el uso excesivo de éstos ha generado impactos perjudiciales tales como la resistencia a diferentes grupos de fungicidas, toxicidad para el hombre y los animales, contaminación ambiental (suelo, aire y agua), pérdida de biodiversidad y destrucción de la fauna benéfica de los suelos (Crowder y Jabbour, 2014).

Los biofertilizantes son una alternativa de solución a estas limitantes, particularmente, el uso de microorganismos endófitos asociados a especies vegetales, estos viven dentro de diferentes tejidos de las plantas durante parte o la totalidad de su ciclo de vida y les proporcionan a sus hospederos una amplia gama de propiedades biológicas (Le Cocq *et al.*, 2017), se ha reportado que sintetizan sustancias biológicamente activas con múltiples usos farmacológicos (Strobel y Daisy, 2003) y que establecen una interacción positiva para la planta (mutualistas), incrementando su tolerancia frente a factores bióticos y abióticos (Rodríguez *et al.*, 2009). Los endófitos también pueden inducir mecanismos de defensa sistémica en la planta o producir metabolitos secundarios antifúngicos y/o antibióticos que inhiben el crecimiento de patógenos (Schultz *et al.*, 1999). También pueden parasitar a otros microorganismos o competir por el espacio y nutrientes de la planta (Samuels *et al.*, 2000).

Recientes estudios han reportado la aplicación potencial del uso de endófitos como biofertilizantes en la agricultura, especies del género *Trichoderma* han sido ampliamente usados como agentes de control biológico, por su capacidad de inducir resistencia a las plantas contra patógenos (Wang *et al.*, 2021), además de que pueden incrementar la productividad de cultivos agrícolas de importancia económica (Proveda *et al.*, 2019).

En 2021, Espinosa *et al.*, identificaron en *Cedrela odorata* 62 cepas bacterianas endófitas pertenecientes al género *Bacillus* colectadas en los municipios de Huehuetán, Motozintla y Pijijiapan en el estado de Chiapas, México. En 26 cepas detectaron la capacidad de biocontrol de hongos fitopatógenos, la producción de ácido indolacético (AIA), la solubilización de fosfato, además el 21% de las cepas inhibió el crecimiento de los patógenos *Alternaria solani* y *Fusarium* sp. y el 13% de *Phytophthora capsici*. En ejemplares de *Dioon merolae* de Oaxaca, México, Cruz *et al.* (2017) aislaron bacterias de los géneros *Bacillus*, *Streptomyces* y *Pseudomonas* al exterior de la raíz coraloide y como endófitos *Tolypothrix* y *Nostoc*, ambas pertenecientes a la clase de las Cianobacterias. Por su parte Pérez (2008), menciona que *Ceratozamia mirandae* especie endémica de Chiapas, en asociación con cianobacterias puede fijar el nitrógeno atmosférico a través de sus raíces coraloides.

La utilización de cepas nativas de microorganismos para la elaboración de biofertilizantes puede presentar mayores posibilidades de efectividad en el campo, por estar adaptados a las condiciones del suelo de cada región (Armenta *et al.*, 2010). En este sentido, el objetivo de este trabajo fue el aislamiento, identificación y caracterización de microorganismos endófitos de *Ceratozamia mirandae*, especie endémica y nativa de

Chiapas, para evaluar su efectividad biológica como antagonista de patógenos, potencial de biofertilizante en la promoción del crecimiento e inducción del sistema de defensa de las plántulas *Arabidopsis thaliana* y *Solanum lycopersicum*.

Objetivos

General

Caracterizar microorganismos endófitos asociados a raíces de *Ceratozamia mirandae*.

Específicos

1. Identificar especies de hongos endófitos asociados a raíces de *Ceratozamia mirandae*.
2. Valorar el efecto de los hongos endófitos sobre micoparasitismo y/o antagonismo contra *Colletotrichum karstii*, *Neopestalotiopsis* sp. y *Fusarium oxysporum*.
3. Caracterizar el efecto de los endófitos sobre la promoción del crecimiento en *Arabidopsis thaliana* y *S. lycopersicum*.
4. Determinar la resistencia sistémica inducida por los hongos endófitos contra *Botrytis cinerea* en plantas de *S. lycopersicum*.

Revisión de literatura

Especies forestales

Al ser uno de los organismos más grandes de la Tierra, los árboles en bosques cubren el 40% de la superficie terrestre. Esto forma una parte importante de la biomasa global y proporciona un hábitat para un gran número de especies animales y vegetales con diferentes niveles de asociación. Para los humanos, la importancia de los árboles en la alimentación, madera y recursos no maderables ha sido histórica y ampliamente identificada. La captura de carbono es otro de los servicios ecosistémicos más importantes proporcionados por los árboles (FAO, 2010; Quine *et al.*, 2011; Cazorla y Mercado, 2016).

El valor económico de los árboles y arbustos en los paisajes urbanos se reconoce cada vez más desde el cambio de milenio. Proporcionan un hábitat para la vida silvestre urbana, reducen la contaminación del aire, interceptan la lluvia, dan sombra y reducen la absorción de calor por las superficies hechas por el hombre (Mcpherson, 2002; Nowak, 2004; Tyrväinen *et al.*, 2005; Xiao y Binner *et al.*, 2017). Los servicios culturales que brindan los árboles también son significativos, ya que ofrecen beneficios para la salud tanto física como mental (Rabiey *et al.*, 2019).

Desde el punto de vista ecológico, los árboles forestales comparten un hábitat con diversos microbios y mantienen relaciones dinámicas y equilibradas con ellos. Estas relaciones pueden variar desde una relación de comensalismo latente, mutualismo hasta infecciones patógenas (Terhonen *et al.*, 2019). Los microbios endófitos mutualistas desempeñan funciones importantes y económicamente significativas en la nutrición de

las plantas, el ciclo de nutrientes, el crecimiento y la salud de muchos de estos se están considerando o explotando cada vez más para el manejo integrado de plagas (MIP) (Sieber, 2007; Martín y Nehls, 2009; Parent *et al.*, 2009; Porras y Bayman, 2011).

Los metabolitos de los endófitos de los árboles forestales podrían ser nuevas fuentes de antimicrobianos naturales para ser utilizados en los campos de la agricultura, la industria farmacéutica y la silvicultura (Terhonen *et al.*, 2019). Si bien es probable que los endófitos microbianos sean más diversos en los bosques tropicales que en los bosques templados, la mayoría de los estudios hasta la fecha han utilizado técnicas dependientes del cultivo para caracterizar las comunidades de endófitos entre las especies de plantas (Yien, 2021).

Ceratozamia mirandae

Es una cícada de interés forestal del sotobosque, de tamaño mediano a grande alcanza los 80 y 90 cm de altura, sus troncos erectos o postrados miden hasta un metro de longitud con una copa ascendente a extendida de 23 pinnados (Figura 1). Sus hojas son de 1.5 m de largo y 70 cm de ancho aproximadamente, se han encontrado ejemplares hasta de 490 años. Es una especie dioica (compuesto por plantas masculinas y femeninas), las plantas masculinas forman conos con más frecuencia que las hembras, el ciclo del cono femenino dura aproximadamente un año desde el inicio de la polinización hasta la dehiscencia y producen de 7 a 170 semillas. Sus raíces se ramifican por repetidas dicotomías son características de la familia Cycadaceae y reciben el nombre de coraloides debido a que son cercanas a la superficie a través de las cuales fijan el

nitrógeno atmosférico en asociación con cianobacterias (Vovides *et al.*, 2001; Pérez-Farrera *et al.* 2006).

Distribución

C. mirandae se distribuye desde el Pacífico hasta la Sierra Madre de Chiapas, es una especie endémica de la zona de amortiguamiento “la Reserva de la Biosfera La Sepultura” en el municipio de Villaflores. Crece en bosques de encino y selva media perennifolia en rangos altitudinales de 900 a 1,200 msnm (Pérez-Farrera *et al.* 2008).

Estado de conservación

De acuerdo a la Lista Roja de la Unión para la Conservación de la Naturaleza (UICN) el estado de conservación mundial de *C. mirandae* es “en peligro” (Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza, 2003). Actualmente el estado de conservación nacional para México se encuentra dentro de la categoría de “en peligro de extinción” (P) por la Norma Oficial Mexicana (NOM-059-SEMARNAT-2010) (DOF, 2010). Los bosques de pino y encino, que son el hábitat principal de las cícadas están siendo transformados por técnicas agrícolas como la tala y quema por parte de agricultores, lo que está afectando a las poblaciones silvestres (Vovides *et al.* 2001; Pérez-Farrera *et al.*, 2008).

Biofertilizantes

La interpretación del término biofertilizante es muy amplia, representando desde microorganismos, abonos verdes y estiércoles, hasta extractos de plantas. De manera sintetizada, podemos decir que son productos que contienen microorganismos, que al

ser inoculados pueden vivir asociados o en simbiosis con las plantas y le ayudan a su nutrición y protección (Vessey, 2003). Estos microorganismos se encuentran de forma natural en el suelo y abarcan diversos grupos; sin embargo, su población es afectada por el manejo de suelo y uso excesivo de agroquímicos (Caballero *et al.*, 1992; Grageda *et al.*, 2003).

La producción de biofertilizantes se centra en países desarrollados donde es una práctica adoptada. Se fabrican por empresas gubernamentales o privadas e incluyen bacterias de los géneros *Rhizobium*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas* y hongos del género *Trichoderma*, son inocuos y se requiere de un cuidadoso manejo para no menguar su efectividad. En muchos países en desarrollo no hay industrias de biofertilizantes, lo cual hace aún más difícil su popularización. Además, en muchas áreas rurales hay una renuencia básica a usar bacterias y hongos como microorganismos benéficos, en estas culturas los microbios están asociados con enfermedades humanas y de animales (Bashan, 2008).

En México, la producción actual de biofertilizantes se realiza por pequeñas empresas, instituciones de educación e investigación y por el INIFAP, apoyada por el gobierno federal y/o por gobiernos estatales. A pesar de este desarrollo, la distribución y aplicación a gran escala ha tenido serias dificultades, principalmente por problemas de promoción y distribución (Grageda *et al.*, 2012).

Actualmente, existe una gran variedad de biofertilizantes con diversas funciones y atendiendo al tipo de cultivo. Los biofertilizantes más difundidos se componen de

bacterias y hongos (Pooja *et al.*, 2007; All-Taweil *et al.*, 2009). Se clasifican en dos grupos: el primer grupo incluye microorganismos que tienen la capacidad de sintetizar sustancias que promueven el crecimiento de la planta, fijar nitrógeno atmosférico, solubilizar hierro y fósforo inorgánico y mejorar la tolerancia al estrés por sequía, salinidad, metales tóxicos y exceso de pesticidas por parte de la planta; y el segundo grupo incluye microorganismos que son capaces de disminuir o prevenir los efectos de deterioro de microorganismos patógenos (Bashan y Holguin, 1998; Lucy *et al.*, 2004). Puede haber microorganismos que puedan estar en los dos grupos, que además de promover el crecimiento de la planta, también inhiban los efectos de microorganismos patógenos (Kloepper *et al.*, 1980).

Bacterias promotoras del crecimiento

Las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (BPCV) representan una amplia variedad de bacterias del suelo, las cuales cuando crecen en asociación con las plantas estimulan su crecimiento. Las cinco actividades biológicas por las cuales las BPCV pueden mejorar el estado nutricional de las plantas son:

1. Fijación de Nitrógeno
2. Producción de reguladores del crecimiento, vitaminas y otras sustancias
3. Disponibilidad de nutrientes en la rizosfera
4. Incremento en el área superficial de la raíz
5. Control de microorganismos patogénicos (Lugtenberg y Kamilova, 2009).

La capacidad de producir reguladores de crecimiento está ampliamente distribuida entre las bacterias que viven asociadas a las plantas y aproximadamente el 80% son

productoras de auxinas (Bowen y Rovira, 1999). La auxina más importante en términos cuantitativos es el ácido 3-indol-acético (AIA), la producción de este regulador incrementa el sistema radical y se relaciona con la mayor absorción de nutrimentos (Okon y Kapulnik, 1986).

Hongos endófitos

A diferencia de los hongos de tipo micorrizas, que colonizan raíces y que crecen en la rizosfera, los hongos endófitos, por lo general residen y crecen por completo dentro de los tejidos de las plantas. Diversos estudios han demostrado que los hongos endófitos abarcan todos los grupos taxonómicos de las plantas, ya que viven en diferentes ambientes (Aly *et al.*, 2011). Participan en la inducción de la resistencia a patógenos y a metales pesados, incrementando tolerancia a factores de estrés biótico y abiótico (Rodríguez *et al.*, 2009), mejoran la toma de nutrientes y participan en la producción de fitohormonas y en la síntesis de compuestos con actividad biológica como, antibióticos y otros metabolitos secundarios (Tan *et al.*, 2001; Rodríguez *et al.*, 2009; Aly *et al.*, 2011).

Algunas de las funciones que desempeñan los hongos endófitos son:

1. Promover el crecimiento de las plantas
 - a) Producción de metabolitos secundarios (por ejemplo, fitohormonas).
 - b) Proporcionar nutrientes al huésped (p. ej., translocación de fósforo).
2. Competencia con patógenos y herbívoros
 - a) La utilización de sustrato y la colonización del nicho compartido pueden inhibir o restringir la invasión de patógenos nocivos.
 - b) Producción de metabolitos antagonistas

3. Inducción de defensas del huésped (p. ej., resistencia sistémica inducida ISR) (Terhonen *et al.*, 2019).

El hongo del género *Trichoderma* es habitante común en la rizosfera, tiene varios mecanismos a través de los cuales influye el desarrollo de las plantas tales como la producción de reguladores de crecimiento, la solubilización y absorción de P, Cu, Fe, Zn, y Mn, y capacidad antagónica contra ciertos hongos fitopatógenos de plantas de interés agrícola (Gravel *et al.*, 2007; Osman *et al.*, 2010).

Respuestas antagónicas de los endófitos

La detección primaria inicial para actividades antagónicas se puede lograr con el método de confrontación dual *in vitro*, en donde en medio de cultivo con agar se coloca de un lado un explante del endófito y del lado contrario un explante del patógeno y se monitorea el crecimiento de ambos. El crecimiento del endófito generalmente es más lento y, por lo tanto, puede ser necesario colocarlo unos días antes del patógeno. El aislamiento del compuesto activo facilitará las pruebas *in vitro* para determinar la actividad antagonista. De acuerdo a los resultados, el efecto de inhibidor de los endófitos contra el patógeno puede evaluarse mediante tres diferentes modos de acción (Terhonen *et al.*, 2019).

Micoparasitismo

El micoparasitismo o hiperparasitismo requiere que ambas especies que interactúan estén en una proximidad cercana donde el hiperparásito usa el contenido de las células

del patógeno como fuente de nutrientes, a menudo a través de estructuras especializadas (por ejemplo, haustorios) (Narayanasamy, 2013).

Un ejemplo del enfoque basado en el hiperparasitismo para controlar un patógeno vegetal es el uso de cepas hipovirulentas de *Cryphonectria parasitica* para controlar el tizón del castaño. La hipovirulencia del patógeno del castaño es causada por dsRNA micovirus. Las cepas portadoras de virus se utilizan para la inoculación de castaños, donde el virus puede propagarse en la población de patógenos a través de anastomosis de hifas, lo que da como resultado una disminución de la virulencia del patógeno y una formación más lenta de canchales. La infección viral también provoca una reducción en la producción de esporas asexuales y en la reproducción sexual de *C. parasitica* (Milgroom y Cortesi, 2004).

Antagonismo

Los endófitos a menudo se enfrentan a los sistemas de defensa del huésped durante el crecimiento invasivo dentro de los tejidos vegetales. Para crecer de forma asintomática en sus huéspedes, los hongos endófitos deben mantener múltiples antagonismos equilibrados, con el huésped y con los otros competidores microbianos (Schulz *et al.*, 2015). Aunque la mayoría de los hongos patógenos son capaces de superar la reacción de defensa de su huésped, lo que lleva a la enfermedad, los endófitos, por otro lado, pueden tolerar la defensa del huésped para infectar y colonizar los tejidos (Schulz *et al.*, 1999).

Los endófitos también son capaces de mejorar la tolerancia del huésped hacia los factores bióticos y abióticos. La presencia de endófitos en las plantas hospedantes ayuda a las plantas hospedantes a desarrollar una mejor tolerancia hacia los hongos patógenos (Arnold *et al.*, 2003) y disuade a los herbívoros de pastar (Jallow *et al.*, 2004; Herre *et al.*, 2007).

Antibiosis

En muchos casos, los agentes de biocontrol pueden inhibir el crecimiento y desarrollo de patógenos sin necesidad de un contacto directo, porque los compuestos o enzimas secretados por los agentes de biocontrol pueden tener un fuerte efecto inhibitorio sobre el patógeno objetivo. Este tipo de interacción se conoce como antibiosis (Narayanasamy, 2013).

Trichoderma virens, un agente de biocontrol aprobado, puede producir los antifúngicos gliotoxina y gliovirina para controlar los hongos que infectan las raíces. (Avis y Belanger, 2001; Cheng *et al.*, 2003; Howell, 2003).

Muchas especies de *Trichoderma* utilizadas en el control biológico son conocidas como potentes productoras de enzimas hidrolíticas: quitinasas, β -glucanasas y proteinasas. Las chitinasas y glucanasas secretadas pueden tener un papel importante en la degradación de los polímeros de la pared celular de los hongos patógenos de las plantas. Los mutantes de *Trichoderma* con niveles más bajos de enzimas secretadas son menos efectivos como agentes de control biológico (Punja y Utkhede, 2003).

Se ha propuesto que la inactivación de las enzimas hidrolíticas de *Botrytis cinerea* por cisteína proteasas secretadas por *Trichoderma harzianum* tiene un papel en el biocontrol de la infección por *Botrytis* (Kapat *et al.*, 1998; Elad y Kapat, 1999). Algunas especies de *Trichoderma* son capaces de producir tanto compuestos antibióticos como enzimas hidrolíticas secretadas, y su acción sinérgica en biocontrol ha sido reportada (Schirmbock *et al.*, 1994; Lorito *et al.*, 1996).

Mecanismos de control biológico

La siguiente definición de control biológico fue provista por Eilenberg *et al.*, (2001) “el uso de organismos vivos para suprimir la densidad de población o impacto de un organismo plaga específico, haciéndolo menos abundante o menos dañino de lo que sería de otro modo”. Se pueden distinguir cuatro estrategias de control biológico en función del origen (nativo o introducido), la capacidad de reproducirse después de la liberación y la duración prevista del control (permanente o temporal): 1) control biológico clásico, 2) inoculación biológica, 3) control biológico de inundaciones y 4) control biológico de conservación (Eilenberg *et al.*, 2001; Roderick y Navajas, 2003).

- 1) El control biológico clásico: implica la introducción de una especie exótica (agente de control biológico) en un nuevo entorno para el establecimiento permanente y el control a largo plazo. Esta estrategia de control a menudo se aplica para controlar plagas de insectos y malezas, pero no se usa para controlar patógenos de plantas.
- 2) El control biológico por inoculación: se basa en la liberación de un organismo (el agente de control) que es capaz de multiplicarse después de la liberación y

controlar la plaga (o patógeno) durante un período prolongado, pero no de forma permanente.

- 3) El control biológico de inundaciones: se logra mediante los propios organismos liberados (agentes de control). En este caso, los agentes de control generalmente se liberan en grandes cantidades para garantizar un efecto inmediato, pero su capacidad para multiplicarse en el medio ambiente es limitada y no brindan control a largo plazo.
- 4) El control biológico de conservación: no requiere la introducción o liberación intencional de agentes de control. Se basa en la modificación del medio ambiente para promover el desarrollo de enemigos naturales específicos capaces de atacar la plaga o el patógeno específico (Terhonen *et al.*, 2019).

Los mecanismos de acción conocidos de los agentes de biocontrol se pueden clasificar en dos grupos principales: mecanismos que reducen directamente el crecimiento y desarrollo del patógeno y mecanismos que inducen respuestas del huésped. Las interacciones entre los organismos de control biológico y los patógenos correspondientes pueden ser directas, cuando se produce contacto físico entre dos microorganismos, o indirectas, es decir, sin contacto directo (Punja y Utkhede, 2003; Tjamos *et al.*, 2010; Narayanasamy, 2013).

Atributos ecológicos de los endófitos

En la naturaleza, los endófitos generalmente tienen una asociación positiva con sus plantas hospedantes. Se ha informado que las asociaciones de plantas hospedantes

endófitas mejoran el crecimiento de las plantas e inducen el sistema de defensa de las plantas. Los endófitos influyen en el crecimiento de las plantas al modular la transferencia de nutrientes a sus plantas anfitrionas y/o al provocar que las plantas anfitrionas produzcan hormonas de crecimiento vegetal (Khan *et al.*, 2012; Kei *et al.*, 2016).

Promoción del crecimiento

Los atributos que promueven el crecimiento de las plantas por parte de los endófitos se deben principalmente a la producción de diversas enzimas u hormonas que inducen el crecimiento, a saber, la enzima 1-aminociclopropano-1-descarboxilato desaminasa, la hormona ácido indol-3-acético y otras biomoléculas producidas por los endófitos que ayudan en la fijación de nitrógeno, la solubilización de fosfato y la producción de sideróforos (Kruasuwan y Thamchaipen, 2016). En respuesta a las hormonas y enzimas producidas, se puede observar el alargamiento de las células de la raíz y del meristemo, y la expansión de la hoja (Schmelz *et al.*, 2003; Glick, 2005; Saleem *et al.*, 2007).

Los endófitos solubilizadores de fosfato también contribuyen a mejorar la adquisición de nutrientes que conducen a un mejor crecimiento de las plantas (Maccheroni y Azevedo, 1998). Los diazotrófos endófitos (p. ej., *Bacillus*, *Enterobacter*) y los actinomicetos (p. ej., *Microbispora*, *Streptomyces*) son solubilizadores de fosfato conocidos, con un gran potencial como biofertilizantes del futuro. La promoción del crecimiento y, en ciertos casos, el rendimiento, se observa a menudo cuando se introducen en las plantas cepas endófitas compatibles (Yien, 2021).

Respuesta de defensa de las plantas

Al alterar el equilibrio hormonal en las plantas, los patógenos utilizan la maquinaria defensiva de las plantas para su beneficio e inducen o suprimen los procesos relevantes para la muerte celular y la acumulación de compuestos antimicrobianos (Robert *et al.*, 2011; Kovalchuk *et al.*, 2013). La capacidad de los endófitos para colonizar asintóticamente los tejidos del huésped podría atribuirse a su capacidad para modular las moléculas de señalización del huésped, las fitohormonas, concentraciones endógenas de ácido jasmónico (JA) y ácido salicílico (SA) (Navarro y Heil, 2014).

Hongos fitopatógenos

En general, los patógenos en los ecosistemas tropicales disminuyen el rendimiento de los cultivos entre un 50 y un 100% más que en los ecosistemas templados (Griffin y Carson, 2018). El patógeno agrícola más destructivo a nivel mundial es el tizón del arroz causado por *Magnaporthe oryzae* (Sordariomycetes), que destruye suficiente arroz para alimentar a más de 60 millones de personas al año (Scardaci *et al.* 1997). Los hongos del género *Colletotrichum* (Sordariomycetes) son particularmente dañinos para las especies de cultivos tropicales como el banano, mandioca, sorgo y caucho, donde pueden causar hasta un 100% de mortalidad (Prusky 1996; Cao *et al.* 2017).

Los patógenos fúngicos generalmente se encuentran dentro del Phyla Ascomycota y Basidiomycota y causan más daño a los huéspedes en sistemas tropicales que en los sistemas templados. Siete de los 10 patógenos fúngicos científicamente y económicamente importantes se encuentran dentro de Ascomycota, mientras que los tres

restantes se encuentran en Basidiomycota. El género *Fusarium* se encuentra de dentro de 10 patógenos más devastadores a nivel mundial (Dean *et al.*, 2012).

Género *Fusarium*

El género *Fusarium* constituye un gran grupo monofilético de varios cientos de especies, es un grupo de hongos filamentosos que están ampliamente distribuidos en el suelo, en las partes aéreas y subterráneas y en todo el resto de plantas (Patil y Sriram 2020).

Características morfológicas de *Fusarium*

La principal característica es que producen macroconidias multiseptadas fusoides, con excepción de algunas pocas especies (O'Donnell *et al.*, 2013). Al microscopio, la fiálide es generalmente fina, con forma de botella; simple o ramificada; cortas o largas; monofialídica (que emergen esporas de un poro de la fiálide) o polifialídica (de varios poros). Hay dos tipos de conidios: macroconidios (esporas grandes y multicelulares) y microconidios (esporas pequeñas y unicelulares). Los macroconidios presentan forma de medialuna, hialinos y septados (Figura 2a). Para su correcta clasificación es importante el largo, ancho, curvatura, septos, agrupaciones mucoides (esporodoquios) y detalles de las células de los extremos (célula apical y pie) (Tapia y Amaro, 2014).

Los microconidios, ausentes en algunas especies, poseen variadas formas (fusiformes, ovals, clavadas, entre otras), agrupaciones (estructuras mucoides llamadas falsas cabezas), en cadenas largas o cortas (Figura 2b). Otro tipo de conidios son los mesoconidios, que son similares, pero de menor tamaño que los macroconidios y nunca

forman estructuras mucoides. Por último, pueden observarse las clamidosporas características con doble pared gruesa, lisa o rugosa; de manera aislada, en pareja o en grupo (Leslie y Summerell, 2006).

Biología del género *Fusarium*

Tienen diferentes formas de vida, en la rizosfera se encuentran de manera abundante y pueden sobrevivir como saprófitos, sin embargo, una vez que alcanzan al huésped correspondiente lo infectan y entran en un estilo de vida parásito, estos son patógenos vegetales de importancia agrícola, y también pueden ser endófitos, estos habitan al interior de los tejidos de las plantas (Sajeena *et al.*, 2020).

El género *Fusarium* como fitopatógeno

Numerosas especies causan enfermedades y grandes pérdidas en varias especies de plantas de cultivos de importancia económica (Joshi *et al.*, 2013), entre los más importantes se encuentran el maíz (*Zea mays*), tomate (*Solanum lycopersicum*), trigo (*Triticum* spp.), avena (*Avena sativa*), cebada (*Hordeum vulgare*), entre otros (Santos-Gerardo *et al.*, 2017). El patógeno invade directamente la base de los tallos, cerca o debajo de la superficie del suelo, o entra a la planta a través de las raíces (Cook, 2010). Las esporas de hongos germinan en el área afectada (herida) y se favorece cuando hay alta humedad y altas temperaturas (Mokobi, 2020). En campo los síntomas por *Fusarium* provocan la pudrición y el marchitamiento de las plantas, forma lesiones hundidas de color negro o marrón en la base de los tallos, además, pueden presentarse manchas rojizas en los pecíolos cercanos a la copa de la planta y, a veces, masas de micelios

rosadas o blancas que crecen en la base de los esquejes o en la copa de una planta (Ortoneda *et al.*, 2004; Buechel, 2018).

Especies saprófitas del género *Fusarium*

Los saprófitos habitan el suelo y son capaces de metabolizar diversos sustratos, (Olivain y Alabouvette 1997). Las clamidosporas que produce *Fusarium*, son resistentes a las condiciones adversas del medio ambiente, esto le permite al hongo sobrevivir por prolongados tiempos en el suelo (Koike *et al.*, 2019). Las especies de *Fusarium* son saprofitas en algunas de sus fases de crecimiento y pueden o no desarrollar una fase de reproducción sexual según la especie. Se han descrito estados sexuales (teleomorfos) para algunas especies de *Fusarium*. Todos los teleomorfos conocidos de *Fusarium* spp. están incluidos en el orden Hypocreales de Ascomycota, pero se han clasificado en varios géneros diferentes (por ejemplo, *Gibberella* y *Nectria*) (Puhalla 1981; Samuels *et al.* 2001).

Endófitos del género *Fusarium*

Los hongos endófitos del género *Fusarium*, habitan en los tejidos internos de las plantas sin causar ningún síntoma (Burgess, 1981). A partir de raíces asintomáticas se han aislado muchas especies de *Fusarium* no patogénicas, estos aislados son capaces de colonizar las superficies de las raíces de las plantas y protegerlas incluso de patógenos altamente virulentos, entre las principales especies se encuentran *F. oxysporum*, *F. solani* y *F. fujikuro* (Al-Ani, 2016; Saejeena *et al.*, 2021). A continuación, se describen los estudios que demuestran su potencial uso como biofertilizantes en la promoción de crecimiento y como agente biocontrol de patógenos a través de diferentes mecanismos.

Mecanismos de acción de *Fusarium*

Las cepas de *Fusarium* no patogénicas tienen diferentes modos de acción, pueden competir por los nutrientes y por el espacio. Pantelides *et al.* (2009), demostraron que cepas de *Fusarium* no patógenas podían competir por el espacio y los nutrientes mucho más rápido que el patógeno *Verticillium dahliae* y descubrieron que la colonización y la absorción más rápida de nutrientes eran el principal modo de acción. Larkin y Fravel (1999) informaron que tres aislados de *Fusarium* no patógenos tenían buena respuesta contra la marchitez en cultivos atribuyéndolo a la gran capacidad para competir por los nutrientes contra el patógeno *F. oxysporum* en plantas de tomate.

Colonización de la raíz por *Fusarium*

Los aislados de *Fusarium* no patógenos que inhibieron el marchitamiento en sandía mostraron muy buena capacidad de colonización de rizosferas (Robert *et al.*, 1996). Jaroszuk *et al.* (2008) informaron sobre la colonización de raíces y la promoción del crecimiento de plantas en centeno mediante aislados no patogénicos de *Fusarium*. La colonización se observó únicamente en la epidermis y la corteza, a diferencia de los aislados patógenos que colonizan los vasos. Schouten *et al.* (2009), observaron alteraciones en la composición de los exudados de las raíces que resultó en la reducción y repelencia a nemátodos. Utilizando la tinción GUS de cepas no patógenas de *Fusarium*, Eparvier y Alabouvette (1994) demostraron que estas cepas podían reducir la colonización por cepas patógenas de *F. oxysporum*, y también reducir la marchitez en tomate (Bao y Lazarovits, 2001).

Promoción del crecimiento vegetal por *Fusarium*

El tratamiento con aislados de *Fusarium* no patógenos mejoró los parámetros de crecimiento longitud, peso de raíz y brote de la planta de tomate (Patil *et al.*, 2011). Todas estas cepas de *Fusarium* fueron positivas a la producción de ácido indolacético (AIA) y ácido giberélico (GA) y para la solubilización de fosfatos. En condiciones de invernadero, Raghunandan (2013), observó un aumento significativo en los parámetros de crecimiento de plantas de tomate, una reducción de la incidencia de enfermedades de marchitez y una mejor colonización de las raíces debido al tratamiento con estas cepas.

Inducción de la resistencia sistémica por *Fusarium*

La resistencia sistémica inducida ha sido identificada como el principal modo de acción en muchas de las cepas no patógenas de *Fusarium*, reportado por primera vez por Biles y Martyn (1989). A través de diferentes mecanismos, se ha comprobado que cepas avirulentas de *Fusarium* pueden inducir la resistencia sistémica contra patógenos como *Colletotrichum lagenarium* (Biles y Martyn, 1989). Mediante la secreción de metabolitos secundarios como el ácido salicílico, fitoalexinas y especies reactivas de oxígeno, se puede inducir la resistencia sistémica contra *Radopholus similis* (Paparú *et al.*, 2010). Por su parte Siddiqui y Shaukat (2003) reportaron que son capaces de inducir un compuesto volátil llamado benzaldehído que redujo la gravedad de los nudos de las raíces del cultivo de tomate, además, parasitaron los huevos de *Meloidogyne javanica* (Siddiqui y Shaukat 2003). Incluso, se ha demostrado que aislados no patógenos de *Fusarium* producen compuestos antifúngicos contra patógenos vegetales (Lairini *et al.*, 1997).

Resultados

Capítulo I: artículo

Cepas de *Fusarium* endófitas de *Ceratozamia mirandae* promueven el crecimiento en plántulas de jitomate, inhiben el crecimiento de hongos patógenos e inducen protección contra *Botrytis cinerea*.

Endophytic *Fusarium* strains from *Ceratozamia mirandae* promote growth in tomato seedlings, inhibit the growth of pathogenic fungi and induce protection against *Botrytis cinerea*.

NIDIA DEL C. RÍOS-DE LEÓN^{1*}, MIGUEL Á. SALAS-MARINA¹, VIDAL HERNÁNDEZ-GARCÍA¹, BRENDA DEL R. SALDAÑA-MORALES¹, LUIS A. RODRÍGUEZ-LARRAMENDI¹, RUBÉN MARTÍNEZ-CAMILO¹, CLAUDIO RÍOS-VELASCO² Y DANIEL A. PÉREZ-CORRAL²

¹Laboratorio de Biofertilizantes y Bioinsecticidas, Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas, Facultad de Ingeniería Agroforestal, sede Villa Corzo. Km 3.0 Carretera Villa Corzo, Ejido Monterrey. C. P. 30520. Chiapas, México. ²Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, Av. Río Conchos, Parque Industrial C.P. 31500, Ciudad Cuauhtémoc, Chihuahua.

*Autor de correspondencia: miguel.salas@unicach.mx

Running title: Cepas benéficas de *Fusarium* con potencial biofertilizante.

Author contributions: NCRL (<https://orcid.org/0009-0000-5013-2691>) field and laboratory work, writing the paper; BRSM (<https://orcid.org/0009-003-9882-0567>) and DPC (<https://orcid.org/0000-0001-8298-2738>) laboratory work; VHG (<https://orcid.org/0000-0002-9383-6426>) and CRV (<https://orcid.org/0000-0002-3820-2156>) equipment and reagents for the experiments; LARL (<https://orcid.org/0000-0001-8805-7180>) data analysis; RMC (<https://orcid.org/0000-0002-9057-8601>) field work and data analysis; MASM (<https://orcid.org/0000-0002-4737-2069>) design of the experiments, writing and reviewing the paper.

Resumen

Antecedentes: Las enfermedades fúngicas en cultivos agrícolas provocan pérdidas económicas, donde el principal método de control es el químico impactando negativamente en el medio ambiente y la salud humana.

Pregunta: ¿Los hongos endófitos de raíces de *Ceratozamia mirandae* tienen potencial de biofertilizantes?

Especies de estudio: *Arabidopsis thaliana*, *Solanum lycopersicum*, *Botrytis cinerea*, *Ceratozamia mirandae*, *Colletotrichum karstii*, *Fusarium oxysporum*, y *Neopestalotiopsis* sp.

Sitio de estudio y fechas: Juan Sabines, Villa Corzo, Chiapas, México, 2022.

Método: Los hongos endófitos fueron identificados morfológicamente y molecularmente, caracterizados bioquímicamente y evaluados en cuanto a su actividad antagónica contra *C. karstii*,

Neopestalotiopsis sp. y *F. oxysporum*, promoción del crecimiento en *A. thaliana* y jitomate, y protección contra *B. cinerea*.

Resultados: Se identificaron 14 cepas de hongos agrupados en seis géneros; *Fusarium*, *Pestalotiopsis*, *Trichoderma*, *Umbelopsis*, *Nectria* y *Podospora*. *Fusarium proliferatum* (JS311) y *F. oxysporum* (JS239) inhibieron a los patógenos evaluados. Ocho cepas produjeron ácido indol-3-acético (AIA) y promovieron el crecimiento de *A. thaliana* y tomate, de las cuales *F. oxysporum* (JS439) y *F. solani* (JS240, JS256 y JS4101) produjeron sideróforos y fijaron nitrógeno. Todos los hongos endófitos indujeron resistencia sistémica contra *B. cinerea* en jitomate.

Conclusiones: Los endófitos de *C. mirandae* son promisorios como biofertilizantes, por sus mecanismos de actividad anti-fitopatogénica, promoción del crecimiento vegetal e inducción de resistencia sistémica, mediante la producción de metabolitos benéficos. Este es el primer reporte en México de cepas de *Fusarium* aisladas de *C. mirandae* con potencial de biofertilizantes.

Palabras clave: *Arabidopsis*, *Botrytis cinerea*, *Solanum lycopersicum*.

Abstract

Background: Fungal diseases in agricultural crops cause economic losses where the use of fungicides is the main method to suppress them; however, they negatively impact the soil, environment and human health.

Questions: Do root endophytic fungi of *Ceratozamia mirandae* have phytoprotective potential or as biofertilizers?

Species study: *Arabidopsis thaliana*, *Solanum lycopersicum*, *Botrytis cinerea*, *Ceratozamia mirandae*, *Colletotrichum karstii*, *Fusarium oxysporum* and *Neopestalotiopsis* sp.

Study site and years of study: Juan Sabines, Villa Corzo, Chiapas, Mexico, 2022.

Methods: endophytic microorganisms were identified morphologically, molecularly, biochemically characterized and evaluated for their antagonistic activity against *C. karstii*, *Neopestalotiopsis* sp. and *F. oxysporum*, growth promotion in *A. thaliana* and tomato, and protection against *B. cinerea*

Results: 14 endophytic fungi strains isolated of *C. mirandae* were identified that belong to and six genera; *Fusarium*, *Pestalotiopsis*, *Trichoderma*, *Umbelopsis*, *Nectria* and *Podospora*.

Fusarium proliferatum (JS311) and *F. oxysporum* (JS239) inhibited the pathogens evaluated. Eight strains produced indole-3-acetic acid (IAA) and promoted the growth of *A. thaliana* and tomato; of which *F. oxysporum* (JS439) and strains (JS240, JS256 and JS4101) of *F. solani* produced siderophores, fixed atmospheric nitrogen, but did not solubilize phosphates. All endophytic fungi induced systemic resistance against *B. cinerea*.

Conclusions: *C. mirandae* endophytes are promising for use as biofertilizers, due to their mechanisms of promoting plant growth and inducing systemic resistance, through the production of beneficial metabolites. In addition to its anti-phytopathogenic activity. This is the first report in Mexico of *Fusarium* strains isolated from *C. mirandae* with biofertilizer potential.

Keyword: *Arabidopsis thaliana*, *Botrytis cinerea*, *Solanum lycopersicum*.

Las plagas y enfermedades agrícolas anualmente reducen el rendimiento de los cultivos entre un 30 y 50 % a nivel mundial (Grabka *et al.* 2021). El método de control más extensamente utilizado en la agricultura moderna, es el químico (Long *et al.* 2019). Sin embargo, el uso excesivo de productos químicos ha provocado el desarrollo de resistencia de los patógenos y plagas, pérdida de la biodiversidad, deterioro de los suelos, daños a la fauna benéfica (Marfetán *et al.* 2023) y a la salud humana y animal (Magnusson & Cranfield 2005).

El uso de microorganismos endófitos (ME) en biofertilizantes es una estrategia efectiva para mejorar el rendimiento y calidad de los cultivos agrícolas (Hatamzadeh *et al.* 2022), controlar enfermedades causadas por patógenos y suprimir daños por plagas (Saad *et al.* 2019), reducir la dependencia de insumos químicos y con ello mitigar el impacto ecológico (Maciag *et al.* 2020). Estudios recientes han documentado el potencial de los ME como biofertilizantes en la agricultura. (Khan *et al.* 2021), demostraron que ME del género *Acremonium* aislados de *Lilium davidii* tuvieron actividad antifúngica y promovieron el crecimiento de *Allium tuberosum*, además, de producir sustancias implicadas en la promoción del crecimiento de las plantas, tales como el ácido-3-indolacético (AIA), sideróforos, ácidos orgánicos y solubilizar fosfatos. Los ME pertenecientes a los géneros *Alternaria*, *Didymella*, *Fusarium* y *Xylogone* aislados de *Sophora flavescens* promovieron el crecimiento de las raíces primarias en *Arabidopsis thaliana*, así mismo produjeron AIA, sideróforos y solubilizaron fosfatos (Turbat *et al.* 2020). Especies del género *Trichoderma* han sido ampliamente usados como agentes de control biológico, por su capacidad de conferir resistencia a las plantas contra patógenos (Wang *et al.* 2021), además de incrementar la productividad de cultivos agrícolas de importancia económica (Proveda *et al.* 2019).

Los ME, viven dentro de diferentes tejidos de las plantas durante parte o todo su ciclo de vida y les proporcionan a sus hospederos una amplia gama de propiedades biológicas (Le Cocq *et al.* 2017). Los efectos principales son: i) incrementan la tolerancia de las plantas frente a factores estresantes abióticos (acidez, salinidad, metales pesados, sequía, inundaciones, temperaturas extremas) y factores bióticos (patógenos, insectos y herbívoros) (Su *et al.* 2021); ii) promoción del crecimiento de las plantas a través de la producción y secreción de hormonas vegetales como giberelinas y auxinas (Busby *et al.* 2016), solubilizan elementos y compuestos disponibles en el suelo, como el fosfato y hierro, haciéndolos disponibles para las plantas (Grabka *et al.* 2021), pudiendo inclusive movilizar la transferencia del nitrógeno a la planta (Glick 2014), y iii) inducción de mecanismos de defensa sistémica en la planta a través de la producción de metabolitos secundarios antifúngicos y/o antibióticos que inhiben el desarrollo de patógenos o a través de la competencia por el espacio y nutrientes disponibles en la planta (Becker & Sadtler 2021).

La rizosfera es una rica fuente de microorganismos multicelulares rizosféricos o endofíticos (Sousa *et al.* 2019). Se estima que existen más de 1 millón de especies de ME, entre bacterias y hongos asociados aproximadamente a 300,000 especies de plantas (Fouda *et al.* 2015). Sin embargo, diversos estudios sugieren que la diversidad de comunidades endofíticas asociadas a diferentes especies de plantas se encuentra todavía subestimada (U'Ren & Arnold 2016, Coleman-Derr *et al.*

2016). (Ulloa-Muñoz *et al.* 2020), aislaron especies de microorganismos endófitos (ME) asociados a plantas nativas y endémicas de la Cordillera Blanca de los Andes, capaces de promover el crecimiento de cultivos y de biocontrol de patógenos.

Lo anterior, sugiere que las plantas silvestres endémicas de áreas conservadas son un reservorio de una gran diversidad de ME. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue caracterizar hongos endófitos asociados a raíces de *Ceratozamia mirandae* Pérez, Vovides e Iglesias, (Cycadales: Zamiaceae), especie endémica de Chiapas, en sus capacidades de biocontrol contra fitopatógenos fúngicos, promoción de crecimiento de plantas e inducción de la resistencia sistémica en plántulas de jitomate contra *Botrytis cinerea*.

Materiales y Métodos

Área de estudio. Las muestras de raíces secundarias de *C. mirandae* fueron colectadas en la Reserva de Protección de Recursos Naturales “La Frailescana” en la localidad de “Juan Sabines” en el municipio de Villa Corzo Chiapas (16° 03’ 20.5” LN; 93° 28’ 41.6” LW a 1,817 msnm).

Muestreo y aislamiento de hongos endófitos (HE). Las raíces de *C. mirandae* fueron colectadas a una profundidad de 10 cm, empaquetadas en papel kraft, y trasladadas en bolsas de polietileno al Laboratorio de Biofertilizantes y Bioinsecticidas de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas (UNICACH-sede Villa Corzo). Las raíces fueron seccionadas con un bisturí en explantes de 10 mm, lavadas con etanol al 70 % por 3 min e hipoclorito de sodio al 10 % por 10 min, seguido de dos lavados con agua destilada estéril. Los explantes fueron sembrados en medio Papa Dextrosa Agar (PDA) e incubadas a 28 °C por 48 h. Después, las colonias fúngicas fueron aisladas y purificadas por medio de la técnica “punta de hifa”.

Identificación morfológica y molecular. Los hongos aislados se identificaron morfológicamente mediante la observación de las estructuras de reproducción con ayuda de un microscopio compuesto Axiolab Carl Zeiss® siguiendo claves dicotómicas (Watanabe 2002, Barnett & Hunter 1998). Para la identificación molecular, se extrajo el ADN genómico de los hongos utilizando el protocolo descrito por (Raeder & Broda 1985) y se realizó la amplificación y secuenciación del espaciador del gen transcrito interno (ITS) del 18s del rDNA con los primers ITS5 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') e ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (White *et al.* 1990). Los amplicones de la reacción en cadena de la polimerasa PCR fueron secuenciados por el método Sanger en un secuenciador ABI (Applied Biosystem) (Altschul *et al.* 1990). Las secuencias fueron alineadas utilizando CLUSTAL W con el software MEGA7®, comparadas con la base de datos del Centro Nacional Para la Información Biotecnológica (NCBI) usando el algoritmo de BLAST y registradas en el GenBank para obtener los números de acceso (Tamura *et al.* 2011).

Bioensayos in vitro de confrontación dual. Los HE se confrontaron contra *Colletotrichum karstii* y *Neoestalotiopsis* sp., patógenos foliares de palma camedor (Sarmiento-Chacón *et al.* 2023), y *Fusarium oxysporum* FoC (patógeno de semilleros de café) donados por el Laboratorio de

Biofertilizantes y Bioinsecticidas de la UNICACH-sede Villa Corzo. En un extremo de la caja con medio de cultivo PDA, se colocó un explante con crecimiento del patógeno y en el otro, uno con crecimiento del endófito y se incubaron a 28 °C por 8 días (d). La inhibición del crecimiento micelial (ICM) del patógeno se midió mediante la fórmula $[(R-r)/R]*100$; donde R es el crecimiento del patógeno testigo y r es el crecimiento del patógeno en interacción (Ríos-Velasco *et al.* 2016). Se utilizó un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones por cada hongo endofítico.

Bioensayos in vitro de promoción de crecimiento en Arabidopsis thaliana. El efecto de promoción de crecimiento de las cepas endofíticas de *C. mirandae* se evaluó en plántulas de *A. thaliana* (Col-0) con tres días de edad. Cada experimento constó de cuatro repeticiones y en cada repetición se usaron cinco plántulas. Las plántulas se colocaron en la parte superior de las cajas Petri con medio de cultivo Murashige y Skoog (MS) y en la parte inferior se colocó un explante de la cepa fúngica endofítica. Las cajas experimentales se mantuvieron con un fotoperiodo de 16 h de luz, 8 h de oscuridad a 25 °C, por 12 d y se monitorearon cada 24 h hasta que las raíces de las plántulas tuvieron contacto con el crecimiento fúngico del endófito (Salas *et al.* 2011a). Se tomaron como positivas aquellas plántulas que manifestaron alteraciones morfológicas en cuanto a arquitectura de las raíces y parte aérea.

Caracterización bioquímica de hongos con actividad promotora de crecimiento vegetal. La caracterización bioquímica *in vitro* se realizó utilizando diferentes protocolos y medios de cultivo, con 4 repeticiones por cada HE aislado de *C. mirandae*.

Detección de Ácido-3-Indolacético (AIA). La producción de AIA se determinó con el protocolo descrito por Oliveira *et al.* (2014). Explantes de los hongos endofíticos de 5 d precultivados en PDA solidificado, se incubaron en tubos de ensayo de 15 mL con caldo nutritivo suplementado con L-triptófano (150 g/L), en agitación constante a 1,800 rpm, 28±1 °C por 7 d. Los tubos se centrifugaron a 10,000 rpm por 15 min, se tomaron 2 mL del sobrenadante, se le adicionó 1 ml de la solución de Salkowski (100 mL de ácido perclórico al 35% y 2 mL de tricloruro de hierro al 0.5 M), y se incubaron por 30 min en oscuridad. Las cepas que cambiaron el color del medio de cultivo de amarillo a rosa se consideraron positivas. La cuantificación de AIA se realizó en un espectrofotómetro Evolution™ 300 UV-Vis Thermo Scientific® a 530 nm. Las absorbancias fueron comparadas con una curva de calibración previamente realizada a partir de un estándar de AIA en concentraciones de 0 a 0.10 mg/mL en medios de cultivo esterilizados sin inoculación (Ponce-de León 2022).

Detección de sideróforos. Para este propósito, los HE se sembraron en placas con medio de cultivo Cromoazurol S (CAS) solidificado, siguiendo el protocolo descrito por (Louden *et al.* 2011), se incubaron en oscuridad a 28±1°C por 7 d, las cepas que presentaron un halo de color naranja alrededor de la colonia del HE se consideraron positivas.

Ensayo de fijación de nitrógeno (N). Los HE fueron cultivados en medio de cultivo Ashby libre de N. Para preparar un litro, se usan: 20 g de sacarosa, 0.2 g de K_2HPO_4 , 0.2 g de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.2 g de NaCl, 0.1 g de K_2SO_4 , 5.0 g de $CaCO_3$ y 15 g de agar. Las placas se incubaron a 28 ± 1 °C por 7 d. Los HE que crecieron sobre el medio se consideraron positivas (Cun *et al.* 2022).

Ensayo de solubilización de fosfatos (P). La capacidad de los HE para solubilizar P fue determinada en medio de cultivo NBTRIP: 10g/L glucosa, 5g/L $Ca_3(PO_4)_2$, 5 g/L $MgCl_2 \cdot 6H_2O$, 0.25 g/L $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.2 g/L KCl, 0.1 g/L $(NH_4)_2 SO_4$ y 15 g de agar/L). Se sembró un explante de cada HE y se incubaron en oscuridad a 28 ± 1 °C por 7 d. Las cepas fúngicas que desarrollaron un halo transparente alrededor del crecimiento de la colonia fueron consideradas como positivas (Mehta & Nautiyal 2001).

Bioensayo de promoción de crecimiento de tomate. Se usaron charolas negras de germinación de 96 cavidades Hydroenviroment®, con sustrato peatmoss CosmoPeat®. Las semillas de jitomate *Solanum lycopersicum* var. Pomodoro USAgriseeds® fueron sembradas a 3 mm de profundidad y sometidas a diferentes tratamientos (Tabla 1). Como control positivo, se utilizó una cepa de *Fusarium oxysporum* (FoT), patógena de tomate donada por el Laboratorio de Biofertilizantes y Bioisecticidas de la UNICACH-sede Villa Corzo. Las semillas se inocularon con 20 μ l de 1×10^6 conidios/mL de cada uno de los HE al momento de la siembra y una segunda inoculación cinco días después de la emergencia, en cada inoculación se aplicó una fertilización con urea Fertiquim®, tomando en cuenta una densidad de 41,666 plantas por hectárea (Tabla 1) (Moreno-Pérez 2019). Las plántulas experimentales se mantuvieron en condiciones semicontroladas en malla sombra (50 % sombra), regadas evitando la lixiviación. Se utilizó un diseño completamente al azar con ocho repeticiones en cada tratamiento. 30 días después de la siembra (dds) se realizó un análisis destructivo en las plántulas de jitomate donde se midió el diámetro de tallo (DT, mm), longitud de raíz (LR, cm), altura de plántula (AP, cm), peso fresco de plántula (PFP, mg), peso fresco de raíces (PFR, mg), peso seco de plántula (PSP, mg), peso seco de raíces (PSR, mg) y clorofila relativa en hojas (Cl, μ mol $m^{-2} s^{-1}$). Las variables morfológicas DT, LR y AP se midieron con ayuda de un calibrador vernier electrónico Adeske®, el DT se midió a 3 cm de la base del tallo, LR desde la base del tallo hasta el final de la raíz principal, AP desde la base del tallo hasta el primer rebrote. Para las variables de biomasa vegetal (PFP y PFR) se separaron tallos y raíces de las plántulas y se pesaron en una balanza analítica Velab®. Para las variables PSP y PSR, las muestras se secaron en una estufa Thermo Scientific® a 70 °C por 72 h y se pesaron con la balanza analítica, para la variable Cl se usó un sensor Quantum Flux, Apogee® colocándolo en el centro de las hojas de cada plántula (Rodríguez-Larramendi *et al.* 2023).

Bioensayos de protección sistémica de plantas contra *Botrytis cinerea* inducida por hongos endófitas de *C. mirandae*. Hojas de 30 días de edad de plántulas de *S. lycopersicum* var. Pomodoro USAgriseeds producidas bajo el mismo sistema del bioensayo de promoción de crecimiento (Tabla 1) fueron inoculadas con 20 μ L del hongo necrotrófico *B. cinerea* (cepa CIAD-unidad Cuauhtémoc, Chihuahua) a una concentración de 1×10^6 conidios/ml, resuspendido en agua y

Break-Thru® BASF a 0.1 % (Salas *et al.* 2011b). Se utilizó un diseño completamente al azar con seis repeticiones por tratamiento y se inocularon tres hojas por plántula. Las plántulas se mantuvieron en un invernadero por 7 días a 26±2 °C. Las lesiones en las hojas se midieron utilizando el software ImageJ, empleando una escala de calibración (Scheider *et al.* 2012). El porcentaje de severidad se calculó utilizando la fórmula (% severidad: área dañada/área total*100) (Nutter *et al.* 2006).

Análisis estadístico. Los resultados se les realizó un análisis de varianza unidireccional (ANOVA) y una comparación de medias Tukey ($P \leq 0.05$) utilizando el paquete estadístico MINITAB19®. Los experimentos se realizaron por duplicado en diferentes tiempos.

Resultados

Hongos endófitos identificados. Las secuencias de ITS (ITS4-ITS5) de los HE presentaron similitudes del 94 al 100 % en el GenBank, mismas que se registraron en el NCBI, obteniendo diferentes números de acceso (Tabla 2). Se identificaron morfológica y molecularmente 14 cepas de HE de *C. mirandae* pertenecientes a los géneros *Fusarium*, *Pestalotiopsis*, *Trichoderma*, *Umbelopsis*, *Nectria* y *Podospora*, agrupados en 3 clases Sordariomycetes, Eauscomycetes y Zygomycetes (Tabla 2).

Cepas endófitas de *Fusarium* inhiben el crecimiento de patógenos. En el bioensayo de screening *in vitro* de confrontación de los HE contra *C. karstii*, las cepas *F. proliferatum* (JS311) y *F. oxysporum* (JS439) presentaron respuesta antagónica. *F. oxysporum* (JS439) inhibió el crecimiento micelial de *C. karstii*, *Neopestalotiopsis* sp. y *F. oxysporum* en 40.62, 29.25, y 20.93 %, respectivamente. Mientras que *F. proliferatum* (JS311) inhibió solo a *C. karstii* (39.13 %) y *Neopestalotiopsis* sp. (24.87 %) (Tabla 3).

Cepas endófitas de *Fusarium* promueven el crecimiento de *Arabidopsis*. Ocho de las 14 cepas de HE asociados a *C. mirandae* promovieron el crecimiento de plántulas de *A. thaliana*. Las cepas de *F. oxysporum* (JS414, JS439), *F. solani* (JS240, JS256, JS296, JS4101), *Nectria* sp. (JS285) y *Fusarium* sp. (JS286), modificaron positivamente la arquitectura de las raíces, pelos radiculares y parte aérea de las plántulas de *Arabidopsis*, comparadas con el control (Figura 1).

Cepas endófitas de *Fusarium* producen auxina, sideróforos y fijan nitrógeno. Las ocho cepas de HE que promovieron el crecimiento de *A. thaliana*, produjeron AIA en diferentes concentraciones (Tabla 4). Las cepas *F. oxysporum* (JS439), *F. solani* (JS240, JS256, JS4101) produjeron sideróforos. El halo de color naranja más grande en el medio Cromoazurool S (CAS) se observó en *F. oxysporum* (JS439) (Tabla 4). Seis cepas *F. oxysporum* (JS414, JS439), *F. solani* (JS240, JS296, JS4101) y *Nectria* sp. (JS285) resultaron capaces de fijar nitrógeno atmosférico (Tabla 4). Ninguna cepa resultó positiva para solubilizar fosfatos (Tabla 4).

Cepas endófitas de *Fusarium* promueven el crecimiento de jitomate. Las plántulas de jitomate inoculadas con las diferentes cepas de hongos endófitos de *C. mirandae*, *F. oxysporum* (JS414,

JS439), *F. solani* (JS240, JS256, JS296, JS4101), *Nectria* sp. (JS285) y *Fusarium* sp. (JS286), promovieron mayor crecimiento en las variables DT, LR, AP, PSP y PSR que los tratamientos control, T1, T2, T3, T4 (Tabla 5). En la variable DT, las plántulas inoculadas con los HE más 50 % de fertilización nitrogenada presentaron valores superiores que las plántulas control, incluso que el T4 100 % de fertilización nitrogenada. Los tratamientos a base de *Nectria* sp. (JS285) y *F. solani* (JS296) indujeron los valores más altos en DT con 2.02 y 1.96 mm, respectivamente (Tabla 5). Estos resultados sugieren que es posible producir plántulas de tomate con un tallo vigoroso al inocular las semillas con estas cepas de HE, reduciendo hasta un 50 % la fertilización nitrogenada. Las plántulas de tomate que presentaron mayor LR fueron las del tratamiento T3 control (50 % de nitrógeno) con 93.42 mm, seguido de los tratamientos inoculados con los HE *F. solani* (JS4101) + 50 % de nitrógeno y *Nectria* sp. (JS285) + 50 % de nitrógeno, con 92.65 mm y 91.65 mm, superando los tratamientos controles T1, T2 y T4 (Tabla 5). Los resultados sugieren que los HE no alteran la longitud de las raíces y pueden ser utilizados en la producción de plántulas de tomate con 50 % de nutrición. En la variable AP, los HE promovieron el crecimiento de las plántulas de jitomate, con valores superiores a los controles (T1, T2 y T3). Los tratamientos T4 (control 100 % de N) y *F. solani* (JS256) + 50 % de N, presentaron los valores más altos en AP con 72.88 y 72.77 mm, respectivamente, seguidos de *Nectria* sp. (JS285) con 69.25mm, (Tabla 5). En las variables de peso fresco de plántulas (PFP) y raíces (PFR) las plántulas inoculadas con los HE más 50 % de N, presentaron valores similares y comparativos con las del grupo control (100 % de N; T4), pero superiores a los tratamientos T1, T2 y T3. Los valores más altos en PFP (0.53 mg) y PFR (0.37 mg) se registraron con la cepa *F. solani* (JS256) + 50% de N (Tabla 5). En las variables PSP y PSR, las plántulas inoculadas con los HE + 50 % de N presentaron valores similares y comparativos con las plántulas del grupo control (100 % de N; T4) y superiores a los tratamientos T1, T2 y T3. No obstante, los valores más altos de PSP se registraron con *F. solani* (JS256) + 50 % de N y *Fusarium* sp. (JS286) + 50 % de N con 0.05 mg para ambos tratamientos. Para el PSR, *F. solani* (JS256) presentó el valor más alto con 0.05 mg comparado con los controles T1, T2, T3 y T4 (Tabla 5). Los valores más altos de concentración de clorofila en las hojas de jitomate se registraron en las plántulas tratadas con *Nectria* sp. (JS285) y *F. solani* (JS296) con valores de 224.60 y 221.76 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, respectivamente; mientras que las plántulas del tratamiento control (agua; T1) registraron una concentración de clorofila de 192.21 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (Tabla 5). Esto sugiere que la interacción de los HE de *C. mirandae* con las plántulas de jitomate aumenta la concentración de clorofila en las hojas.

Colonización de raíces de jitomate por cepas endófitas de Fusarium inducen resistencia contra B. cinerea. Después de siete días de interacción foliar planta-patógeno, se presentaron diferentes valores de severidad provocado por *B. cinerea*. Las hojas de las plántulas de jitomate tratadas con las diferentes cepas endófitas de *C. mirandae* presentaron menores porcentajes de severidad comparado con las hojas de los grupos controles (T2, T3 y T4). *Nectria* sp. (JS285) indujo la mayor resistencia sistémica con un valor de severidad más bajo (2.89 %), siendo estadísticamente igual al tratamiento control (agua; T1) con 0.07 % (Figura 2). Estos resultados sugieren que la inoculación de cepas endófitas de *Fusarium* induce resistencia sistémica en las plantas de jitomate contra *B. cinerea*.

Discusión

Fusarium fue el género más abundante (8 cepas), de los 14 HE aislados de raíces de *C. mirandae*. *Fusarium*, es uno de los tres géneros más dominantes a nivel mundial (Yadav & Meena 2021). Se han descrito más de 1,500 especies asociadas a la rizosfera. También se ha documentado su gran habilidad para colonizar tejidos de una amplia variedad de plantas hospederas (Bahadur 2021). Algunas cepas son patógenas de plantas y pueden sobrevivir como saprófitas (Coleman 2016). Por su condición fitopatogénica se encuentra entre los diez géneros fúngicos más devastadores en todo el mundo (Dean *et al.* 2012). Sin embargo, en los últimos años se han reportado cepas de *Fusarium* endófitas no patogénicas, que pueden desempeñar un papel benéfico importante en la producción agrícola y forestal (Patil & Sriram 2020).

Las cepas de *Fusarium* endófitas de *C. mirandae* presentaron antagonismo *in vitro* contra *C. karstii*, *Neopestalotiopsis* sp. y FoC. Estos resultados son similares a los reportados por (Hamzah *et al.* 2018), donde cepas de *Fusarium*, endófitas de manglares inhibieron el crecimiento del patógeno *F. solani*.

Adicionalmente, las cepas de *Fusarium* produjeron la mayor cantidad (0.12 mg/mL) de AIA. Estudios previos han reportado que cepas de *Fusarium* endófitas pueden producir hasta 0.42 mg/mL de AIA (Lü *et al.* 2023). Aquí También se reporta que cepas de *Fusarium* endófitas de *C. mirandae* produjeron sideróforos. Seis cepas de los 14 HE de *C. mirandae* resultaron capaces de fijar el nitrógeno. Se ha sugerido que los hongos productores de sideróforos y fijadores de N atmosférico, generalmente promueven el crecimiento de las plantas (Khan *et al.* 2020). Las cepas de HE de *C. mirandae* fueron incapaces de solubilizar P. Al respecto, los principales HE reportados como solubilizadores de P pertenecen a los géneros *Penicillium*, *Aspergillus*, *Piriformospora*, *Curvularia* y hongos micorrízicos arbusculares (AM) (Mehta *et al.* 2019), no obstante, se han reportado cepas de *Fusarium* endófitas capaces de solubilizar fosfatos (Fauriah *et al.* 2023).

Los HE de *C. mirandae* modificaron positivamente la arquitectura de la raíz y brotes de las plántulas de *A. thaliana*. También incrementaron significativamente los parámetros de crecimiento (DT, LR, AP, PFP, PFR, PSP y PSR) en las plántulas de jitomate. El uso de cepas de *Fusarium* endófitas se ha documentado en diferentes cultivos de importancia agrícola y agronómica. (Cheng *et al.* 2022), reportaron que cepas nativas de *Fusarium* con su endobacteria *Klebsiella aerogenes*, promovieron el crecimiento de plántulas de jitomate, incrementando la LR y AP, comparado con las plántulas de los grupos controles. Resultados similares fueron reportados por (Fauriah *et al.* 2023), quienes demostraron que cepas de *Fusarium* endófitas, incrementan los parámetros (LR y AP) en maíz comparado con las plántulas del grupo testigo. Por su parte (Kisaakye *et al.* 2022), demostraron que el uso de cepas de *Fusarium* no patogénicas mejoró el rendimiento en el primer ciclo de cultivo de bananas en comparación con las plantas testigo (no tratadas), incrementando el parámetro AP y la circunferencia de la base del pseudotallo, además se disminuyeron las densidades del nemátodo *Radopholus similis*. De manera similar, (Moročko-Bičevska *et al.* 2014), demostraron la habilidad de cepas de *Fusarium* endófitas para promover el crecimiento de plantas

de fresas, donde PFR y brotes de las plantas tratadas fueron significativamente mayores que las plantas del grupo control, además de documentar que con la preinoculación del suelo con cepas de *Fusarium* redujeron significativamente la severidad de la enfermedad causada por el patógeno *Gnomonia fragariae* Kleb. (García-Latorre *et al.* 2023), demostraron que los extractos crudos de cepas de *Fusarium* endófitas de *Biserrula pelecinus*, incrementaron los valores de PSP y PSR de plántulas de *Lolium multiflorum* (planta forrajera), en comparación a los controles.

Los HE de *C. mirandae* incrementaron significativamente el contenido de clorofila en las plántulas de jitomate. (Hatamzadeh *et al.* 2022), demostraron que plántulas de maíz tratadas con *Alternaria consortiale*, endófito de *Anthemis altissima* aumentaron los niveles de clorofila, hasta un 60 % más que las plántulas no tratadas. Se ha sugerido que, a mayor concentración de clorofila, mejor será la captación de energía lumínica, en consecuencia, el proceso fotosintético se maximiza y los parámetros de crecimiento de las plantas se incrementan rápidamente (Rodríguez-Larramendi *et al.* 2021).

Los HE de *C. mirandae* indujeron protección sistémica en plántulas de jitomate, disminuyendo la severidad de la enfermedad causada por el patógeno necrotrófico *B. cinerea*. Resultados similares se han reportado con cepas endófitas de *Beauveria* spp., que indujeron resistencia en plantas de chile y tomate contra *B. cinerea* (Barra-Bucarei *et al.* 2019). Asimismo, se reportó que *Trichoderma asperellum* indujo protección sistémica contra *B. cinerea* en plantas de tomate (Herrera-Téllez *et al.* 2019). Los resultados de las confrontaciones *in vitro* de este estudio también demostraron el potencial antifúngico de los HE de *C. mirandae* contra *B. cinerea*. Por lo tanto, la inducción de defensa sistémica pudiera ser el resultado de un efecto directo y/o indirecto de los HE en la planta. Por su parte (Li *et al.* 2020), atribuyeron el potencial de biocontrol del HE *Albifimbria verrucaria* contra *B. cinerea* en *Vitis vinifera* a la actividad quitinasa del HE. (Asim *et al.* 2022) reportaron que cepas de *Fusarium* endófitas tuvieron potencial como bioherbicida contra *Avena fatua* en cultivos de trigo debido a su actividad enzimática como la catalasa y peroxidasa.

En este trabajo se documentan cepas de *Fusarium* endófitas de *C. mirandae* no patogénicas con potencial de uso como promotores de crecimiento de las plantas y biocontroladores de fitopatógenos fúngicos, enfatizando la importancia de las plantas endémicas de áreas naturales protegidas y conservadas como fuente de microorganismos endófitos, con gran potencial para usarse como biofertilizantes o agentes de biocontrol de fitopatógenos fúngicos en cultivos de importancia agrícola y forestal. Es importante mencionar que este es el primer reporte de cepas de *Fusarium* benéficas en México que promueven el crecimiento de las plantas y que inducen el sistema de defensa de las plantas.

Agradecimientos

Agradecemos al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. (CIAD-Unidad Cuauhtémoc) por su apoyo al brindarnos las instalaciones para desarrollar parte de algunos experimentos. Al CONAHCYT por su aporte a la beca de maestría de la primera autora.

Literatura citada

- Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman JD. 1990. Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology* **215**: 403-410. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2)
- Asim S, Hussain A, Murad W, Hamayun M, Iqbal A, Rehman H, Tawab A, Irshad M, Alataway A, Dewidar AZ, Elansary HO, Lee IJ. 2022. Endophytic *Fusarium oxysporum* GW controlling weed and an effective biostimulant for wheat growth. *Frontiers in Plant Science* **13**: 1-21 DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.922343>
- Bahadur A. 2021. Current Status of *Fusarium* and their management strategies. In: Mirmajlessi SM. 2022. *Fusarium. An Overview of the Genus. IntechOpen*. pp. 43-59. DOI: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.95213>
- Barnett HL, Hunter BB. 1998. *Illustrated genera of imperfect fungi*. Minnesota, USA.
- Barra-Bucarei L, France IA, Gerding GM, Silva AG, Carrasco-Fernández J, Franco CJ, Ortiz CJ. 2019. Antifungal Activity of *Beauveria bassiana* Endophyte against *Botrytis cinerea* in Two *Solanaceae* Crops. *Microorganisms* **8** (1): 1-15. DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms8010065>
- Becker K, Stadler M. 2021. Recent progress in biodiversity research on the Xylariales and their secondary metabolism. *The Journal of Antibiotics* **74**: 1–23 DOI: <https://doi.org/10.1038/s41429-020-00376-0>
- Busby PE, Ridout M, Newcombe G. 2016. Fungal endophytes: modifiers of plant disease. *Plant Mol Biol* **90**: 645–655. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11103-015-0412-0>
- Bustillo, A. E. 2015. Método para cuantificar suspensiones de esporas de hongos y otros organismos. DOI: <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.3594.5128>
- Cheng S, Jiang JW, Tan LT, Deng JX, Liang PY, Su H, Sun ZX, Zhou Y. 2022. Plant Growth-Promoting Ability of Mycorrhizal *Fusarium* Strain KB-3 Enhanced by Its IAA Producing Endohyphal Bacterium, *Klebsiella aerogenes*. *Frontiers in Microbiology* **13**: 1-12. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.855399>
- Coleman JJ. 2016. The *Fusarium solani* species complex: ubiquitous pathogens of agricultural importance. *Molecular Plant Pathology* **17**: 146-158. DOI: <https://doi.org/10.1111/mpp.12289>
- Coleman-Derr D, Desgarenes D, Fonseca-Garcia C, Gross S, Clingenpeel S, Woyke T, North G, Visel A, Partida-Martinez LP, Tringe SG. 2016. Plant compartment and biogeography affect microbiome composition in cultivated and native Agave species. Plant compartment and biogeography affect microbiome composition in cultivated and native Agave species. *New Phytologist* **209** (2): 798-811. DOI: <https://doi.org/10.1111/nph.13697>
- Cun H, Munir S, He P, Wu Y, He P, Ahmed A, Che H, Li J, He Y. 2022. Diversity of root endophytic bacteria from maize seedling involved in biocontrol and plant growth promotion. *Egyptian Journal of Biological Pest Control* **32** (129): 1-9. DOI: <https://doi.org/10.1186/s41938-022-00622-7>

- Cun H, Munir S, He P, Wu Y, He P, Ahmed A, Che H, Li J, He Y. 2022. Diversity of root endophytic bacteria from maize seedling involved in biocontrol and plant growth promotion. *Egyptian Journal of Biological Pest Control* **32** (129): 1-9. DOI: <https://doi.org/10.1186/s41938-022-00622-7>
- Dean R, Van Kan JAL, Pretorius ZA, Hammond-Kosack KE, Di Pietro A, Spanu PD. 2012. The top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology* **13** (4): 414–430. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2011.00783.x>
- Fauriah R, Djaya E, Djaenuddin N, Muis A, Nonci N. 2023. Potential of endophytic fungi as a pathogenic biocontrol agent and growth promoters in corn seedlings. *Egyptian Journal of Biological Pest Control* **33** (83): 1-7. DOI: <https://doi.org/10.1186/s41938-023-00728-6>
- Fouda AM, Hassad SED, Eid AM, Ewais EED. 2015. Biotechnological applications of fungal endophytes associated with medicinal plant *Asclepias sinaica* (Bioss.). *Annals of Agricultura Science* 1-10. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aoas.2015.04.001>
- García-Latorre C, Rodrigo S, Marin-Felix Y, Stadler M, Santamaria O. 2023. Plant-growth promoting activity of three fungal endophytes isolated from plants living in dehesas and their effect on *Lolium multiflorum*. *Scientific Reports* **13** (7354): 1-15. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-023-34036-8>
- Glick BR. 2014. Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiological Research* **169**: 30–39. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.09.009>
- Grabka R, d'Entremont TW, Adams SJ, Walker AK, Tanney JB, Abbasi PA, Ali S. 2021 Fungal Endophytes and Their Role in Agricultural Plant Protection against Pests and Pathogens. *Plants MDPI* **11** (384) 1-29. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants11030384>
- Hamzah T, Lee S, Hidayat A, Terhem R, Faridah-Hanum I, Mohamed R. 2018. Diversity and Characterization of Endophytic Fungi Isolated From the Tropical Mangrove Species, *Rhizophora mucronata*, and Identification of Potential Antagonists Against the Soil-Borne Fungus, *Fusarium solani*. *Frontiers Microbiology* **9** (1707): 1-17. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01707>
- Hatamzadeh S, Rahnama K, White JF, Oghaz NO, Nasrollahnejad S, Hemmati K. 2022. Investigation of some endophytic fungi from five medicinal plants with growth promoting ability on maize (*Zea mays* L.) *Journal of Applied Microbiology* 1–15. DOI: <https://doi.org/10.1093/jambio/lxac015>
- Hatamzadeh S, Rahnama K, White JF, Oghaz NO, Nasrollahnejad S, Hemmati K. 2022. Investigation of some endophytic fungi from five medicinal plants with growth promoting ability on maize (*Zea mays* L.) *Journal of Applied Microbiology* **134**: 1–15. DOI: <https://doi.org/10.1093/jambio/lxac015>
- Herrera-Téllez VI, Cruz-Olmedo AK, Plasencia J, Gavilanes-Ruíz M, Arce-Cervantes O, Hernández-León S, Saucedo-García M. 2019. The Protective Effect of *Trichoderma asperellum* on Tomato Plants against *Fusarium oxysporum* and *Botrytis cinerea* Diseases Involves Inhibition of Reactive Oxygen Species Production. *International Journal of Molecular Sciences* **20** (8): 1-13 DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms20082007>

- Khan MS, Gao J, Munir I, Zhang M, Liu Y, Moe TS, Xue J, Zhang X. 2021. Characterization of Endophytic Fungi, *Acremonium* sp., from *Lilium davidii* and Analysis of Its Antifungal and Plant Growth-Promoting Effects. *Hindawi BioMed Research International* 1-14. DOI: <https://doi.org/10.1155/2021/9930210>
- Kisaakye J, Fourie H, Haukeland S, Kisitu J, Nakimera S, Cortada L, Subramanian S, Coyne D. 2022. Endophytic Non-Pathogenic *Fusarium oxysporum*-Derived Dual Benefit for Nematode Management and Improved Banana (*Musa* spp.) Productivity. *Agriculture* **12** (125): 1-17. DOI: <https://doi.org/10.3390/agriculture12020125>
- Le Cocq K, Gurr SJ, Hirsch PR, Mauchline TH. 2017. Exploitation of endophytes for sustainable agricultural intensification. *Molecular Plant Pathology* **18** (3): 469–473. DOI: <https://doi.org/10.1111/mpp.12483>
- Li Z, Chang P, Gao L, Wang X. 2020. The Endophytic Fungus *Albifimbria verrucaria* from Wild Grape as an Antagonist of *Botrytis cinerea* and Other Grape Pathogens. *Phytopathology*® **110** (4): 843–850. DOI: <https://doi.org/10.1094/phyto-09-19-0347-r>
- Long QS, Liu, LW, Zhao YL, Wang P, Chen B, Li Z, Yang S. 2019. Fabrication of Furan-Functionalized Quinazoline Hybrids: Their Antibacterial Evaluation, Quantitative Proteomics, and Induced Phytopathogen Morphological Variation Studies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **67**: 11105-11017. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b03419>
- Louden BC, Haarmann D, Lynne AM. 2011. Use of blue agar CAS assay for siderophore detection. *Journal of Microbiology and Biology Education* 51-53. DOI: <https://doi.org/10.1128/jmbe.v12i1.249>
- Lü ZW, Liu HY, Wang CL, Chen X, Huang YX, Zhang MM, Huang QL, Zhang GF. 2023. Isolation of endophytic fungi from *Cotoneaster multiflorus* and screening of drought-tolerant fungi and evaluation of their growth-promoting effects. *Frontiers Microbiology* **14**: 1-14. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1267404>
- Maciag T, Krzyzanowska, DM, Jafra S, Siwinska J, Czajkowski R. 2020. The Great Five – an artificial bacterial consortium with antagonistic activity towards *Pectobacterium* spp. and *Dickeya* spp.: formulation, shelf life, and the ability to prevent soft rot of potato in storage. *Applied Microbiology and Biotechnology* **104**: 4547–4561. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10550-x>
- Magnusson E, Cranfield JAL. 2005. Consumer Demand for Pesticide Free Food Products in Canada: A Probit Analysis. Consumer Demand for Pesticide Free Food Products in Canada: A Probit Analysis. *Canadian Journal of Agricultural Economics* **53** (1): 67–81. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1744-7976.2005.00354.x>
- Marfetán, JA, Vélez ML, Comerio R, Gallo A, Romero S. 2023. Rhizospheric *Penicillium* and *Talaromyces* strains in *Austrocedrus chilensis* native forests: identification and evaluation of biocontrol candidates against the pathogen *Phytophthora austrocedri*. *Journal of Plant Protection Research* **63**: (2) 239-253. DOI: <https://doi.org/10.24425/jppr.2023.145757>

- Mehta P, Sharma R, Putatunda C, Walia A. 2019. Endophytic Fungi: Role in Phosphate Solubilization. In: Singh B, eds. *Advances in Endophytic Fungal Research. Fungal Biology. Springer, Cham*. pp.183-209. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-030-03589-1_9
- Mehta S, Nautiyal, CS. 2001. An efficient method for qualitative screening of phosphate-solubilizing bacteria. *Current Microbiology* **43** (1): 51–56. DOI: <https://doi.org/10.1007/s002840010259>
- Moreno-Pérez JA. 2019. *Efecto de los biofertilizantes sobre la calidad de plántulas de tomate (Solanum lycopersicum L.)*. Tesis de licenciatura. Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas.
- Moročko-Bičevska I, Fatehi J, Gerhardson B. 2014. Biocontrol of strawberry root rot and petiole blight by use of non-pathogenic *Fusarium* sp. strains. *Acta Horticulturae*, 1049: 599–605. DOI: <https://doi.org/doi:10.17660/actahortic.2014.1049.93>
- Nutter FW, Esker PD, Netto RAC. 2006. Disease Assessment Concepts and the Advancements Made in Improving the Accuracy and Precision of Plant Disease Data. *Eur J Plant Pathol* **115**: 95–103. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10658-005-1230-z>
- Oliveira-Longatti SM, Marciano-Marra L, Lima-Soares B, Aparecida-Bomfeti C, da Silva K, Ademar-Avelar P, Souza-Moreina F.M. 2014. Bacteria isolated from soils of the western Amazon and from rehabilitated bauxite-mining areas have potential as plant growth promoters. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* **30** (4): 1239-1250. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11274-013-1547-2>
- Patil S, Sriram S. 2020. Biological control of *Fusarium* wilt in crop plants using non-pathogenic isolates of *Fusarium* specie. *Indian Phytopathology*. DOI: <https://doi.org/10.1007/s42360-020-00202-5>
- Pérez-Farrera MÁ. 2008. Cycadales spp. In Chiapas, México (*Ceratozamia mirandae*). Wg 3-Succulents And Cycads. Case Study 2. *NDF Workshop Case Studies* 1-12. DOI: https://cites.org/sites/default/files/ndf_material/WG3-CS2.pdf
- Ponce-de León YM. 2022. *Biocontrol in vitro de Phytophthora capsici y promoción del crecimiento vegetal de Capsicum annuum por actinobacterias no estreptomicetos*. Tesis de maestría. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C. Cuauhtémoc, Chihuahua.
- Proveda, J, Hermosa R, Monte E, Nicolás C. 2019. *Trichoderma harzianum* favours the access of arbuscular mycorrhizal fungi to non-host Brassicaceae roots and increases plant productivity. *Scientific Reports* **9** (11650): 1-11. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-48269-z>
- Raeder U, Broda P. 1985. Rapid preparation of DNA from filamentous fungi. *Letter in Applied Microbiology* **1**: 17-20. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.1985.tb01479.x>
- Ríos-Velasco C, Caro-Cisneros JM, Berlanga-Reyes DI, Ruíz-Cisneros MF, Órnelas-Paz J J, Salas-Marina MÁ, Villalobos-Pérez E, Guerrero-Prieto VM. 2016. Identificación y actividad antagónica *in vitro* de aislados de *Bacillus* spp. y *Trichoderma* spp. Contra hongos fitopatógenos comunes. *Revista Mexicana de Fitopatología* **34** (1): 84-99. DOI: <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1507-1>

- Rodríguez-Larramendi LA, Salas-Marina MÁ, Hernández-García V, Campos-Saldaña RA, Cruz-Macías WO, de la Cruz-Morales M, Gordillo-Curiel A, Guevara-Hernández F. 2021. Physiological effect of water and nitrogen availability on guava plants. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* **24** (19): 1-10. DOI: <http://dx.doi.org/10.56369/tsaes.3391>
- Rodríguez-Larramendi. L. A., Salas-Marina. M. A., Hernández-García. V., Campos-Saldaña R. A., Cruz-Macías, WO, López-Sánchez, R. 2023. Seed treatments with salicylic acid and *Azospirillum brasilense* enhance growth and yield of maize plants (*Zea mays* L.) under field conditions. *Rev. FCA UNCuyo* **55** (1): 17-26. DOI: <https://doi.org/10.48162/rev.39.092>
- Saad MMG, Ghareeb RY, Saeed AA. 2019. The potential of endophytic fungi as bio-control agents against the cotton leafworm, *Spodoptera littoralis* (Boisd.) (Lepidoptera: Noctuidae). *Egyptian Journal Biological Pest Control* **29** (7): 1-7. DOI: <https://doi.org/10.1186/s41938-019-0108-x>
- Salas-Marina MÁ, Silva-Flores MÁ, Cervantes-Badillo MG, Rosales-Saavedra MT, Islas-Osuna MA, Casas-Flores S. 2011a. The plant growth-promoting fungus *Aspergillus ustus* promotes growth and induces resistance against different lifestyle pathogens in *Arabidopsis thaliana*. *Journal Microbiol Biotechnol* **21** (7): 686–696. DOI: <https://doi.org/10.4014/jmb.1101.01012>
- Salas-Marina MÁ, Silva-Flores MÁ, Uresti-Rivera EE, Castro-Longaria E, Herrera-Estrella A, Casas-Flores S. 2011 b. Colonization of *Arabidopsis* roots by *Trichoderma atroviride* promotes growth and enhances systemic disease resistance through jasmonic acid/ethylene and salicylic acid pathways. *Eur J Plant Pathol* **131**: 15–26. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10658-011-9782-6>
- Sarmiento-Chacón M, Hernández-García V, Rodríguez-Larramendi LA, Salas-Marina, MÁ, Ríos-Velasco C. 2023. *Neopestalotiopsis* sp. and *Colletotrichum karstii*, causal agents of leaf spots on camedor palm (*Chamaedorea quezalteca*) in Mexico. *Mexican Journal of Phytopathology* **41** (2): 165-181. DOI: <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2302-7>
- Schneider C, Rasband W, Eliceiri K. 2012. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nat Methods* **9**: 671–675. DOI: <https://doi.org/10.1038/nmeth.2089>
- Sousa-Silva RM, Mendes LW, Lopes-Antunes JE, de Souza-Oliveiraa LM, Batista-Sousa AM, Ferreira-Gomes RL, de Almeida-Lopes AC, Araújo FF, Vania Maria Maciel-Meloe VM, Ferreira-Araújo AS. 2019. Diversity and structure of bacterial community in rhizosphere of lima vean. *Applied Soil Ecology* 1-8. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.103490>
- Su Z, Zeng Y, Li X, Perumal AB, Zhu J, Lu X, Dai M, Liu X, Lin F. 2021. The Endophytic Fungus *Piriformospora Indica*-Assisted Alleviation of Cadmium in Tobacco. *Journal of Fungi* **7** (675): 1-17. DOI: <https://doi.org/10.3390/jof7080675>
- Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S. 2011. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution* **28** (10): 2731–2739. DOI: <https://doi.org/10.1093/molbev/msr121>
- Turbat A, Rakk D, Vigneshwari A, Kocsubé S, Thu, H, Szepesi A, Bakacsy L, Škrbić BD, Jigjiddorj EA, Vágvölgyi C, Szekeres A. 2020. Characterization of the Plant Growth-

- Promoting Activities of Endophytic Fungi Isolated from *Sophora flavescens*. *MDPI microorganisms* **8** (683): 1-15. DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms8050683>
- U´Ren JM, Arnold AE. 2016. Diversity, taxonomic composition, and functional aspects of fungal communities in living, senesced, and fallen leaves at five sites across North America. *PeerJ* **4**:1-31. DOI: <https://doi.org/10.7717/peerj.2768>
- Ulloa-Muñoz R, Olivera-Gonzales P, Castañeda-Barreto A, Villena GK, Tamariz-Angeles C. 2020. Diversity of endophytic plant-growth microorganisms from *Gentianella weberbaueri* and *Valeriana pycnantha*, highland Peruvian medicinal plants. *Microbiological Research* **233**: 1-11. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126413>
- Wang H, Zhang R, Duan Y, Jiang W, Chen X, Shen X, Yin C, Mao Z. 2021. The Endophytic Strain *Trichoderma asperellum* 6S-2: An Efficient Biocontrol Agent against Apple Replant Disease in China and a Potential Plant-Growth-Promoting Fungus. *Journal of Fungi* **7** (1050): 1-27. DOI: <https://doi.org/10.3390/jof7121050>
- Watanabe T. 2002. *Pictorial Atlas of soil and seed fungi: morphologies of cultured fungi and key to species*. Washington, DC, USA.
- White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor JW. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ, eds. *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*. New York, pp. 315-322. DOI: <http://newscenter.berkeley.edu/2012/09/14/fungus-expertcelebrates-10000th-citation-for-1990-publication/>

Tablas y Figuras

Tabla 1. Tratamientos evaluados en el bioensayo de promoción del crecimiento de plántulas de jitomate. Nitrógeno (N), *Fusarium oxysporum* tomate (FoT).

Número	Tratamientos	Dosis de N (Kg.ha ⁻¹)	Concentración conidios/mL	μL
T1	Control (agua)	0	0	0
T2	FoT	1.63	1:1×10 ⁶	20
T3	Control (N al 50%)	1.63	0	0
T4	Control (N al 100%)	3.26	0	0
T5	Cepa JS286	1.63	1:1×10 ⁶	20
T6	Cepa JS240	1.63	1:1×10 ⁶	20
T7	Cepa JS414	1.63	1:1×10 ⁶	20
T8	Cepa JS439	1.63	1:1×10 ⁶	20
T9	Cepa JS4101	1.63	1:1×10 ⁶	20
T10	Cepa JS296	1.63	1:1×10 ⁶	20
T11	Cepa JS285	1.63	1:1×10 ⁶	20
T12	Cepa JS256	1.63	1:1×10 ⁶	20

Tabla 2. Diversidad de hongos endófitos de raíces de *C. mirandae* identificados morfológica y molecularmente mediante la secuenciación del marcador ITS y registrados en el GenBank.

Cepa de hongos endófitos	No. Acceso GenBank	Identificación macro y microscópica	Especie relacionada	Similitud (%)	Clase
JS311	OR843338	<i>F. proliferatum</i>	<i>F. proliferatum</i>	99	Sordariomycetes
JS312	OR842899	<i>Pestalotiopsis</i> sp.	<i>Pestalotiopsis</i> sp.	99	Sordariomycetes
JS414	OR843339	<i>F. oxysporum</i>	<i>F. oxysporum</i>	100	Sordariomycetes
JS439	OR843341	<i>F. oxysporum</i>	<i>F. oxysporum</i>	99	Sordariomycetes
JS240	OR843340	<i>F. solani</i>	<i>F. solani</i>	99	Sordariomycetes
JS455	PP722765	<i>Trichoderma spirale</i>	<i>Trichoderma spirale</i>	98	Eauscomycetes
JS256	OR852613	<i>F. solani</i>	<i>F. solani</i>	99	Sordariomycetes
JS469	OR843989	<i>Umbelopsis nana</i>	<i>Umbelopsis nana</i>	99	Zygomycetes
JS285	OR843990	<i>Nectria</i> sp.	<i>Nectria</i> sp.	99	Sordariomycetes
JS286	PP722977	<i>Fusarium</i> sp.	<i>Fusarium</i> sp.	100	Sordariomycetes
JS296	PP586144	<i>F. solani</i>	<i>F. solani</i>	94	Sordariomycetes
JS4101	PP724710	<i>F. solani</i>	<i>F. solani</i>	99	Sordariomycetes
JS3102	PP586187	<i>Podospora dennisiae</i>	<i>Podospora dennisiae</i>	99	Sordariomycetes
JS2107	PP724711	<i>F. solani</i>	<i>F. solani</i>	100	Sordariomycetes

Tabla 3. Inhibición del crecimiento radial de *C. karstii*, *Neopestalotiopsis* sp., y FoC por los hongos endófitos *F. oxysporum* (JS439) y *F. proliferatum* (JS311).

Hongos endófitos	<i>C. karstii</i>	<i>Neopestalotiopsis</i> sp.	FoC
<i>F. oxysporum</i> (JS439)	40.62 ± 2.04 ^A	29.25 ± 0.62 ^B	20.93 ± 0.80 ^C
<i>F. proliferatum</i> (JS311)	39.13 ± 1.61 ^A	24.87 ± 1.82 ^B	-4.62 ± 0.98 ^C

Cada resultado es el promedio de cuatro repeticiones ± desviaciones estándar (DE) por hongo patógeno. Los valores entre hileras con diferentes letras son estadísticamente diferentes (Tukey $P \leq 0.05$).

Tabla 4. Hongos endofíticos asociados a raíces de *C. mirandae* con efectos de promoción del crecimiento de *A. thaliana*, productores de Ácido-3-indolacético (AIA), sideróforos, fijación de nitrógeno (N) y solubilización de fosfato (P).

No. Cepa	Especie	Promoción crecimiento	AIA (mg/mL)	Sideróforos	Fijación N	Solubilización P
JS311	<i>F. proliferatum</i>	-				
JS312	<i>Pestalotiopsis</i> sp.	-				
JS414	<i>F. oxysporum</i>	+	0.06±0.04 ^{BC}	-	+	-
JS439	<i>F. oxysporum</i>	+	0.08±0.11 ^{ABC}	+	+	-
JS240	<i>F. solani</i>	+	0.01±0.00 ^D	+	+	-
JS455	<i>Trichoderma spirale</i>	-				
JS256	<i>F. solani</i>	+	0.04±0.05 ^{CD}	+	-	-
JS469	<i>Umbelopsis nana</i>	-				
JS285	<i>Nectria</i> sp.	+	0.05±0.03 ^{CD}	-	+	-
JS286	<i>Fusarium</i> sp.	+	0.12±0.19 ^A	-	-	-
JS296	<i>F. solani</i>	+	0.01±0.00 ^D	-	+	-
JS4101	<i>F. solani</i>	+	0.10±0.04 ^{AB}	+	+	-
JS3102	<i>Podospora dennisiae</i>	-				
JS2107	<i>F. solani</i>	-				

Basado en el análisis cualitativo se determinó como positivo (+) y negativo (-). En el análisis cuantitativo de AIA cada resultado representa la media de cuatro repeticiones ± DE, letras diferentes son estadísticamente diferentes de acuerdo con Tukey ($P \leq 0.05$).

Tabla 5. Efecto de cepas endófitas de *Fusarium* sobre el crecimiento de plántulas de jitomate sobre el diámetro del tallo (DT), longitud de raíz (LR), altura de planta (AP), peso fresco de plántula (PFP), peso fresco de raíz (PFR), peso seco de plántula (PSP), peso seco de raíz (PSR) y clorofila (Cl).

Tratamientos	DT (mm)	LR (mm)	AP (mm)	PFP (mg)	PFR (mg)	PSP (mm)	PSR (mg)	Cl ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)
Control (agua)	1.61±0.06 ^E	89.88±1.32 ^{BC}	64.10±0.58 ^C	0.33±0.00 ^D	0.11±0.00 ^G	0.03±0.00 ^{EF}	0.01±0.00 ^{EF}	192.21±1.56 ^{EF}
FoT	1.62±0.08 ^E	75.30±1.59 ^{GH}	64.11±1.20 ^C	0.36±0.04 ^{CD}	0.12±0.01 ^G	0.03±0.00 ^F	0.01±0.00 ^F	203.89±1.67 ^D
Nitrógeno 50%	1.43±0.05 ^F	93.42±1.17 ^A	61.65±0.70 ^D	0.37±0.02 ^C	0.16±0.01 ^F	0.04±0.00 ^{BCDE}	0.01±0.00 ^{CD}	187.95±3.02 ^F
Nitrógeno 100%	1.83±0.05 ^{BC}	77.57±1.55 ^{FG}	72.88±0.28 ^A	0.48±0.01 ^B	0.15±0.01 ^F	0.04±0.00 ^{ABC}	0.02±0.00 ^{CD}	208.95±1.79 ^{BC}
<i>Fusarium</i> sp. (JS286)	1.86±0.05 ^{BC}	81.00±3.46 ^E	65.55±1.06 ^C	0.46±0.02 ^B	0.23±0.03 ^{CD}	0.05±0.00 ^A	0.02±0.00 ^B	211.79±3.63 ^B
<i>F. solani</i> (JS240)	1.78±0.06 ^{CD}	72.77±1.80 ^H	64.21±0.90 ^C	0.47±0.02 ^B	0.23±0.02 ^{CD}	0.05±0.00 ^{AB}	0.02±0.00 ^{CD}	189.39±3.96 ^{EF}
<i>F. oxysporum</i> (JS414)	1.68±0.06 ^{DE}	79.28±1.53 ^{EF}	59.30±0.35 ^E	0.37±0.01 ^C	0.18±0.01 ^{EF}	0.03±0.00 ^{DEF}	0.01±0.00 ^{EF}	206.13±2.07 ^{CD}
<i>F. oxysporum</i> (JS439)	1.88±0.08 ^{BC}	87.30±1.31 ^{CD}	61.86±1.58 ^D	0.45±0.01 ^B	0.20±0.02 ^{DE}	0.04±0.00 ^{CDEF}	0.02±0.00 ^C	193.07±2.29 ^E
<i>F. solani</i> (JS4101)	1.81±0.08 ^{CD}	92.61±1.35 ^{AB}	62.05±0.81 ^D	0.44±0.01 ^B	0.23±0.01 ^{CD}	0.04±0.00 ^{ABCD}	0.01±0.00 ^{DE}	211.53±1.28 ^B
<i>F. solani</i> (JS296)	1.96±0.05 ^{AB}	87.81±1.60 ^{CD}	65.18±0.80 ^C	0.48±0.01 ^B	0.25±0.00 ^C	0.04±0.00 ^{ABC}	0.01±0.00 ^{CD}	221.76±1.46 ^A
<i>Nectria</i> sp. (JS285)	2.02±0.08 ^A	91.65±1.35 ^{AB}	69.25±0.88 ^B	0.47±0.00 ^B	0.33±0.01 ^B	0.04±0.00 ^{ABC}	0.02±0.00 ^B	224.60±1.94 ^A
<i>F. solani</i> (JS256)	1.86±0.13 ^{BC}	85.85±0.84 ^D	72.77±2.75 ^A	0.53±0.01 ^A	0.37±0.01 ^A	0.05±0.00 ^A	0.05±0.00 ^A	210.26±2.23 ^{BC}

Cada resultado es el promedio de ocho plántulas \pm DE. Los valores en las columnas seguidos de la misma letra son estadísticamente similares según la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

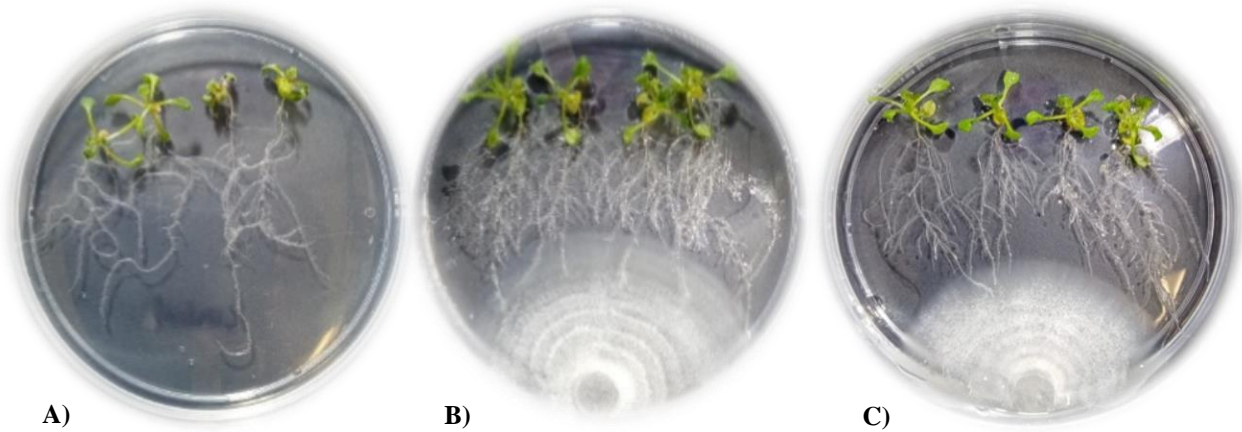


Figura 1. Representación esquemática de la promoción de crecimiento *in vitro* de *A. thaliana* por hongos endófitos de *C. mirandae*. **A)** Control, **B)** *F. solani*. (JS240). y **C)** *F. solani* (JS296).

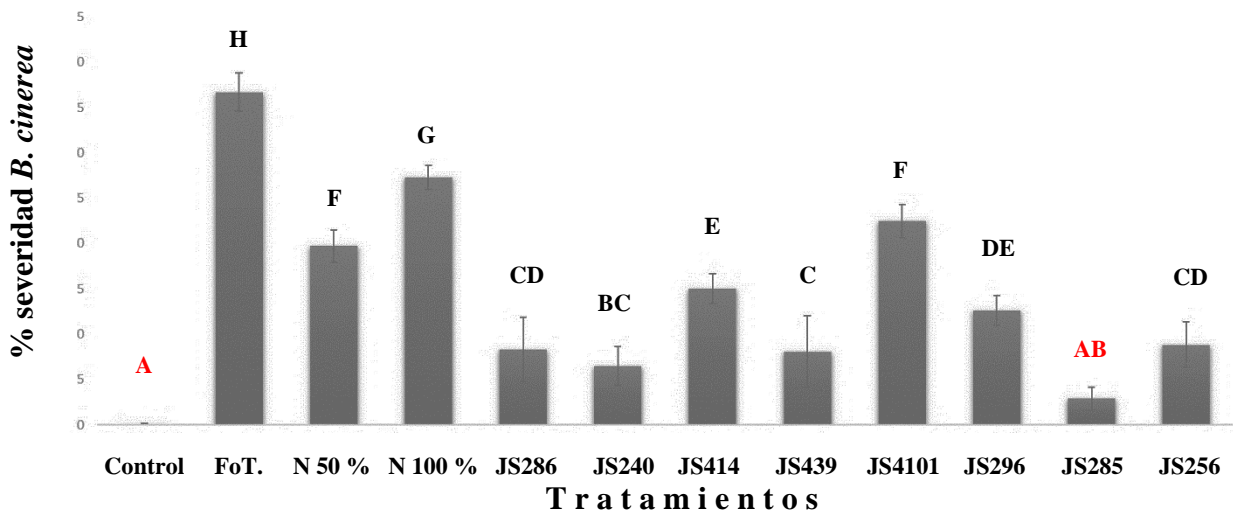


Figura 2. Protección sistémica inducida por hongos endófitos de *C. mirandae* en plántulas de jitomate contra el patógeno necrotrófico *B. cinerea*. Las barras de la gráfica muestran los porcentajes de severidad provocado por *B. cinerea*. Cada resultado es la media de seis repeticiones \pm DE. Los valores con la misma letra son estadísticamente iguales Tukey ($P \leq 0.05$).



SOCIEDAD MEXICANA DE CONTROL BIOLÓGICO A. C.

OTORGA LA SIGUIENTE

CONSTANCIA



A: Nidia del Carmen Ríos-de León, Miguel Ángel Salas-Marina, Vidal Hernández-García y Wel Olveín Cruz-Macías.

por su participación como ponente, con el tema **"DIVERSIDAD DE HONGOS ENDÓFITOS ASOCIADOS A SISTEMAS AGROFORESTALES CON POTENCIAL DE BIOCONTROL"**, en el marco del XLIV Congreso Nacional de Control Biológico, el 11 de noviembre de 2022 en Santiago de Querétaro, Qro., Méx.

Beatriz Rodríguez Vélez
Presidente de la SMCB
2021-2023

Mariza A. Sarmiento Cordero
Organizadora del XLIV
CNCB 2022

Miguel A. Ayala Zermeño
Organizador del XLIV
CNCB 2022



AGRICULTURA
SECRETARÍA DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL

SENASICA
SECRETARÍA NACIONAL DE SANIDAD, INSPECCIÓN Y CALIDAD AGROPECUARIARIAS



CONSEJO NACIONAL CONSULTIVO FITOSANITARIO



BIOMEST MEXICO
bioBEST
SUSTAINABLE CROP MANAGEMENT



KOPPERT
BIOLOGICAL SYSTEMS



Otorga la siguiente

La Sociedad Mexicana de Control Biológico A. C.

Constancia



A: Nidia del Carmen Ríos-de León, Miguel Ángel Salas-Marina, Vidal Hernández García, Claudio Ríos-Velasco, Daniel Alonso Pérez-Corral

Por su participación como ponente del trabajo "**Caracterización de microorganismos endófitos asociados a raíces de *C. mirandae* (Cycadales: Zamiaceae) con potencial de biofertilizantes**" en el marco del XLV Congreso Nacional de Control Biológico, 26 y 27 octubre de 2023 en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo, Coahuila, México.

Mariza Araceli Sarmiento Cordero
Coordinadora del Congreso y
Carteles



SADER
SECRETARÍA DE AGRICULTURA
Y DESARROLLO RURAL



SENASICA
SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD,
INOCUIDAD Y CALIDAD AGROALIMENTARIA

Beatriz Rodríguez Vélez
Presidente de la SMCB
2021-2023



Distribuciones IMEX

Miguel Angel Ayala Zermeño
Coordinador del Congreso y
Carteles



UNIVERSIDAD DE CIENCIAS
Y ARTES DE CHIAPAS
FACULTAD DE INGENIERÍA

otorga el presente

RECONOCIMIENTO
A

Nidia del Carmen Ríos de León, Miguel Ángel Salas Marina,
Vidal Hernández García, Wel Olvén Cruz Macías
y Claudio Ríos Velasco.

Por haber obtenido el Segundo Lugar en el concurso de carteles con el tema
“Hongos endófitos de *Cedrela odorata* y *Quercus laurina* y su efecto micoparasítico
contra hongos fitopatógenos” En el marco de la XL Semana de Ingeniería “La
Ingeniería en la Sociedad”, celebrado los días 26, 27 y 28 de Octubre de 2022.

Tuxtla Gutiérrez, Chiapas; 28 de octubre de 2022

ATENTAMENTE

“Por la Cultura de mi Raza”

Ing. Mónica Catalina Cisneros Ramos
Directora de la Facultad de Ingeniería



40° Aniversario de la creación del Programa Educativo de Ingeniería Topográfica



UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y ARTES DE CHIAPAS FACULTAD DE INGENIERÍA

otorga el presente

RECONOCIMIENTO a

C. Nidia del Carmen Ríos de León, Mtro. Miguel Ángel Salas Marina
Mtro. Vidal Hernández García, Mtro. Claudio Rios Velasco
Mtro. Daniel Alonso Pérez Corral

Por haber obtenido el segundo lugar en el concurso de carteles con el tema: “Caracterización de microorganismos endófitos asociados a raíces de ceratozamia mirandae con potencial de biofertilizantes” dentro del evento académico de la XLI Semana de Ingeniería “La transversalidad de la Ingeniería en México”, celebrado los días 11, 12 y 13 de Octubre de 2023.

Tuxtla Gutiérrez, Chiapas; 13 de octubre de 2023

ATENTAMENTE

“Por la Cultura de mi Raza”

Ing. Mónica Catalina Cisneros Ramos

Directora





Cd. Cuauhtémoc, Chihuahua, 28 de mayo, 2024
Laboratorio de Patología Vegetal y Control Biológico
OF/POSC/CUAU/12/2024
ASUNTO: ESTANCIA ACADÉMICA Y DE INVESTIGACIÓN

A QUIEN CORRESPONDA
PRESENTE.-

Por este medio, expreso que la C. Nidia del Carmen Ríos De León con número de matrícula 63122006, CVU 1181454, egresada del Programa de Maestría en Ciencias Agroforestales, de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas (UNICACH), realizó su estancia de investigación durante el periodo comprendido del 23 de marzo al 18 de agosto del año 2023, en el Laboratorio de Patología Vegetal y Control Biológico del CIAD-Unidad Cuauhtémoc, Chihuahua. La C. Ríos-De León, condujo experimentos relacionados con su proyecto de investigación denominado "Hongos endófitos de raíces de *Ceratozamia mirandae* con potencial de biofertilizantes", bajo la supervisión del Dr. Daniel Alonso Pérez Corral y de un servidor.

Sin más por el momento, extendiendo la presente para los usos legales que la interesa convenga, quedo a su completa disposición para cualquier aclaración y aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

Atentamente

Dr. Claudio Rios Velasco

Investigador Titular C

Teléfono: (625) 581 29 20 ext. 105

Correo electrónico: claudio.rios@ciad.mx

Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A. C.





Constancia de actividades de retribución social

Ciudad de México, a 16 de marzo de 2023

A QUIEN CORRESPONDA

Presente.-

En cumplimiento a lo establecido en el **Artículo 19, Capítulo VIII. De la Conclusión de la Beca o Apoyo**, del **Reglamento de Becas del Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías** y en el marco de la Convocatoria **BECAS CONACYT NACIONALES 2022** hago constar que **la C. NIDIA DEL CARMEN RÍOS DE LEÓN** con número de **CVU 1181454** beneficiada con una beca para obtener el grado de **MAESTRO** en el programa **MAESTRÍA EN CIENCIAS AGROFORESTALES**, que se imparte en **UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y ARTES DE CHIAPAS SEDE VILLA CORZO**, realizó las actividades de retribución social durante el periodo de vigencia de la beca, tiempo en el que fue **alumna** regular de esta Institución.

Asimismo, hago constar que, conforme a lo establecido en la Ley General de Archivos, la coordinación del posgrado organiza y conserva la evidencia documental de dichas actividades en caso de que el CONAHCYT o cualquier otra instancia la requiera.

Sin más por el momento, le envió un cordial saludo.

DR. MIGUEL ÁNGEL SALAS MARINA

Coordinador de la Maestría en Ciencias Agroforestales





Constancia de actividades de retribución social

Actividad 1. La Ciencia en los niños y las niñas, "el mundo microscópico de los hongos".

Descripción de la actividad: Se llevaron a cabo actividades con los niños, donde se les enseñó de manera lúdica y dinámica el trabajo que se realiza con los microorganismos endófitos de plantas en el Laboratorio de Biofertilizantes y Bioinsecticidas, así como la importancia de los insectos en los cultivos agrícolas.

Fecha de inicio: 16 de marzo de 2023.

Fecha de término: 16 de marzo de 2023.

Institución en la que se realizó la actividad: Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas sede Villa Corzo.

Nombre del responsable de supervisar la actividad: Miguel Ángel Salas Marina.

Datos de contacto del responsable de la actividad: 9611987173
miguel.salas@unicach.mx

Descripción del impacto social de la actividad: Fomentar las vocaciones científicas tempranas en niñas y niños del municipio de Villa Corzo de Chiapas, así como visibilizar el trabajo que realiza el Laboratorio de Biofertilizantes y Bioinsecticidas de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas (UNCACH), mediante actividades que permitan despertar el interés por el conocimiento científico partiendo desde una perspectiva lúdica.

Nidia del Carmen Ríos de León

Nombre y firma de la persona becaria

1181454



CONAHCYT

CONSEJO NACIONAL DE HUMANIDADES
CIENCIAS Y TECNOLOGÍAS



Maestría en
Ciencias
Agroforestales



FACULTAD DE INGENIERÍA
MAESTRÍA EN CIENCIAS AGROFORESTALES
SEDE VILLAGORZOS

Dr. Miguel Ángel Salas Marina

**Nombre y firma de la persona
responsable de supervisar la actividad
de retribución social en el programa
de posgrado
(Director)**

Vo. Bo.

Dr. Miguel Ángel Salas Marina

Coordinador de la Maestría en
Ciencias Agroforestales



FACULTAD DE INGENIERÍA
MAESTRÍA EN CIENCIAS AGROFORESTALES
SEDE VILLAGORZOS

Dr. Vidal Hernández García

**Nombre y firma de la persona
responsable de supervisar la actividad
de retribución social en el programa
de posgrado
(Co-director interno / externo)**



UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y ARTES
DE CHIAPAS
FACULTAD DE INGENIERÍA
COORDINACIÓN
UNIDAD ACADÉMICA VILLAGORZOS

Dr. Luis Alfredo Rodríguez Larramendi

**Nombre y firma de la persona
responsable de supervisar la actividad
de retribución social en el programa
de posgrado
(Co-director interno / externo)**



La Subsecretaría de Educación Básica

a través de la

Dirección General de Educación Primaria

en coordinación con la

Escuela Primaria 14 de Septiembre

07DPR2388V

OTORGA LA PRESENTE

CONSTANCIA

Nidia del Carmen Ríos de León

A BIOL.

Por su destacada participación en el taller de Divulgación "La Ciencia en los niños y las niñas" con el tema *Mundo microscópico de los hongos*, dirigido a alumnos de primer

grado de primaria.



ESTADO LIBRE Y SOBERANO DE CHIAPAS
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN
SUBSECRETARÍA DE EDUCACIÓN FUNDAMENTAL
DIRECCIÓN GENERAL DE EDUCACIÓN PRIMARIA
07DPR2388V
VILLACORZO, CHIAPAS

Pascual Ricardo Aguilar López

Director Escolar



Villacorzo, Chiapas 16 de marzo de 2023

Discusiones generales

Se estima que existen más de 1 millón de especies de microorganismos endófitos (Strobel y Daisy, 2003), asociados a aproximadamente a 300,000 especies de plantas (Bacon y White, 2011), no obstante, diversos estudios han comprobado que solo una pequeña parte de ellos han sido aislados e investigados y que la diversidad de comunidades endofíticas asociadas a las plantas se encuentra todavía subestimada (Fouda *et al.*, 2015; Coleman *et al.*, 2016 y Grabka *et al.*, 2021). El aislamiento de endófitos asociados a plantas nativas ha sido reportado como un medio para obtener una mayor diversidad de endófitos, así lo demuestran Cun *et al.* (2022), quienes aislaron de plantas nativas más de 170 cepas de bacterias endofitas agrupadas en 25 géneros diferentes. En este trabajo se aislaron e identificaron molecularmente 14 cepas de hongos endófitos de seis diferentes géneros; *Fusarium*, *Pestalotiopsis*, *Trichoderma*, *Umbelopsis*, *Nectria* y *Podospora* asociados a raíces de *C. mirandae*, especie endémica y nativa de Chiapas. *Fusarium* fue el género más abundante (8 cepas) de acuerdo a Yadav y Meena (2021), es uno de los tres géneros más dominantes a nivel mundial con más de 1,500 especies presentes en la rizosfera con una gran habilidad para colonizar tejidos de una amplia variedad de hospederos (Bahadur, 2021). Son patógenos de plantas que pueden sobrevivir incluso como saprófitos (Coleman, 2016), es un patógeno vegetal tan importante que se encuentra entre los diez más devastadores en todo el mundo (Dean *et al.*, 2012) sin embargo, su función patogénica ha provocado discrepancia ya que en los últimos años se han reportado cepas de *Fusarium* endofitas no patogénicas, que pueden desempeñar un papel importante en la producción agrícola y forestal (Patil y Sriram, 2020).

Las confrontaciones duales *in vitro* sirven para determinar los modos de acción de los endófitos como respuesta antagónica contra patógenos, Mulero-Aparicio *et al.* (2019), observaron que cepas de *Fusarium* no patógenas aisladas de *Quercus suber*, sobrecrecieron por completo las colonias de *Verticillium dahliae*, patógeno de árboles de oliva, aunque no se observaron zonas de inhibición, la reducción del crecimiento micelial observada antes de que las cepas de *Fusarium* endófitas sobrecrecieran las colonias de *V. dahliae* sugiere que la antibiosis debe considerarse uno de los modos de acción del endófito. Los resultados de confrontación *in vitro* de este estudio demostraron que dos cepas de *Fusarium* endófitas de *C. mirandae* presentaron respuesta antagónica contra los patógenos de la región, identificadas como *F. proliferatum* (JS311) y *F. oxysporum* (JS439), con los siguientes porcentajes de ICR; *F. oxysporum* (JS439) contra *C. karstii* (40.62%), *Neopestalotiopsis* sp. (29.25%) y FoC (20.93%), Mientras que *F. proliferatum* (JS311) únicamente presentó inhibición del crecimiento de *C. karstii* (39.13%) y *Neopestalotiopsis* sp. (24.87%). Estos resultados son similares a los reportados por Hamzah *et al.* (2018), donde cepas de *Fusarium*, endófitas de manglares inhibieron el crecimiento del patógeno *F. solani*. Sin embargo, se sugiere realizar más investigaciones para determinar si el comportamiento de las cepas de *Fusarium* endófitas de *C. mirandae* es de antibiosis contra los patógenos evaluados. Por su parte, Vidal *et al.* (2020), determinaron que la secreción de compuestos difusibles y volátiles de hongos endófitos asociados a diferentes tejidos de plantas nativas y endémicas de la Precordillera Andina Central de Chile, inhibía el crecimiento micelial del patógeno necrotrófico *B. cinerea*.

La cepa *Fusarium* sp. (JS286) produjo la mayor cantidad (0.12 mg/mL) de AIA. Estudios previos han reportado que cepas de *Fusarium* endófitas pueden producir hasta 0.42 mg/mL de AIA (Lü *et al.* 2023). También se documenta que las cepas de *Fusarium* endófitas de *C. mirandae* produjeron sideróforos. Seis cepas de los 14 hongos endófitos de *C. mirandae* resultaron capaces de fijar el nitrógeno. Se ha sugerido que los hongos capaces de producir sideróforos y fijar N atmosférico, generalmente promueven el crecimiento de las plantas (Khan *et al.* 2020). Las cepas de los hongos endófitos de *C. mirandae* fueron incapaces de solubilizar fosfatos. Al respecto, los principales hongos endófitos reportados como solubilizadores de fosfato pertenecen a los géneros *Penicillium*, *Aspergillus*, *Piriformospora*, *Curvularia* y hongos micorrízicos arbusculares (AM) (Mehta *et al.* 2019), no obstante, se han reportado algunas cepas de *Fusarium* endófitas capaces de solubilizar fosfatos (Fauriah *et al.* 2023).

Los endófitos de *C. mirandae* modificaron la arquitectura de la raíz y parte aérea de las plántulas de *A. thaliana* e incrementaron significativamente los parámetros de crecimiento DT, LR, AP, PFP, PFR, PSP y PSR de las plántulas de tomate. La inoculación de cepas endófitas de *Fusarium* se ha estudiado en diferentes cultivos de importancia agrícola y agronómica, Cheng *et al.* (2022), reportaron que cepas nativas micorrízicas de *Fusarium* con su endobacteria *Klebsiella aerogenes*, promovieron el crecimiento de plántulas de tomate, incrementando la LR y AP al doble comparado con los controles. Resultados similares son reportados por Fauriah *et al.* (2023), quienes probaron que cepas de *Fusarium* endófitas en cultivos de maíz, incrementan LR y AP comparado con las plántulas control, atribuyéndolo a la alta habilidad de estas cepas de solubilizar fosfatos. Por su parte Kisaakye *et al.* (2022), demostraron que con la inoculación de cepas no

patogénicas de *Fusarium* se obtuvo un mejor rendimiento en el primer ciclo de cultivo de bananas en comparación con las plantas que no fueron inoculadas, incrementando AP y la circunferencia de la base del pseudotallo del plátano, además lograron disminuir las densidades del nemátodo excavador *Radopholus similis* cuando aplicaron cepas de *Fusarium* endófitas. De manera similar Moročko-Bičevska *et al.* (2014), evaluaron la habilidad de cepas de *Fusarium* endófitas para promover el crecimiento de fresas, PFR y de brotes de las plantas preinoculadas fueron significativamente mayores que las plantas control, además la preinoculación del suelo con cepas de *Fusarium* redujo significativamente la gravedad de la enfermedad causada por el patógeno *Gnomonia fragariae* que causa severa pudrición de la raíz de las plantas de fresas. García-Latorre *et al.* (2023), demostraron que los extractos de cepas de *Fusarium* endófitas de *Biserrula pelecinus*, incrementaron al doble el PSP y PSR de *Lolium multiflorum* planta forrajera, en comparación a los tratamientos controles.

En cuanto a la evaluación del contenido de clorofila, los endófitos de *C. mirandae* incrementaron significativamente este parámetro en las plántulas de tomate, en este sentido se demostró que plántulas de maíz tratadas con *Alternaria consortiale*, endófito de *Anthemis altissima*, registraron los mayores niveles de clorofila aumentando hasta un 60% más que las plántulas no tratadas (Hatamzadeh *et al.*, 2022). Se ha comprobado que cuando hay una mayor concentración de clorofila, hay una mejor captación de energía lumínica, por lo que el proceso fotosintético se maximiza y los parámetros de crecimiento de las plantas se incrementan más rápido en condiciones naturales (Rodríguez-Larramendi *et al.*, 2021).

En los ensayos de protección, los hongos endófitos aislados de plantas endémicas de *C. mirandae* indujeron protección sistémica disminuyendo los porcentajes de severidad del patógeno necrotrófico *B. cinerea* en plántulas de tomate, resultados similares se han reportado con cepas endófitas de *Beauveria* spp., que indujeron resistencia contra *B. cinerea* en plantas de chile y tomate (Barra-Bucarei *et al.*, 2019). Asimismo, se ha reportado que *Trichoderma asperellum* hongo endófito de indujo protección sistémica contra *B. cinerea* en plantas de tomate (Herrera-Téllez *et al.*, 2019). Los resultados de este estudio demuestran una relevante actividad antifúngica de los endófitos de *C. mirandae* contra *B. cinerea*, la inducción de defensa sistémica puede ser el resultado de un efecto directo o indirecto del endófito en la planta, por su parte Li *et al.* (2020), atribuyen el potencial del hongo endófito *Albifimbria verrucaria* como agente de control de *B. cinerea* en *Vitis vinífera* a la actividad quitinasa producida por el endófito. Asim *et al.* (2022), reportaron que cepas de *Fusarium* endófitas tienen el potencial de ser probadas como bioherbicidas en cultivos de trigo para el control de *Avena fatua* debido a su actividad enzimática como la catalasa y peroxidasa.

Conclusiones generales

- Los resultados sugieren que las plantas de áreas naturales protegidas y conservadas pueden ser reservorio de una gran diversidad microorganismos endófitos con potencial biofertilizantes, sujeto de futuros estudios.
- Los hongos endófitos de *C. mirandae* del género *Fusarium* son microorganismos promisorios biofertilizantes para cultivos agrícolas.
- Este es el primer reporte en México de cepas de *Fusarium* no patogénicas que inhiben el crecimiento de patógenos, promueven el crecimiento vegetal e inducen protección sistémica en las plantas contra patógenos.

Anexos



Figura 1. *Ceratozamia mirandae* en la localidad Juan Sabines, Villa Corzo, Chiapas.

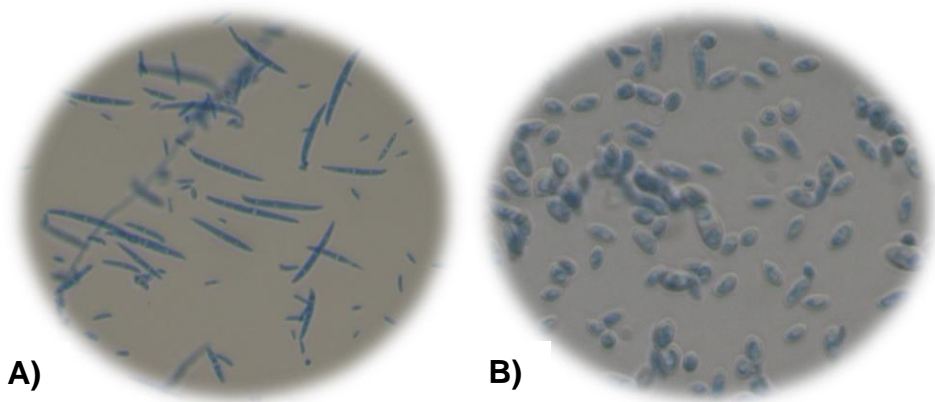


Figura 2. Estructuras morfológicas de reproducción del género *Fusarium* endófito de *C. mirandae* vistas al microscopio. A) Macroconidios (40X). B) Microconidios (40X).

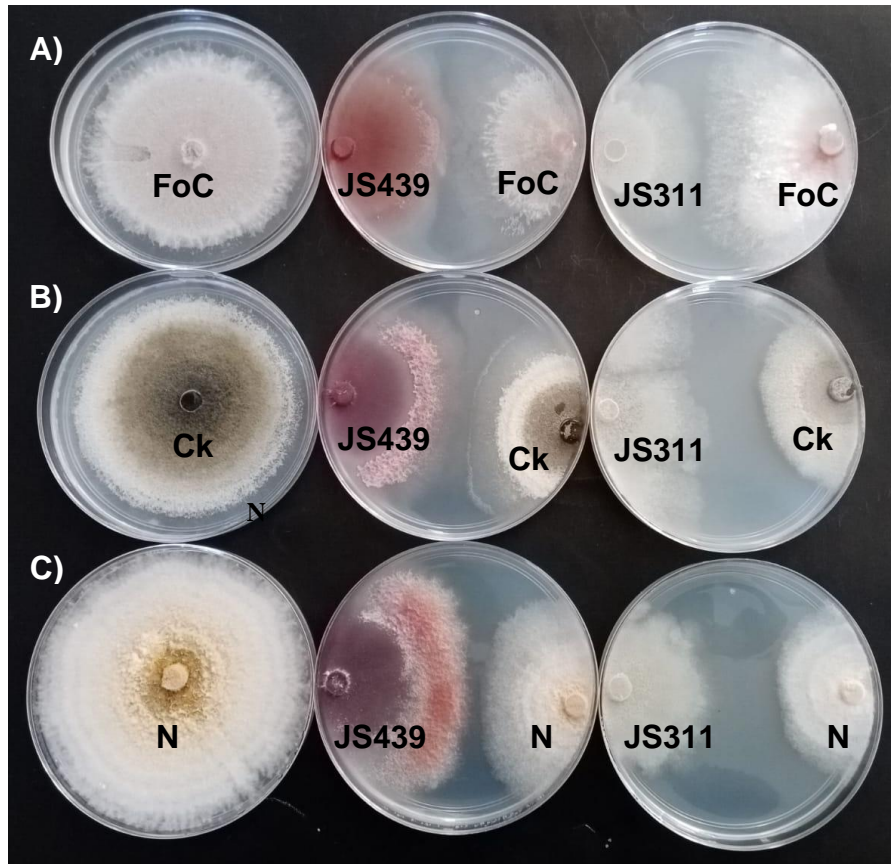


Figura 4. Representación esquemática de la respuesta antagonica *in vitro* de cepas **JS311** (*F. proliferatum*) y **JS439** (*F. oxysporum*) endófitos de raíces de *C. mirandae*, contra **A)** *Fusarium oxysporum* (**FoC**), **B)** *Colletotrichum karstii* (**Ck**) y **C)** *Neopestalotiopsis* sp. (**N**).

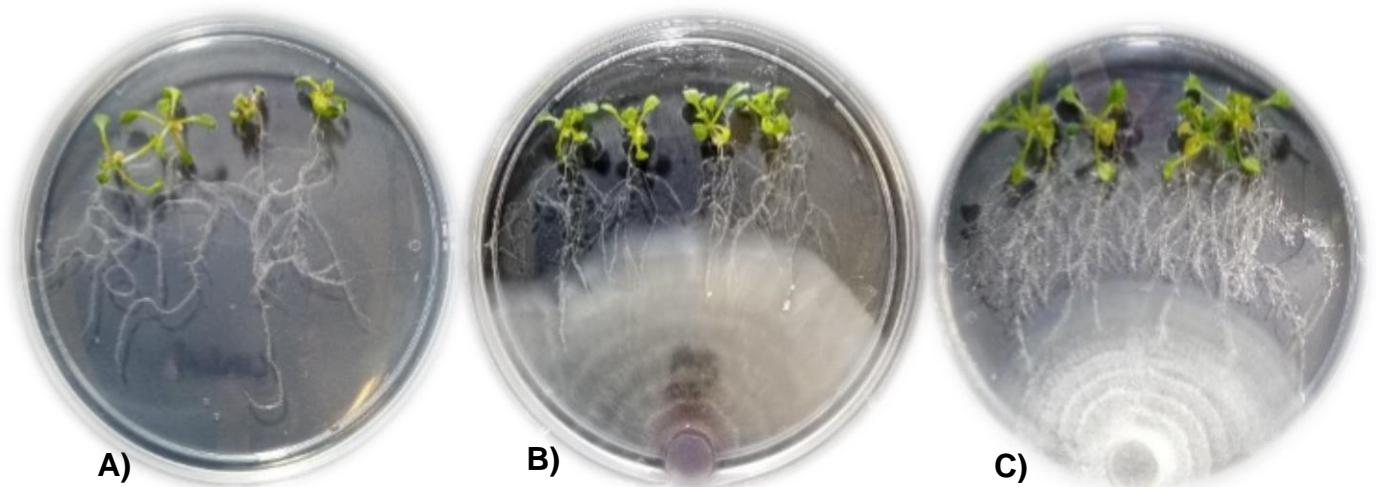


Figura 5. Representación esquemática de la promoción de crecimiento *in vitro* de *A. thaliana* por hongos endófitos de *C. mirandae*. **A)** Control, **B)** *F. oxysporum* (JS439) y **C)** *F. solani*. (JS240).

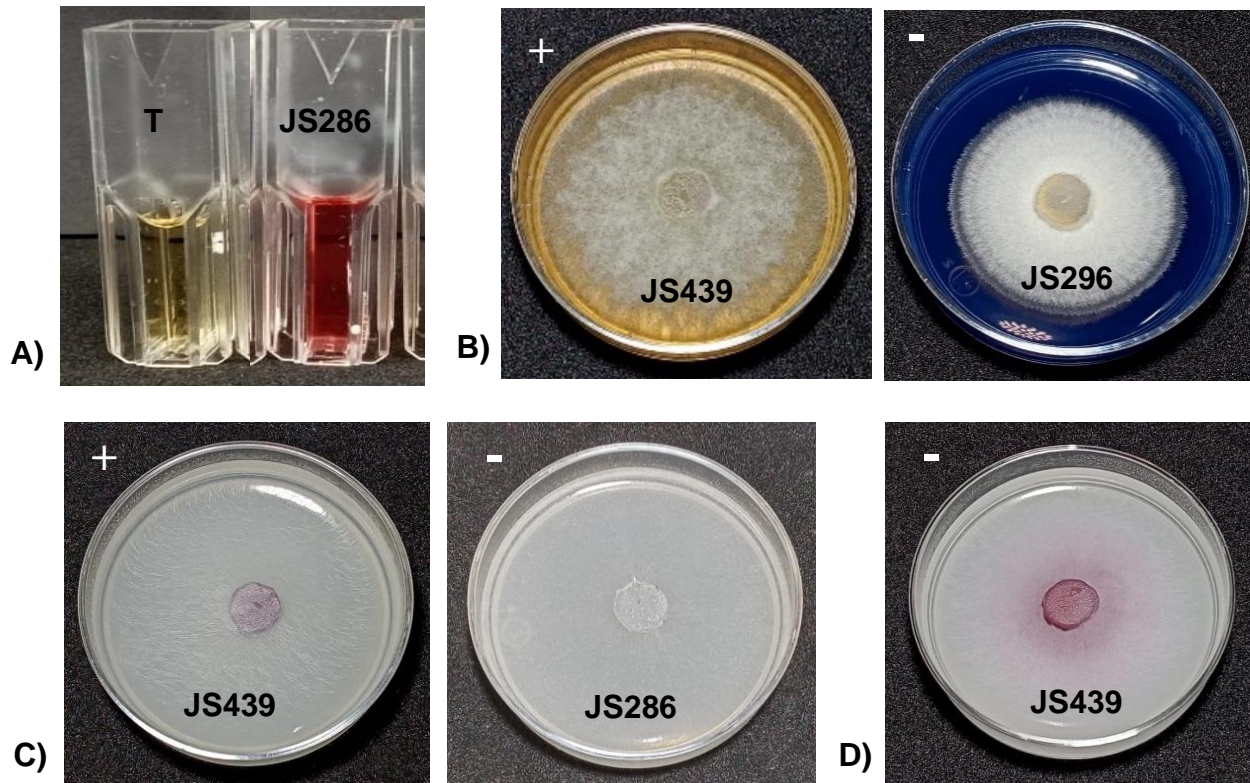


Figura 6. Representación esquemática de la caracterización bioquímica de microorganismos endófitos de *C. mirandae* que promovieron el crecimiento de *A. thaliana*. **A)** Producción de AIA, **B)** Producción de Sideróforos **C)** Fijación de N y **D)** Solubilización de P. Evaluación de los ensayos, positivo (+) muestra actividad, negativo (-) muestra ausencia de actividad.



Figura 7. Representación esquemática del bioensayo de promoción de crecimiento de plántulas de *S. lycopersicum* inoculadas con los diferentes tratamientos y hongos endófitos asociados a raíces de *C. mirandae*. T1: control agua, T2: FoT, F3: control N al 50%, T4: control N al 100%, T5: JS286, T6: JS240, T7: JS414, T8: JS439, T9: JS4101, T10: JS296, T11: JS285 y T12: JS256.

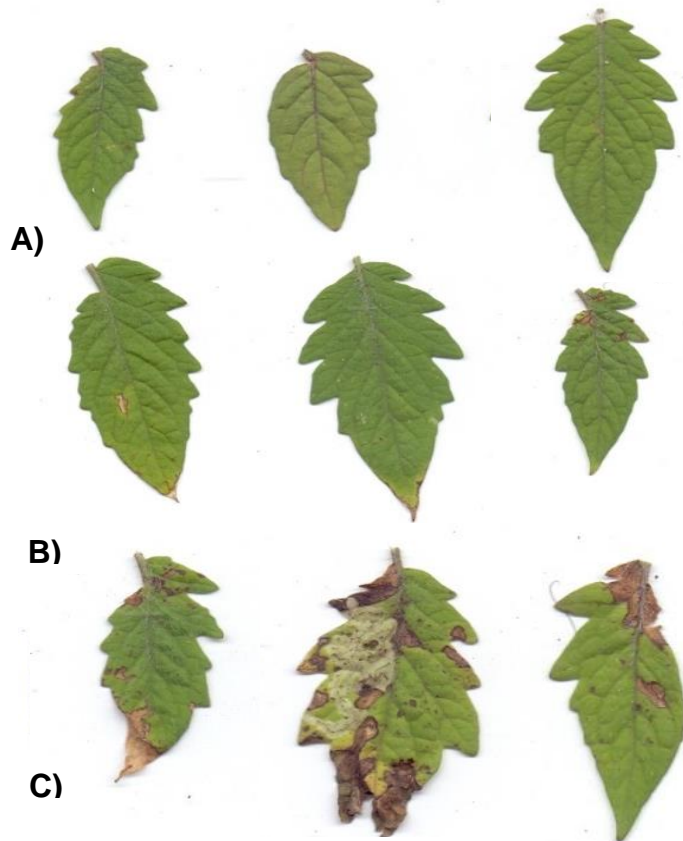


Figura 8. Representación esquemática del ensayo de protección en la interacción endófito-planta – *B. cinerea* en plántulas de *S. lycopersicum*. **A)** Control. **B)** Plantas inoculadas con endófitos de *C. mirandae* + 50% N – *B. cinerea*. **C)** Plantas controles inoculadas con FoT + 50% N – *B. cinerea*.

Bibliografía

- Al-Ani, L. K. T. (2016). Secondary Metabolites of Non-pathogenic *Fusarium*: Scope in Agriculture. *Rhizomicroorganisms*, 59-76. doi: 10.1007/978-981-13-5862-3_3
- Aliye, N., Fininsa, C. and Hiskias, Y. (2008). Evaluation of rhizosphere bacterial antagonists for their potential to bioprotect potato (*Solanum tuberosum*) against bacterial wilt (*Ralstonia solanacearum*). *Biological Control*, 47, 282-288.
- Aly, A. H. Debbab A. and Perksch, P. (2011). Fungal endophytes: unique plant inhabitants with great promises. *Appl Microbiol Biotechnol*, 90, 1829-1845.
- All-Taweil, H. I.; Osman, M. B.; Hamid, A. A. and Yusoff, W. M. W. (2009). Development of microbial inoculants and the impact of soil application on rice seedlings growth. *Am. Journal Agricultura Biology Sc*, 4, 79-82.
- Armenta, B. A. D., García, G. C., Camacho, B. J. R., Apodaca, S. M. A., Gerardo, M. L. y Nava, E. P. (2010). Biofertilizantes en el desarrollo agrícola de México. *Ra Ximhai*, 6(19), 51-56.
- Arnold, A. E., Mejía, L. C., Kyllö, D., Rojas, E. I., Maynard, Z., Robbins, N., and Herre, E. I. (2003). Fungal endophytes limit pathogen damage in a tropical tree proceedings of the national. *Academy of Sciences of the United States of America*, 100, 15649–15654.
- Asim, S., Hussain, A., Murad, W., Hamayun, M., Iqbal, A., Rehman, H., Tawab, A., Irshad, M., Alataway, A., Dewidar, A. Z., Elansary, H. O., Lee I. J. (2022). Endophytic *Fusarium oxysporum* GW controlling weed and an effective biostimulant for wheat growth. *Frontiers in PLant Science*, 13, 1-21. doi: [10.3389/fpls.2022.922343](https://doi.org/10.3389/fpls.2022.922343)

- Avis, T. J. and Belanger, R. R. (2001). Specificity and mode of action of the antifungal fatty acid cis-9-heptadecenoic acid produced by *Pseudozyma flocculosa*. *Appl Environ Microb*, 67(2), 956– 960.
- Bahadur, A. (2021). Current Status of *Fusarium* and their management strategies. *In: Mirmajlessi S. M. 2022. Fusarium-An Overview of the Genus. IntechOpen. pp. 43-59. doi: [10.5772/intechopen.95213](https://doi.org/10.5772/intechopen.95213)*
- Bao, J.R. and Lazarovits, G. (2001). Differential colonization of tomato roots by non-pathogenic and pathogenic *Fusarium oxysporum* may influence *Fusarium* wilt control. *Phytopathology*, 91, 449–456.
- Barra-Bucarei, L., France, I. A., Gerding, G. M., Silva, A. G., Carrasco-Fernández, J., Franco, C. J., Ortiz, C. J. (2019). Antifungal Activity of *Beauveria bassiana* Endophyte against *Botrytis cinerea* in Two *Solanaceae* Crops. *Microorganisms*, 8(1), 1-15. doi: [10.3390/microorganisms8010065](https://doi.org/10.3390/microorganisms8010065)
- Bashan, Y. (2008). El uso de inoculantes microbianos como una importante contribución al futuro de la agricultura mexicana. *In: Díaz-Franco, A. y Meyek-Pérez, N. (Eds.). La biofertilización como tecnología sostenible. Plaza y Valdéz. México. 17-24 pp.*
- Biles, C. L. and Martyn, R. D. (1989). Local and systemic resistance induced in watermelons by Formae speciales of *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology*, 79, 856–860.
- Binner, A., Smith, G., Bateman, I., Day, B., Agarwala, M. and Harwood, A. (2017). Valuing the social and environmental contribution of woodlands and trees in England, Scotland and Wales. Edinburgh: In. Forestry Commission <https://ore.exeter.ac.uk/repository/bitstream/handle/10871/25958/FCRP027.pdf>
- Buechel, T. (2018). Perfil de las enfermedades radiculares: *Fusarium*.

- Burgess, L. W. (1981). General ecology of the Fusaria. In: Nelson PE, Toussoun TA, Cook RJ (eds) *Fusarium: diseases, biology, and taxonomy*. Pennsylvania State University Press, University Park, pp. 225–235.
- Caballero, M. J.; Carcaño, M. M. G. and Mascarua, E. M. A. (1992). Field Inoculation of Wheat (*Triticum aestivum*) with *Azospirillum brasilense* under temperate climate. *Symbiosis*, 13, 243-25.
- Cazorla, F. M. and Mercado, J. (2016). Biological control of tree and woody plant diseases: an impossible task? *BioControl*, 61, 233–242.
- Coleman, J. J. (2016). The *Fusarium solani* species complex: ubiquitous pathogens of agricultural importance. *Molecular Plant Pathology*, 17. 146-158. doi: [10.1111/mpp.12289](https://doi.org/10.1111/mpp.12289)
- Cook, R. J. (2010). *Fusarium* root, crown and foot roots and associated seedling diseases. p. 37- 39. In Bockus, W.W., R.L. Bowden, R.M. Hunger, W.L. Morrill, T.D. Murray, and R.W. Smiley (eds.). *Compendium of Wheat Diseases and Pests*. 3rd. ed. APS Press, St. Paul, Minnesota, USA.
- Crowder, D. W. y R. Jabbour. (2014). Relaciones entre biodiversidad y control biológico en agrosistemas. *Control biológico*, 75, 8-17.
- Cruz, M. P., Corona, G. A., Selem, M. N., Pérez, F. M. A., Barona, G. F. and Cibráin, J. A. (2017). The cycad coralloid root contains a diverse endophytic bacterial community with novel biosynthetic gene clusters unique to its microbiome. *Genome Biology and Evolution*, 1-40.
- Cheng, S., Jiang, J. W., Tan, L. T., Deng, J. X., Liang, P.Y., Su, H., Sun, Z. X., Zhou, Y. (2022). Plant Growth-Promoting Ability of Mycorrhizal *Fusarium* Strain KB-3

- Enhanced by Its IAA Producing Endohyphal Bacterium, *Klebsiella aerogenes*.
Frontiers in Microbiology, 13, 1-12. doi: [10.3389/fmicb.2022.855399](https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.855399)
- Cheng, Y. L., McNally, D. J., Labbe, C., Voyer, N., Belzile, F. and Belanger, R. R. (2003).
Insertional mutagenesis of a fungal biocontrol agent led to discovery of a rare
cellobiose lipid with antifungal activity. *Appl Environ Microbiol*, 69(5), 2595–26.
- Dean, R., Van, Kan. J. A. L., Pretorius, Z. A., Hammond-Kosack, K. E., Di Pietro, A.,
Spanu, P. D. (2012). The top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology.
Molecular Plant Pathology, 13(4), 414–430. doi: [10.1111/j.1364-3703.2011.00783.x](https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2011.00783.x)
- Eilenberg, J. Hajek, A. and Lomer, C. (2001). Suggestions for unifying the terminology in
biological control. *Biocontrol*, 46(4), 387–400.
- Elad, Y., Kapat, A. (1999). The role of *Trichoderma harzianum* protease in the biocontrol
of *Botrytis cinerea*. *Eur J Plant Pathol*, 105(2), 177–189.
- Eparvier, A., Alabouvette, C. (1994) Use of ELISA and GUS-transformed strains to
study competition between pathogenic and non-pathogenic *Fusarium oxysporum*
for root colonization. *Biocontrol Sci Tech*, 4, 35–47.
- Espinosa, Z. S., Sánchez, C. R., Sanzón, G. D., Escobar, S. MC., Yañez, O. G., Morales,
C. MA. and Wong, V. A. (2021). Identification of endophytic bacteria of seeds from
Cedrela odorata L. (Meliaceae) with biotechnological characteristics. *Acta Biol
Colomb*, 26(2), 196-206. doi: [10.15446/abc.v26n2.85325](https://doi.org/10.15446/abc.v26n2.85325)
- FAO. (2010). Global forest resources assessment 2010: global tables.
- Fauriah, R., Djaya, E., Djaenuddin, N., Muis, A., Nonci, N. (2023). Potential of endophytic
fungi as a pathogenic biocontrol agent and growth promoters in corn seedlings.

Egyptian Journal of Biological Pest Control, 33(83), 1-7. doi: [10.1186/s41938-023-00728-6](https://doi.org/10.1186/s41938-023-00728-6)

- García-Latorre, C., Rodrigo, S., Marin-Felix, Y., Stadler, M., Santamaria, O. (2023). Plant-growth promoting activity of three fungal endophytes isolated from plants living in dehesas and their effect on *Lolium multiflorum*. Scientific Reports, 13(7354), 1-15. doi: [10.1038/s41598-023-34036-8](https://doi.org/10.1038/s41598-023-34036-8)
- Glick, B. R. (2005). Modulation of plant ethylene levels by the bacterial enzyme ACC deaminase. FEMS Microbiology Letters, 251, 1–7.
- Grageda, C. O. A., Díaz, F. A., Peña, C. J. J., and Vera, N. (2012). Impact of biofertilizers in agriculture. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas, 3(6), 1261-1274.
- Grageda, C. O. A., Mora, M., Castellanos, R. J. Z., Follet, R. F., and Peña, C. J. J. (2003). Fertilizer nitrogen recovery under different tillage treatments and cropping sequences in a vertisol in central México. IAEA-TECDOC, 1354, 39-55.
- Gravel, V., Antoun, H., and Tweddell, R. J. (2007). Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or *Trichoderma atroviride*: Possible role of indole acetic acid (IAA). Soil Biol. Biochem, 39, 1968-1977.
- Hamzah, T., Lee, S., Hidayat, A., Terhem, R., Faridah-Hanum, I., Mohamed, R. (2018). Diversity and Characterization of Endophytic Fungi Isolated From the Tropical Mangrove Species, *Rhizophora mucronata*, and Identification of Potential Antagonists Against the Soil-Borne Fungus, *Fusarium solani*. Frontiers Microbiology, 9(1707), 1-17. doi: [10.3389/fmicb.2018.01707](https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01707)
- Hatamzadeh, S., Rahnama, K., White, J. F., Oghaz, N. O., Nasrollahnejad, S., Hemmati, K. (2022). Investigation of some endophytic fungi from five medicinal plants with

- growth promoting ability on maize (*Zea mays* L.) Journal of Applied Microbiology, 134, 1–15. doi: [10.1093/jambio/lxac015](https://doi.org/10.1093/jambio/lxac015)
- Herre, E. A., Mejia, L. C., Kyllö, D. A., Rojas, E., Maynard, Z., Butler, A. and VanBael, S. A. (2007). Ecological implications of anti-pathogen effects of tropical fungal endophytes and mycorrhizae. *Ecology*, 88, 550–558.
- Herrera-Téllez, V. I., Cruz-Olmedo, A. K., Plasencia, J., Gavilanes-Ruíz, M., Arce-Cervantes, O., Hernández-León, S., Saucedo-García, M. (2019). The Protective Effect of *Trichoderma asperellum* on Tomato Plants against *Fusarium oxysporum* and *Botrytis cinerea* Diseases Involves Inhibition of Reactive Oxygen Species Production. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(8), 1-13 doi: [10.3390/ijms20082007](https://doi.org/10.3390/ijms20082007)
- Howell, C. R. (2003). Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts. *Plant Dis*, 87(1), 4–10.
- Jallow, M. F. A., Dugassa, G. D. and Vidal, S., (2004). Indirect interaction between an unspecialized endophytic fungus and a polyphagous moth. *Basic and Applied Ecology*, 5, 183–191.
- Jaroszuk, S. J., Kurek, E., Winiarczyk, K., Baturo, A., Łukanowski, A. (2008). Colonization of root tissues and protection against Fusarium wilt of rye (*Secale cereale*) by non-pathogenic rhizosphere strains of *Fusarium culmorum*. *Biol Control* 45:297–307.
- Joshi, M., Srivastava, R., Sharma, A. K. and Prakash, A. (2013). Isolation and characterization of *Fusarium oxysporum*, a wilt causing fungi for its pathogenic and non-pathogenic nature in tomato (*Solanum lycopersicum*). *J Appl Nat Sci*, 5, 108–117.

- Kapat, A., Zimand, G. and Elad, Y. (1998). Effect of two isolates of *Trichoderma harzianum* on the activity of hydrolytic enzymes produced by *Botrytis cinerea*. *Physiol Mol Plant Pathol*, 52(2), 127–137.
- Kei, H., Nina, G., Soledad, S., Thomas, N.R., Stéphane, H., Barbara, K., Ulla, N., Diana, R., Marcel, B. and O'Connell, R. J. (2016). Root endophyte *Colletotrichum tofieldiae* confers plant fitness benefits that are phosphate status dependent. *Cell*, 165(2), 464–474. doi: 10.1016/j.cell.2016.02.028
- Khan, A. L., Hamayun, M., Kang, S. M., Kim, Y. H., Jung, H. Y., Lee, J. H. and Lee, I. J. (2012). Endophytic fungal association via gibberellins and indole acetic acid can improve plant growth under abiotic stress: An example of *Paecilomyces formosus* LHL10. *BMC Microbiology*, 12, 1-3. doi:10.1186/1471-2180-12-3
- Kisaakye, J., Fourie, H., Haukeland, S., Kisitu, J., Nakimera, S., Cortada, L., Subramanian, S., Coyne, D. (2022). Endophytic Non-Pathogenic *Fusarium oxysporum*-Derived Dual Benefit for Nematode Management and Improved Banana (*Musa* spp.) *Productivity*. *Agriculture*, 12(125), 1-17. doi: 10.3390/agriculture12020125
- Koike, S. T., Wilen, C. A., Raabe, R. D., McCain, A. H., Grebus, M. E. (2019). *Fusarium* Wilt.
- Kovalchuk, A. Keriö, S., Oghenekaro, A. O., Jaber, E., Raffaello, T. and Asiegbu, F. O. (2013). Antimicrobial defenses and resistance in forest trees: challenges and perspectives in a genomic era. *Annu Rev Phytopathol*, 51, 221–244.
- Kruasuwan, W. and Thamchaipenet, A. (2016). Diversity of culturable plant growth-promoting bacterial endophytes associated with sugarcane roots and their effect of

- growth by co-inoculation of diazotrophs and actinomycetes. *Journal of Plant Growth Regulators*, 35, 1074–1087. doi: [10.1007/s00344-016-9604-3](https://doi.org/10.1007/s00344-016-9604-3)
- Kuldau, G. A., Yates, I. E. (2000) Evidence of *Fusarium* endophytes in cultivated and wild plants. In: Bacon CW, JJF W (eds) *Microbial endophytes*. Marcel Dekker Inc., New York. Pp. 85–117.
- Lairini, K., Perez-Espinosa, A., Ruiz-Rubio, M. (1997). Tomatinase induction in formae speciales of *Fusarium oxysporum* non-pathogenic of tomato plants. *Physiol Mol Plant Pathol*, 50, 37–52.
- Larkin, R.P. and Fravel, D.R. (1999). Mechanism of action and dose response relationship governing biological control of *Fusarium* wilt of tomato by non-pathogenic *Fusarium* spp. *Phytopathology*, 89, 1152–1161.
- Le Cocq, K., Gurr, S. J., Hirsch, P. R., Mauchline, T. H. (2017). Exploitation of endophytes for sustainable agricultural intensification. *Molecular Plant Pathology*, 18(3), 469–473. doi: [10.1111/mpp.12483](https://doi.org/10.1111/mpp.12483)
- Leslie, J. F. and Summerell, B. A. (2006). *The Fusarium Laboratory Manual*. Ames, Iowa, USA: Blackwell Publishing. 387 p.
- Leslie, J. F., Pearson, C. A. S., Nelson, P. E., Toussoun, T. A. (1990). *Fusarium* spp. from corn, sorghum and soybean fields in the Central and Eastern United States. *Phytopathology*, 80, 343–350.
- Li, Z., Chang, P., Gao, L., Wang, X. (2020). The Endophytic Fungus *Albifimbria verrucaria* from Wild Grape as an Antagonist of *Botrytis cinerea* and Other Grape Pathogens. *Phytopathology*®, 110(4), 843–850. doi: [10.1094/phyto-09-19-0347-r](https://doi.org/10.1094/phyto-09-19-0347-r)

- Lorito, M., Woo, S. L., Dambrosio, M., Harman, G. E., Hayes, C. K., Kubicek, C. P. and Scala, F. (1996). Synergistic interaction between cell wall degrading enzymes and membrane affecting compounds. *Mol Plant Microbe Interact*, 9(3), 206–213.
- Lü, Z. W., Liu, H. Y., Wang, C. L., Chen, X., Huang, Y. X., Zhang, M. M., Huang, Q. L. and Zhang, G. F. (2023). Isolation of endophytic fungi from *Cotoneaster multiflorus* and screening of drought-tolerant fungi and evaluation of their growth-promoting effects. *Frontiers Microbiology* **14**: 1-14. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1267404>
- Lugtenberg, B. and Kamilova, F. (2009). Plant-Growth Promoting rhizobacteria. *Ann. Rev. Microbiol*, 63, 541-556.
- Maccheroni, Jr. W. and Azevedo, J. L. (1998). Synthesis and secretion of phosphatases by endophytic isolates of *Colletotrichum musae* grown under conditions of nutritional starvation. *Journal of General and Applied Microbiology*, 44, 381–387.
- Mehta, P., Sharma, R., Putatunda, C. and Walia, A. (2019). Endophytic Fungi: Role in Phosphate Solubilization. In: Singh B, eds. *Advances in Endophytic Fungal Research. Fungal Biology. Springer, Cham.* pp.183-209. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-030-03589-1_9
- Milgroom, M. G. and Cortesi, P. (2004). Biological control of chestnut blight with hypovirulence: a critical analysis. *Annu Rev Phytopathol*, 42, 311–33.
- Mokobi, F. (2020). *Fusarium* spp. doi: <https://microbenotes.com/fusarium-spp/>
- Moročko-Bičevska, I., Fatehi, J., Gerhardson, B. (2014). Biocontrol of strawberry root rot and petiole blight by use of non-pathogenic *Fusarium* sp. strains. *Acta Horticulturae*, 1049, 599–605. doi: [10.17660/actahortic.2014.1049.93](https://doi.org/10.17660/actahortic.2014.1049.93)

- Narayanasamy, P. (2013). Biological management of diseases of crops. Dordrecht. Springer, 673.
- Navarro, M. A. L. and Heil, M. (2014). Symptomless endophytic fungi suppress endogenous levels of salicylic acid and interact with the jasmonate-dependent indirect defense traits of their host, lima bean (*Phaseolus lunatus*). J Chem Ecol, 40, 816–825.
- Nowak, D. J. (2004). Assessing environmental functions and values of veteran trees. In: Nicolotti G. Gonthier, P. Eds. Proceedings of the International Congress on the Protection and Exploitation of Veteran Trees Torino. Italy. pp. 45–49.
- O'Donnell, K., Rooney, A. P., Proctor, R. H., Brown, D. W., McCormick, S. P., Ward, T. J., Frandsen, R. J. N., Lysøe, E., Rehner, S. A., Aoki, T., Robert, V. A. R. G., Crous, P. W., Groenewald, J. Z., Kang, S. and Geiser, D. M. (2013) Phylogenetic analyses of RPB1 and RPB2 support a middle Cretaceous origin for a clade comprising all agriculturally and medically important fusaria. Fungal Genet. Biol, 52, 20–31.
- Okon, Y. and Kapulnik, Y. (1986). Development and function of Azospirillum-inoculated roots. Plant Soil, 90, 3-16.
- Olivain, C. and Alabouvette, C. 1997. Colonization of tomato root by a non-pathogenic strain of *Fusarium oxysporum*. New Phytol 137, 481–494.
- Ortoneda, M., Guarro, J., Madrid, M. P., Caracuel, Z., Roncero, M. I. G., Mayayo, E. and Pietro, A. D. (2004). *Fusarium oxysporum* as a multihost model for the genetic dissection of fungal virulence in plants and mammals. Infect Immun, 72, 1760–1766.

- Osman, M. B., Abdulhamid, A., Mohammad, N. and Wan, M. W. Y. (2010). Comparison of different delivery system of *Trichoderma* and *Bacillus* as biofertilizer. *Adv. Environ. Biol*, 4, 31-33.
- Pantelides, I.S.S.E., Tjamos, I.A., Striglis, I. and Chatzipavlidis. (2009). Mode of action of a non-pathogenic *Fusarium oxysporum* strain against *Verticillium dahliae* using real time QPCR analysis and biomarker transformation. *Biol Control*, 50,30–36.
- Paparu, P., Thomas, D., Coyne, D., Altus, V. (2010). Effect of *Fusarium oxysporum* endophyte inoculation on the activities of phenyl propanoid pathway enzymes and *Radopholus similis* numbers in susceptible and tolerant East African Highland bananas. *Nematology*, 12, 469–480.
- Parent, J. L., James, T. Y., Vasaitis, R. and Taylor, A. F. (2009). Friend or foe? Evolutionary history of glycoside hydrolase family 32 genes encoding for sucrolytic activity in fungi and its implications for plant-fungal symbioses. *BMC Evol Biol*, 9-148.
- Patil, S. and Sriram, S. (2020). Biological control of *Fusarium* wilt in crop plants using non-pathogenic isolates of *Fusarium* species. *Indian Phytopathology*, doi: 10.1007/s42360-020-00202-5
- Patil, S., Sriram, S., Savitha, M. J., Arulmani, N. (2011b). Induced systemic resistance in tomato by non-pathogenic *Fusarium* species for the management of *Fusarium* wilt. *Arch Phytopath Plant Prot*, 44 (16),1621–1634.
- Pérez, C. A. y Chamorro, L. (2013). Bacterias endófitas: un nuevo campo de investigación para el desarrollo del sector agropecuario. *Rev. Colombiana Cienc. Anim*, 5(2), 439-462.

- Pérez-Farrera, M. A. (2008). *Cycadales* spp. In Chiapas, Mexico (*Ceratozamia mirandae*).
Wg 3 – Succulents And Cycads. Case Study 2. Ndf Workshop Case Studies, 1-2.
- Pooja, S., Dudeja, S. and Neeru, N. (2007). Development of multiple co-inoculants of different biofertilizers and their interaction with plants. *Archives of Agron. Soil Sci*, 53, 221-230.
- Porras, A. A. and Bayman, P. (2011). Hidden fungi, emergent properties: endophytes and microbiomes. *Annu Rev Phytopathol*, 49, 291–315.
- Proveda, J., Hermosa, R., Monte, E. and Nicolás, C. (2019). *Trichoderma harzianum* favours the access of arbuscular mycorrhizal fungi to non-host Brassicaceae roots and increases plant productivity. *Scientific Reports*, 9(11650), 1-11. doi: [10.1038/s41598-019-48269-z](https://doi.org/10.1038/s41598-019-48269-z)
- Puhalla, J. E. (1981). Genetic considerations of the genus *Fusarium*. In: PE Nelson, TA Toussoun and RJ Cook ed.
- Punja, Z. K. and Utkhede, R. S. (2003). Using fungi and yeasts to manage vegetable crop diseases. *Trends Biotechnol*, 21(9), 400–407.
- Quine, C.P., Cahalan, C. and Hester, A. (2011). Woodlands. UK National Ecosystem Assessment. Technical Report, 241-295.
- Rabiey, M., Hailey, L. E., Roy, S. R., Grenz, K., Al-Zadjali, M. S., Barrett, G. A. and Jackson, R. W. (2019). Endophytes vs tree pathogens and pests: can they be used as biological control agents to improve tree health? *Eur J Plant Pathol*, 155, 711–729. doi: [10.1007/s10658-019-01814-y](https://doi.org/10.1007/s10658-019-01814-y)
- Raghunandan, B. L. (2013). Evaluation of non-pathogenic *Fusarium* spp. for their biological control efficacy against *Fusarium* wilt of watermelon (*Citrullus lanatus* (Thunb.). Matsum and Nakai University of Agricultural Sciences, Bengaluru.

- Robert, P., Larkin, F. and Martin, N. (1996). Suppression of Fusarium Wilt of watermelon by non-pathogenic *Fusarium oxysporum* and other microorganisms recovered from a disease-suppressive soil. *Phytopathology*, 86, 812–819.
- Robert, S. A., Grant, M. and Jones, J. D. (2011). Hormone crosstalk in plant disease and defense: more than just jasmonate-salicylate antagonism. *Annu Rev Phytopathol*, 49, 317–343.
- Roderick, G. K. and Navajas, M. (2003). Genes in new environments: Genetics and evolution in biological control. *Nat Rev Genet*, 4(11), 889–899.
- Rodríguez, R. J., White, J. F. Jr., Arnold, A. E. and R. S. Redman. (2009). Fungal endophytes: diversity and functional roles. *New Phytologist*, 182(2), 314-330.
- Rodríguez, R. J., White, J. F. Jr., Arnold, A. E. and Redman, R. S. (2009). Fungal endophytes: diversity and functional roles. *New Phytologist*, 182(2), 314-330.
- Rodríguez-Larramendi LA, Salas-Marina MÁ, Hernández-García V, Campos-Saldaña RA, Cruz-Macías WO, de la Cruz-Morales M, Gordillo-Curiel A, Guevara-Hernández F. 2021. Physiological effect of water and nitrogen availability on guava plants. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* **24** (19): 1-10. DOI: <http://dx.doi.org/10.56369/tsaes.3391>
- Sajeena, D., Nair, D. S. and Sreepavan, K. (2021). Non-pathogenic *Fusarium oxysporum* as a biocontrol agent. *Indian Phytopathology*, doi: 10.1007/s42360-020-00226-x
- Saleem, M., Arshad, M., Hussain, S. and Bhatti, A. S. (2007). Perspective of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) containing ACC deaminase in stress agriculture. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 34, 635–648.
- Samuels, G. J., Nirenberg, H. I. and Seifert, K. A. (2001). Perithecial species of *Fusarium*. In: B Summerell, ed. Paul E Santos-Gerardo, L.M, Vega-Portillo, H.E., Villaseñor-

- Mir, H.E., Tlapal-Bolaños, B., Vargas-Hernández, M., Camacho-Tapia, M., Tovar-Pedraza, J.M. 2017. Caracterización de especies de *Fusarium* causantes de pudrición de raíz del trigo en el bajío, México. *Chilean J. Agric. Anim. Sci*, 33(2), 142-151.
- Samuels, G., Pardo, S. R., Hebbar, K. P., Lumsden, R. D., Bastos, C. N., Costa, J. C. and Bezerra, J. L. (2000). *Trichoderma stromaticum* a parasite of the cacao witches broom pathogen. *Mycological Research*, 104(6), 760-764.
- Santos-Gerardo, L. M., Vega-Portillo, H. E., Villaseñor-Mir, H. E., Tlapal-Bolaños, B., Vargas-Hernández, M., Camacho-Tapia, M. y Tovar-Pedraza, J. M. (2017). Caracterización de especies de fusarium causantes de pudrición de raíz del trigo en el bajío, México. *Chilean J. Agric. Anim. Sci*, 33(2),142-151.
- Schirmbock, M., Lorito, M., Wang, Y. L., Hayes, C. K., Arisanatac, I., Scala, F., Harman, G. E. and Kubicek, C. P. (1994). Parallel formation and synergism of hydrolytic enzymes and peptaibol antibiotics, molecular mechanisms involved in the antagonistic action of *Trichoderma harzianum* against phytopathogenic fungi. *App Environ Microbiol*, 60(12), 4364–4370.
- Schmelz, E. A., Engelberth, J., Alborn, H. T., O'Donnell, P., Sammons, M., Toshima, H. and Tumlinson, J. H. (2003). Simultaneous analysis of phytohormones, phytotoxins, and volatile organic compounds in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100, 10552–10557.
- Schouten, A., Kurtz, A., Ditzer, A., Sikora, R.A. (2009) Molecular mechanisms involved in controlling nematode infection in crops by introducing mutualistic endophytic fungi. *WPRS Bull*, 43, 293–296.

- Schultz, B. J. E., Haas, S., Junker, C., Andree, N. and Schobert, M. (2015). Fungal endophytes are involved in multiple balanced antagonisms. *Curr Sci*, 109, 39–45.
- Schultz, B., Römmert, A., Dammann, U., Aust, H. and D. Strack. (1999). The endophyte-host interaction: a balanced antagonism. *Mycological Research*, 103, 1275-1283.
- Schultz, B., Römmert, A., Dammann, U., Aust, H. and Strack, D. (1999). The endophyte-host interaction: a balanced antagonism. *Mycological Research*, 103, 1275-1283.
- Siddiqui, I. A. and Shaukat, S. S. (2003). Factors influencing the effectiveness of non-pathogenic *Fusarium solani* strain Fs5 in the suppression of root-knot nematode in tomato. *Phytopathol Mediterr*, 42(1), 17–26.
- Sieber, T. N. (2007). Endophytic fungi of forest trees: are they mutualists? *Fungal Biol Rev*, 21, 75– 89.
- Singh, H. B., Sarma, B. K. and Keswani, C. (2016). *Agriculturally important microorganisms: commercialization and regulatory requirements in Asia*. Springer, Singapore, 336. ISBN-13: 978-9811025754.
- Strobel, G. and Daisy, B. (2003). Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 67(4), 491– 502.
- Tapia, C. y Amaro, J. (2014). Género *Fusarium*. *Revista chilena de infectología*, 31(1), 85-86, doi: 10.4067/S0716-10182014000100012
- Terhonen, E., Kovalchuk, A., Zarsav, A. and Asiegbu, O. F. (2019). *Biocontrol Potential of Forest Tree Endophytes*.
- Tjamos, E. C., Tjamos, S. E. and Antoniou, P. P. (2010). Biological management of plant diseases: highlights on research and application. *Journal Plant Pathology*, 92(4), 17–21.

- Vessey, J. K. (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant Soil*, 255, 571-586.
- Wang, H., Zhang, R., Duan, Y., Jiang, W., Chen, X., Shen, X., Yin, C. and Mao, Z. (2021). The Endophytic Strain *Trichoderma asperellum* 6S-2: An Efficient Biocontrol Agent against Apple Replant Disease in China and a Potential Plant-Growth-Promoting Fungus. *Journal of Fungi*, 7(1050), 1-27. doi: [10.3390/jof7121050](https://doi.org/10.3390/jof7121050)
- Yadav, G. and Meena, M. (2021). Bioprospecting of endophytes in medicinal plants of Thar Desert: An attractive resource for biopharmaceuticals. *Biotechnology Reports* 30, 1-30. doi: [10.1016/j.btre.2021.e00629](https://doi.org/10.1016/j.btre.2021.e00629)
- Yien, S. (2021). *Endophytes of the Tropics. Diversity, Ubiquity, and Applications*. First ed. CRC Press. Boca Raton, 33487-2742.
- Vovides, A. P., Pérez-Farrera M. A. & C. Iglesias. (2001). Another new species of *Ceratozamia* (Zamiaceae) from Chiapas, México. *Botanical Journal of The Linnean Society* 137:81-85.
- Pérez-Farrera, M. A., A.P. Vovides, P. Octavio-Aguilar, J. González-Astorga, J. De La Cruz R., R. Hernández J. and S. Maza-Villalobos-Méndez. (2006). Demography of the cycad *Ceratozamia mirandae* (Zamiaceae) under disturbed and undisturbed conditions in a biosphere reserve of Mexico. *Plant Ecology* 187:97-108.
- Unión Internacional para la Conservación de la naturaleza (IUCN). (2003). IUCN red list of threatened species. [http:// www.redlist.org](http://www.redlist.org). Fecha de consulta: 15 de mayo de 2024.
- Diario Oficial de la Federación (DOF). (2010). Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). Norma Oficial Mexicana NOM-059- ECOL-2001. Protección ambiental, especies nativas de México de flora y fauna silvestres,

categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio, lista de especies en riesgo. Diario Oficial de la Federación. Fecha de consulta: 15 de mayo de 2024.

Strobel, G. and B. Daisy. (2003). Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 67(4): 491– 502.

Bacon, C., White, J. (2011). *Microbial Endophytes*. New York: Marcel Dekker Inc.

Fouda AM, Hassad SED, Eid AM, Ewais EED. (2015). Biotechnological applications of fungal endophytes associated with medicinal plant *Asclepias sinaica* (Bioss.). *Annals of Agricultura Science* 1-10. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aogas.2015.04.001>

Coleman, D.D, Desgarenes D, Fonseca-Garcia C, Gross S, Clingenpeel S, Woyke T, North G, Visel A, Partida-Martinez LP, Tringe SG. (2016). Plant compartment and biogeography affect microbiome composition in cultivated and native *Agave* species. Plant compartment and biogeography affect microbiome composition in cultivated and native *Agave* species. *New Phytologist* **209** (2): 798-811. DOI: <https://doi.org/10.1111/nph.13697>

Vidal, A., Parada, R., Mendoza, L., & Cotoras, M. (2020). Endophytic Fungi Isolated from Plants Growing in Central Andean Precordillera of Chile with Antifungal Activity against *Botrytis cinerea*. *Journal of Fungi*, 6(3), 149. doi:10.3390/jof6030149

Mulero-Aparicio, A., Agustí-Brisach, C., Varo, Á., Javier López-Escudero, F., & Trapero, A. (2019). A non-pathogenic strain of *Fusarium oxysporum* as a potential biocontrol agent against *Verticillium* wilt of olive. *Biological Control*, 104045. doi:10.1016/j.biocontrol.2019.104045

- Griffin, E.A. and Carson, W.P. (2018). Tropical tree endophytes: cryptic drivers of forest diversity, species composition, and ecosystem function. *The Botanical Review* 81:105–149.
- Scardaci, S.C., Webster, R.K., Greer, C.A. (1997). Rice blast: a new disease in California, Agronomy Fact, Department of Agronomy and Range Science, University of California, Davis, Sheet Series, 1997-2.
- Prusky, D. (1996). Pathogen quiescence in postharvest harvest. *Annu Rev Phytol* 34:413-43
- Cao, X., Xu, X., Che, H. (2017), Distribution and fungicide sensitivity of *Colletotrichum* species complexes from rubber tree in Hainan, China. *Plant Dis* doi: 10.1094/PDIS-03-17-0352-RE
- Dean R, Van Kan JA, Pretorius ZA et al (2012) The top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Mol Plant Pathol* 13:414-430