

**UNIVERSIDAD DE CIENCIAS
Y ARTES DE CHIAPAS**

**FACULTAD DE INGENIERÍA
SEDE VILLA CORZO**

TESIS

**MICROORGANISMOS ENDÓFITOS DE
SISTEMAS AGROFORESTALES DE CAFÉ
COMO BIOFERTILIZANTES
POTENCIALES**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS
AGROFORESTALES**

**PRESENTA
BRENDA DEL ROSARIO SALDAÑA MORALES**

**DIRECTOR
DR. MIGUEL ÁNGEL SALAS MARINA**

Villa Corzo, Chiapas.

Octubre, 2024



**UNIVERSIDAD DE CIENCIAS
Y ARTES DE CHIAPAS**
FACULTAD DE INGENIERÍA
SEDE VILLA CORZO

TESIS

MICROORGANISMOS ENDÓFITOS DE SISTEMAS AGROFORESTALES DE CAFÉ COMO BIOFERTILIZANTES POTENCIALES

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS
AGROFORESTALES**

PRESENTA

BRENDA DEL ROSARIO SALDAÑA MORALES

COMITÉ TUTORIAL

MIGUEL ÁNGEL SALAS MARINA (DIRECTOR)

CLAUDIO RIOS VELASCO (CODIRECTOR)

VIDAL HERNÁNDEZ GARCÍA (ASESOR)

LUIS ALFREDO RODRÍGUEZ LARRAMENDI (ASESOR)

Villa Corzo, Chiapas.

Octubre, 2024





UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y ARTES DE CHIAPAS AUTÓNOMA

Tuxtla Gutiérrez, Chiapas a 08 de octubre de 2024

Oficio No. SA/DIP/0703/2024

Asunto: Autorización de Impresión de Tesis

C. Brenda del Rosario Saldaña Morales

CVU: 1181531

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 **Microorganismos endófitos de sistemas agroforestales de café como biofertilizantes potenciales** 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/hyb/igp/gr

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



Secretaría Académica
Dirección de Investigación y Posgrado
Libramiento Norte Poniente No. 1150
Colonia Lajas Maciel C.P. 29039
Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México
Tel:(961)6170440 EXT.4360
investigacionyposgrado@unicach.mx

Dedicatoria

A mis padres.

Gloria Morales Grajales

Gracias por tu inmenso amor y apoyo incondicional. Gracias por tus consejos, tus desvelos, por siempre creer en mí y motivarme a hacer las cosas. Eres mi ejemplo de esfuerzo y nobleza. Eres el soporte de mi vida.

Eleazar Saldaña Aguilar

Papá, gracias por todo lo que me has brindado, por tus consejos y tu cariño. Gracias por educarme para ser una persona honesta, responsable y trabajadora.

A mi hermano y su familia.

Por su cariño, apoyo y confianza. Gracias por regalarme a dos sobrinos maravillosos (Diego y Matías), con quiénes he pasado momentos inolvidables.

A mis sobrinos

Amayita y Fonchito, gracias por sus ocurrencias, sus risas y cariño.

A Alejandra Farrera

Por ser mi compañera en esta aventura, por escucharme, comprenderme y apoyarme incondicionalmente. Gracias por ser mi equipo y no dejarme sola, gracias por tu apoyo en cada decisión tomada, por tu paciencia y entrega.

Agradecimientos

Al CONAHCYT por la beca otorgada durante la maestría, ya que sin su apoyo este proyecto no se hubiese realizado.

A la UNICACH por mi formación académica, por todas las experiencias y oportunidades brindadas durante mi formación profesional.

Al CIAD-Unidad Cuauhtémoc, por la oportunidad de realizar una estancia de investigación para mi crecimiento personal y profesional.

Con mucho respeto y aprecio al Dr. Miguel Ángel Salas Marina, por darme una vez más la oportunidad de formar parte de su equipo de investigación. Gracias por su apoyo, motivación y confianza para terminar el presente trabajo. Gracias por su amistad y consejos.

Al Dr. Vidal Hernández García, quien forma parte del equipo de investigación de Biofertilizantes y Bioinsecticidas. Gracias por su apoyo y por su valiosa aportación durante toda mi formación académica.

Al Dr. Luis Alfredo Rodríguez Larramendi, por su apoyo académico y siempre tener una palabra de aliento.

Al Dr. Claudio Rios Velasco, por guiarme durante mi estancia de investigación en el CIAD, por su apoyo y motivación.

Al Dr. Daniel Alonso Pérez Corral, por sus conocimientos compartidos y por todo el apoyo brindado durante mi estancia.

A mis compañeros de la maestría, por hacer más amena esta experiencia.

Índice	
Resumen	7
Abstract	8
Introducción	9
Objetivos	10
Objetivo general	10
Objetivos específicos	10
Revisión de literatura	11
La agricultura convencional	11
Suelos agrícolas degradados	12
Microorganismos endófitos en la agricultura	13
Bacterias endófitas	14
Hongos endófitos	16
Resultados	17
Capítulo I. Artículo	17
Capítulo II. Artículo II	35
Constancias de participaciones en congresos	47
Congreso nacional de control biológico, 2022, Querétaro, México	47
Congreso nacional de control biológico, 2023, Saltillo, México	48
Reconocimiento	49
Participación en el marco de la XLI semana de ingeniería 2023, Tuxtla Gtz, Chis	49
Constancia de estancia de investigación en CIAD-Unidad Cuauhtémoc, Chihuahua, México	50
Constancia de retribución social CONAHCYT	51
Discusiones generales	55
Conclusiones generales	56
Bibliografía	56

Resumen

Los microorganismos del suelo y endófitos son utilizados como biofertilizantes en la agricultura debido a que son promotoras de crecimiento e inductores del sistema de defensa en plantas. El objetivo de este trabajo fue caracterizar microorganismos endófitos de sistemas agroforestales de café como biofertilizantes potenciales. El ensayo de biocontrol de los microorganismos endófitos contra patógenos comunes del suelo se realizó *in vitro* en cultivos duales, las especies patógenas utilizadas fueron *Fusarium oxysporum*, *Fusarium equiseti*, *Alternaria solani* y *Sclerotium rolfsii*. El ensayo de promoción del crecimiento *in vitro* se realizó en cajas de Petri utilizando como sustrato medio MS (Murashige y Skoog) y plántulas de *Arabidopsis thaliana*. La caracterización bioquímica se hizo cualitativa y cuantitativamente. El potencial efecto biofertilizante de los microorganismos endófitos (*Trichoderma* y *Bacillus*), se evaluó individualmente y en combinación (mezclas de ellos) en el cultivo de maíz, resultando 17 tratamientos y un testigo. Los datos obtenidos se analizaron usando Minitab 19 para el análisis de varianza (ANOVA), y las medias fueron clasificadas con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$). De un total de 18 cepas de hongos aisladas, se identificaron cinco géneros; *Colletotrichum*, *Fusarium*, *Simplicillium*, *Lasiodiplodia* y *Trichoderma*, así como dos especies bacterianas del género *Bacillus*. Los miembros de *Trichoderma* y *Bacillus*, resultaron efectivos para el biocontrol de patógenos y promovieron *in vitro* el crecimiento vegetal de *Arabidopsis Thaliana*; además, promovieron el crecimiento de las plantas de maíz y aumentaron el rendimiento del grano, atribuidos a la capacidad de estos microorganismos para producir sideróforos, ácido indolacético y fijar nitrógeno atmosférico.

Palabras claves: *Trichoderma*, promoción del crecimiento, fertilización, *Bacillus*, café, maíz.

Abstract

Soil microorganisms and endophytes are used as biofertilizers in agriculture because they are growth promoters and inducers of the defense system in plants. The objective of this work was to characterize endophytic microorganisms from coffee agroforestry systems as potential biofertilizers. The biocontrol test of endophytic microorganisms against common soil pathogens was carried out in vitro in dual cultures, the pathogenic species used were *Fusarium oxysporum*, *Fusarium equiseti*, *Alternaria solani* and *Sclerotium rolfsii*. The in vitro growth promotion assay was carried out in Petri dishes using MS medium (Murashige and Skoog) and *Arabidopsis thaliana* seedlings as a substrate. The biochemical characterization was done qualitatively and quantitatively. The potential biofertilizing effect of endophytic microorganisms (*Trichoderma* and *Bacillus*) was evaluated individually and in combination (mixtures of them) in the corn crop, resulting in 17 treatments and one control. The data obtained were analyzed using Minitab 19 for analysis of variance (ANOVA), and the means were classified with the Tukey test ($p \leq 0.05$). Of a total of 18 fungal strains isolated, five genera were identified; *Colletotrichum*, *Fusarium*, *Simplicillium*, *Lasiodiplodia* and *Trichoderma*, as well as two bacterial species of the genus *Bacillus*. Members of *Trichoderma* and *Bacillus* were effective for the biocontrol of pathogens and promoted plant growth of *Arabidopsis Thaliana* in vitro; In addition, they promoted the growth of corn plants and increased grain yield, attributed to the ability of these microorganisms to produce siderophores, indole acetic acid, and fix atmospheric nitrogen.

Keywords: *Trichoderma*, growth promotion, fertilization, *Bacillus*, coffee, corn

Introducción

El uso desmedido de agroquímicos en la agricultura convencional ha generado un impacto negativo significativo en los suelos agrícolas, tanto en México como a nivel mundial. Esta práctica está vinculada a una serie de problemas ambientales de gran magnitud, que incluyen la destrucción de ecosistemas naturales, la degradación de la fertilidad de los suelos, la pérdida de cosechas y la contaminación de cuerpos de agua; estos efectos no solo comprometen la productividad agrícola y por ende la soberanía alimentaria, sino que también amenazan la sostenibilidad de los recursos naturales y la biodiversidad. La agricultura consume hasta el 85% de la producción mundial de agroquímicos, con el fin de mantener el control sobre las plagas que afectan los cultivos y mantener la explotación excesiva del suelo (Del Puerto *et al.*, 2014).

Ante esta situación se han buscado alternativas al uso de agroquímicos. Una de las alternativas promisorias son los biofertilizantes a base de microorganismos endófitos que promuevan el crecimiento de las plantas y que, además, presenten actividad anti-fitopatogénica. Los sistemas agroforestales, tales como los sistemas de café son ambientes que no han sido tan perturbados químicamente. En este sentido, los cafetales en México son sistemas agroforestales ampliamente diversos y conservados en términos de riqueza biológica, donde se ha privilegiado la producción orgánica. Por lo tanto, podrían ser una fuente promisoriosa de microorganismos endófitos con potencial biofertilizante.

Los microorganismos endófitos habitan los espacios intercelulares, intracelulares y vasculares de los tejidos de las plantas sin inducir signos de patogenicidad (Ward, 2006). Esta coexistencia íntima (microorganismo-planta) sugiere que estos microorganismos podrían ofrecer beneficios directos a la planta hospedera. Entre estos beneficios, destaca la capacidad de mejorar la adaptación de las especies vegetales frente a estreses bióticos y/o abióticos (Kusari, 2012).

Objetivos

Objetivo general

Caracterizar microorganismos endófitos de sistemas agroforestales de café como biofertilizantes potenciales

Objetivos específicos

- Identificar molecularmente microorganismos (hongos y bacterias) aislados de raíces de café bajo sistema agroforestal
- Determinar el efecto biocontrolador *in vitro* de los microorganismos endófitos contra patógenos comunes del suelo
- Evaluar el efecto promotor de crecimiento *in vitro* de los microorganismos endófitos en plántulas de *Arabidopsis*
- Caracterizar bioquímicamente las especies de microorganismos endófitos con potencial biofertilizante
- Evaluar el efecto biofertilizante de los mejores microorganismos utilizando como modelo cultivo de maíz

Revisión de literatura

La agricultura convencional

La agricultura convencional, basada en los principios de la Revolución Verde (Vásquez y Vignolles, 2015; Silva *et al.*, 2017), constituye un modelo productivo caracterizado por diversas particularidades; este enfoque se distingue por el predominio del monocultivo y el empleo de variedades vegetales de alto rendimiento, generalmente híbridas o transgénicas, junto con un elevado nivel de mecanización. Además, depende en gran medida de insumos agrícolas externos, como semillas, fertilizantes y agroquímicos destinados al control de plagas, enfermedades y arvenses (Blesh y Barrett, 2006; Capellesso *et al.*, 2016; Silva *et al.*, 2017). Si bien este modelo persigue optimizar la eficiencia y maximizar la productividad agrícola, las prácticas intensivas que promueve han suscitado preocupaciones en torno a su impacto ambiental y la sostenibilidad a largo plazo.

En el panorama actual, ha surgido la idea de que, aunque la revolución verde y la agricultura convencional han conseguido un notable incremento en la producción y productividad agrícola (Vásquez y Vignolles, 2015; Kavitha y Chandran, 2017; Silva *et al.*, 2017), también han generado una serie de desafíos ambientales. Desde una óptica ambiental, se destacan problemas como la erosión y pérdida de fertilidad del suelo, la contaminación de tierras, aguas y alimentos con agroquímicos, la deforestación, la ineficiencia energética, la dependencia de combustibles fósiles y su contribución al cambio climático. A ello se suma la pérdida de biodiversidad, la reducción de la variabilidad genética, la eliminación de insectos benéficos, el debilitamiento de la resiliencia de los ecosistemas, así como la aparición de resistencias a los plaguicidas (Blesh y Barrett, 2006; Capellesso y Cazella, 2013; Capellesso *et al.*, 2016; Kavitha y Chandran, 2017).

El uso desmedido de fertilizantes químicos ha generado una acumulación progresiva de sales y sustancias nocivas en el suelo. Si bien estos productos favorecen la fertilidad en una primera etapa, con el tiempo provocan alteraciones en la estructura del suelo, reduciendo su capacidad para retener agua y nutrientes; este desequilibrio impacta negativamente en la actividad biológica, lo que conduce a una menor productividad agrícola y aumenta la susceptibilidad del terreno a la erosión y degradación física, química y biológica (Cuadras *et al.*, 2021). El rendimiento de los cultivos ha experimentado una disminución progresiva como consecuencia del uso intensivo de agroinsumos

químicos. Este fenómeno se manifiesta también en la degradación de los suelos, que se ven afectados por la compactación, la reducción del contenido de materia orgánica y la pérdida de biodiversidad. Además, se observa un incremento en la salinización, el agotamiento de los recursos hídricos subterráneos, la deforestación y la desertificación. Estas prácticas han incrementado la vulnerabilidad de los cultivos frente a plagas y enfermedades, propiciando la eliminación de organismos benéficos y favoreciendo el desarrollo de resistencias a los plaguicidas por parte de insectos, arvenses y organismos patógenos de las plantas (Carrol *et al.*, 1990; Altieri, 1993; Hewitt y Katherine, 1995).

Suelos agrícolas degradados

En la actualidad, los suelos agrícolas han sufrido una significativa reducción en su capacidad productiva, como consecuencia de una combinación de factores naturales y actividades antropogénicas. Entre las principales causas se encuentran las prácticas intensivas asociadas a la producción de cultivos, debido al uso excesivo de fertilizantes químicos en las explotaciones agrícolas, que además provoca un desequilibrio en la estructura del suelo y contribuye al empobrecimiento de su materia orgánica. Esta degradación trae como resultado un incremento inmediato de la erosión y una consecuente pérdida de la fertilidad del suelo, comprometiendo la sostenibilidad agrícola a largo plazo; además, los efectos del viento, las lluvias intensas, el impacto directo de las gotas de lluvia y la compactación causada por maquinaria pesada reducen tanto la porosidad como el espesor de la capa arable del suelo, lo que provoca una disminución en su fertilidad y afecta negativamente su capacidad productiva (García *et al.*, 1994; Pascual, 1995).

Los metales como el zinc (Zn), manganeso (Mn), cobalto (Co) y plomo (Pb) se encuentran entre los principales contaminantes que se incorporan al suelo como resultado del uso de fertilizantes sintéticos y plaguicidas en los cultivos. En particular, los fertilizantes superfosfatados destacan por su alto contenido de metales, reportando concentraciones de 2,22 mg/kg de cadmio (Cd), 4,50 mg/kg de cobalto (Co), 12,5 mg/kg de cobre (Cu) y 50 mg/kg de zinc (Zn), según lo indicado por Gimeno (1996). Estas cantidades son especialmente alarmantes en el caso del cadmio, debido a su alta capacidad de absorción por las plantas, lo que puede desencadenar efectos fitotóxicos y zootóxicos. El cadmio, además, tiene la capacidad de atravesar la barrera suelo-planta, afectando a los consumidores de dichos cultivos antes de que se manifiesten signos de toxicidad en los tejidos

vegetales (Chaney, 1983). Esta situación plantea un riesgo considerable para la salud de las plantas y humana, subrayando la importancia de mitigar el uso desmedido de fertilizantes minerales en la agricultura.

Microorganismos endófitos en la agricultura

En la actualidad, los endófitos han emergido como actores clave en la protección de los cultivos contra estreses abióticos y bióticos, lo que ha suscitado un creciente interés en la comunidad científica. En términos simples, los endófitos son organismos que habitan en los tejidos de las plantas; un aspecto fascinante de su ciclo de vida es la estrecha relación que establecen con sus hospederos, ya que permanecen en los tejidos durante períodos significativos sin causar enfermedades ni efectos adversos. Por lo tanto, la asociación entre endófitos y plantas suele ser predominantemente mutualista (Grabka *et al.*, 2022). Un extenso cuerpo de investigación ha abordado diversas poblaciones endófitas, abarcando a bacterias y hongos, con el objetivo de comprender sus posibles beneficios para las plantas; entre los que se encuentran la síntesis de metabolitos que estimulan el crecimiento, la producción de compuestos repelentes de insectos plaga, la generación de agentes antimicrobianos para hacer frente a patógenos que afectan a las plantas, así como la provisión de protección a las plantas en entornos estresantes (Golinska *et al.*, 2015; Mishra *et al.*, 2017; Gakuubi *et al.*, 2021).

Los análisis iniciales se centraron primordialmente en los endófitos bacterianos. Sin embargo, se ha constatado que los hongos endófitos representan el grupo más abundante en las plantas, a diferencia de las bacterias, cuya presencia es más notable en el suelo circundante. Este descubrimiento sugiere una dinámica compleja entre los microorganismos que habitan en las plantas y su entorno edáfico, lo que enfatiza la importancia de considerar la interacción dual de hongos y bacterias en el ámbito agrícola (Jurburg *et al.*, 2020). Numerosos estudios han revelado que los endófitos aislados de una misma especie vegetal pueden exhibir la capacidad de promover el crecimiento de dichas plantas. En este sentido, se han documentado investigaciones que detallan cómo las bacterias endófitas, por ejemplo, pueden desencadenar el crecimiento positivo en plantas que no son sus hospederos naturales (Afzal *et al.*, 2019). Estos hallazgos sugieren una interacción compleja y multifacética entre las plantas y sus endófitos, destacando la posibilidad de aplicaciones

prácticas en la agricultura y la biotecnología vegetal para mejorar el rendimiento y la resistencia de los cultivos en condiciones adversas.

Se ha reconocido que los hongos endófitos tienen una capacidad considerable para mejorar la capacidad de absorción de nutrientes de las plantas del suelo, tanto de macroelementos (por ejemplo, calcio, magnesio, nitrógeno, fósforo, potasio) como micro (por ejemplo, boro, zinc) (Verma *et al.*, 2021).

Pratiwi *et al.* (2020) llevaron a cabo el aislamiento de diversas bacterias fijadoras de nitrógeno (N) de las raíces de plantas de café, identificando a *Rahnella aquatilis* y *Pseudomonas tolaasii* como las más destacadas en la fijación de nitrógeno y en la producción de amonio. Es crucial destacar que las bacterias endófitas desempeñan un papel fundamental al modificar el nitrógeno molecular y convertirlo posteriormente en amonio, que las plantas hospederas utilizan para su crecimiento (Jha *et al.*, 2012).

Investigaciones adicionales llevadas a cabo por Pratiwi y colaboradores (2020) revelaron que varias especies bacterianas, en particular *Rahnella aquatilis* y *Kluyvera intermedia*, presentan una capacidad significativamente elevada para la solubilización de fosfatos (P). Los hallazgos de este estudio son especialmente competitivos en comparación con los obtenidos por Muleta *et al.* (2013), quienes exploraron especies rizobacterianas del suelo asociadas a las raíces del café y demostraron su notable capacidad solubilizante de fosfatos.

Teshome *et al.*, (2017) destacaron que las especies del género *Pseudomonas* representaban el 14,5% de las bacterias solubilizantes de fosfato más prominentes en sus aislamientos, seguidas por *Citrobacter* spp. (3,6%), *Rhodococcus* spp. (9,1%), *Stenotrophomonas* spp. (7,3%), así como *Gordonia* y *Bacillus* spp. (3,6%).

Bacterias endófitas

La relación entre las bacterias endófitas y las plantas hospederas es compleja y multifacética, debido a que estimulan el crecimiento vegetal mediante la movilización de nutrientes presentes en el suelo, así como la producción de diversos reguladores del crecimiento. Además, contribuyen a la protección de las plantas contra fitopatógenos, ya sea mediante el control o la inhibición de estos patógenos. Las bacterias endófitas también mejoran la estructura del suelo y facilitan procesos de biorremediación en suelos contaminados, al secuestrar metales pesados tóxicos y compuestos

xenobióticos en los tejidos vegetales (Ahemad, 2012). La importancia de las bacterias endófitas en la mejora de la absorción de nutrientes del suelo por parte de las plantas se lleva a cabo a través de la estimulación y el desarrollo de las raíces, lo que facilita un acceso más eficiente a los recursos nutritivos disponibles, facilitando la solubilización de fosfatos y la fijación biológica de nitrógeno; además, estas bacterias establecen relaciones mutualistas (Li *et al.*, 2008; Schouten, 2019).

Las bacterias endófitas solubilizadoras de fosfato (BSF) son microorganismos que juegan un papel fundamental en la solubilización de fosfatos minerales al secretar ácidos orgánicos como butanoico, etanoico, metanoico y propanoico (Goldstein *et al.*, 2003; Wan y Wong, 2004; Paredes-Mendoza *et al.*, 2010). El mecanismo principal mediante el cual estas bacterias logran su función implica la ruptura de enlaces de fósforo insoluble, facilitada por su interacción con iones metálicos como Al, Fe y Ca (Restrepo-Correa *et al.*, 2017). Este proceso no solo es esencial para la disponibilidad de fósforo en el suelo, sino que también tiene implicaciones significativas en la fertilidad del suelo y el crecimiento de las plantas. Un grupo fundamental de bacterias endófitas está compuesto por aquellas fijadoras de nitrógeno, junto a cianobacterias y actinobacterias, estas bacterias son responsables de la fijación biológica de nitrógeno (FBN), así como de la producción de metabolitos secundarios (Swarnalakshmi *et al.*, 2016). El proceso de fijación de nitrógeno, facilitado por el complejo nitrogenasa, convierte el nitrógeno atmosférico en formas que son asimilables por otros organismos (Bellenger *et al.*, 2020). Las bacterias fijadoras de nitrógeno pueden adoptar dos modalidades de vida: por un lado, algunas son simbióticas y endófitas, estableciendo nódulos en leguminosas; por otro lado, existen especies como *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Bacillus* y *Clostridium*, que se desarrollan de manera libre en el medio ambiente (Puri *et al.*, 2017; Soumare *et al.*, 2020). Las bacterias promotoras del crecimiento vegetal desempeñan un papel fundamental en el desarrollo de las plantas mediante una variedad de mecanismos fisiológicos. Entre estos mecanismos se incluyen la fijación de nitrógeno, la solubilización de fósforo y la síntesis de sideróforos. Además, producen compuestos beneficiosos como quitinasas, fitohormonas (auxinas, giberelinas y citoquininas) y antibióticos (Pitiwittayakul y Tanasupawat, 2020). Su relevancia se hace particularmente evidente en regiones áridas y semiáridas, donde investigaciones como la de Kobayashi *et al.* (2002) destacan su papel esencial en el establecimiento de diversas especies vegetales. Estas bacterias actúan como verdaderos aliados invisibles, revelando la complejidad y la maravilla de las interacciones microbianas en el reino vegetal.

Hongos endófitos

Los hongos endófitos son microorganismos que habitan en los tejidos vivos internos de las plantas, estableciendo una relación simbiótica que puede ser altamente beneficiosa para su hospedero; estos hongos, desempeñan un papel crucial en la defensa de las plantas frente a diversas amenazas, que se pueden clasificar en dos categorías principales. Por un lado, los factores bióticos, que incluyen patógenos y herbívoros, y por otro, los factores abióticos, que abarcan el estrés salino, térmico y la acumulación de metales en el ambiente. De este modo, los hongos endófitos contribuyen a mejorar la resistencia de las plantas, promoviendo su salud y supervivencia en entornos adversos (Ramos *et al.*, 2016).

Investigaciones, como la realizada por Schulz *et al.* (1999) han demostrado que la condición saprófita de los hongos endófitos puede verse alterada de manera adversa cuando las plantas se vuelven susceptibles a desórdenes nutricionales o estrés hídrico. Este fenómeno da lugar a la aparición de lo que se denomina "hongos endófitos temporales" o "patógenos latentes" (Márquez *et al.*, 2012). La latencia de estos hongos implica la existencia de infecciones asintomáticas que pueden hacerse evidentes tras un periodo de inactividad. Cuando las condiciones se tornan favorables para el huésped y/o desfavorables para la planta, estos hongos pueden transitar de un estado quiescente a uno patogénico, llegando incluso a comportarse como patógenos en contextos ambientales específicos (Begoude *et al.*, 2011; Delaye *et al.*, 2013).

La protección que los hongos endófitos ofrecen a sus hospedadores se manifiesta a través de tres mecanismos fundamentales. En primer lugar, el mecanismo directo se basa en la producción de enzimas y metabolitos secundarios que poseen propiedades anti-patógenas. En segundo lugar, el mecanismo indirecto implica la inducción o el aumento de la expresión de los mecanismos de defensa fisiológicos o químicos inherentes a la planta hospedera. Por último, el mecanismo ecológico se ejerce mediante la depredación, el hiperparasitismo y la ocupación del nicho ecológico (Sánchez-Fernández *et al.*, 2013). Este complejo sistema de interacciones subraya la relevancia de los hongos endófitos en la salud y resistencia de las plantas en diversos ecosistemas.

Resultados

Capítulo I. Artículo

Biocontrol of soil fungal pathogens and growth promotion of *Arabidopsis thaliana* by coffee endophytic fungi.

Brenda del Rosario Saldaña-Morales¹, Miguel Ángel Salas-Marina^{1*}, Vidal Hernández-García¹, Luis Alfredo Rodríguez-Larramendi¹, Claudio Ríos-Velasco², Daniel Alonso Pérez-Corral², Wel Olvein Cruz-Macias¹ and Sergio Casas-Flores³

¹Laboratorio de Biofertilizantes y Bioinsecticidas, Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas, sede Villa Corzo. Km. 3.0 Carretera Villa Corzo-Ejido Monterrey. C.P. 30520. Chiapas, Mexico.

²Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C., Unidad Cuauhtémoc, Chihuahua, Av. Río Conchos S/N, Parque Industrial. C.P. 31570, Cuauhtémoc, Chihuahua, Mexico.

³IPICYT, División de Biología Molecular, Laboratorio de Genómica Funcional y Comparativa, Camino a la Presa San José 2055. Col. Lomas 4 Sección. 78216. San Luis Potosí, SLP, Mexico.

Autor de correspondencia: miguel.salas@unicach.mx

ORCID

Brenda del Rosario Saldaña-Morales: 0009-003-9882-0567

Miguel Ángel Salas-Marina: 0000-0002-4737-2069

Vidal Hernández-García: 0000-0002-9383-6426

Luis Alfredo Rodríguez-Larramendi: 0000-0001-8805-7180

Claudio Ríos-Velasco: 0000-0002-3820-2156

Daniel Alonso Pérez-Corral: 0000-0001-8298-2738

Wel Olvein Cruz-Macias: 0000-0003-0472-8755

Sergio Casas-Flores: 0000-0002-9612-9268

Author contributions

B.R.S.M. field and laboratory work, writing the paper. D.P.C. laboratory work; V.H.G. SCF. and C.R.V. equipment, reagents and laboratory experiments designed, L.A.R.L. and W.O.C.M. field work and data analysis. M.A.S.M. design of the experiments, writing and reviewing the paper. All authors read and approved the manuscript.

Abstract

Endophytic beneficial microorganisms of plants are used as growth promoters and defense system inducers in agricultural crops. The objective of the work was to characterize endophytic fungi isolated from the roots of coffee plants grown in organic agroforestry systems. In addition to evaluating their potential as biocontrol agents against fungal pathogens and for plant growth promotion. The biocontrol activity of endophytes against four pathogens was performed in dual *in vitro* cultures in Petri dishes with potato dextrose agar (PDA), and growth inhibition was measured for the fungal pathogens. Growth promotion was evaluated by *in vitro* interaction between *Arabidopsis* seedlings and the endophyte, using MS (Murashige and Skoog) culture medium as substrate. The endophytic microorganisms were biochemically characterized qualitatively and quantitatively. Eighteen strains of endophytic fungi were isolated and placed in five genera: *Colletotrichum*, *Fusarium*, *Simplicillium*, *Lasiodiplodia* and *Trichoderma*. Ten *Trichoderma* strains exhibited antagonistic activity against selected fungal pathogens and promoted *in vitro* growth of *Arabidopsis thaliana* seedlings by their ability to produce siderophores, indole-3-acetic acid and fix nitrogen.

Key words: interaction, *Trichoderma*, *Fusarium*, antagonism, biochemical tests.

Introduction

Endophytic microorganisms (EMOs) that colonize the internal part of the plant tissue without causing damage to their host, are part of the microbial communities that interact with plants in a mutualistic and symbiotic way. EMOs have been isolated and studied from approximately 300,000 plant species, from grasses to trees, including economically relevant crops (Santoyo *et al.*, 2016). The benefits attributed to EMOs are antagonism, mycoparasitism and/or antibiosis against pathogens, as well as nutrient uptake and solubilization; in addition, they promote growth and induce the plant defense system (Husseiny *et al.*, 2021). These benefits can be manifested in plants directly and indirectly. Therefore, the characterization of EMOs is crucial to determine the bioactive compounds and the mechanisms of action they exert on their host plant (Herreño, 2023). Directly, they have the capacity to fix nitrogen, solubilize phosphates, produce siderophores and phytohormones (auxins, gibberellins and cytokinins) involved in plant growth (Afzal *et al.*, 2019). Indirectly, they inhibit pathogen growth and induce resistance pathways (Pinheiro *et al.*, 2017).

Several studies have demonstrated the potential of EMOs to control diseases and improve crop yields. In Karnataka, India, 360 endophytic fungi were isolated from plant tissue of *Sorghum bicolor*; among the isolates, the fungus *Trichoderma asperellum* was characterized as a high-spectrum antagonist against pathogens; in addition, 82% of the isolated endophytes promoted plant growth by producing indole-3-acetic acid, siderophores, phosphate solubilization and cellulase activity (Sollepura *et al.*, 2020). Wang *et al.*, (2021) determined that the parasitic and antagonistic functions of an endophytic strain of *Trichoderma* is through cell lysis by the enzymatic activity of proteases, amylase, cellulase and laccase; while the formation and length of roots of *Arabidopsis thaliana* was by the production and secretion of iron carriers, auxin and ammonia. Likewise, it was determined that EMOs of the genera *Arthrinium*,

Biscogniauxia, *Daldinia*, *Diaporthe* and *Nigrospora* from coffee leaves act as antagonists and growth inhibitors of *Alternaria alternata*, *Penicillium digitatum*, *Pseudomonas syringae* and *Salmonella enterica* (Lu *et al.*, 2022).

For years, grasses (Poaceae family) have been the main source of EMOs. In the late 1990s, the first studies of endophytes isolated from coffee plants (*Coffea arabica*) emerged, integrating a great diversity of EMOs into the production system with the objective of promoting plant growth and improving coffee seed quality (Asad *et al.*, 2023). Fungal genera such as *Colletotrichum*, *Trichoderma* and *Cercospora* are frequently isolated from leaves of organic coffee plants with antifungal capacity (Bongiorno *et al.*, 2016).

In Mexico, coffee cultivation is of great economic importance due to the exportation of the bean; coffee production is mainly concentrated in the states of Chiapas, Veracruz and Puebla (Flores, 2015). Chiapas is considered a pioneer in organic production established under agroforestry systems using native trees (Posada *et al.*, 2016; Soto *et al.*, 2022). Consequently, organic coffee agroforestry systems are a potential source for the isolation of EMOs, because they have greater biodiversity, since they are systems with little chemical disturbance.

Therefore, native EMOs represent an alternative in agricultural production systems with potential for agro-industrial and environmentally friendly application, which can reduce the excessive use of agrochemicals in the agricultural and forestry sector (Nwachukwu *et al.*, 2021). The objective of this research was to characterize endophytic fungi isolated from coffee plant roots with biocontrol potential against pathogens and plant growth promotion

Material and methods

Biological material collection

The coffee tissue (roots) samples were obtained from organic coffee agroforestry systems in the localities of La Lucha and Nueva Independencia, belonging to the municipality of Angel Albino Corzo (15° 52' N and 92° 43' W) and the locality of Gracias a Dios in the municipality of Villa Corzo (16° 26' N and 93° 16' W) in Chiapas, Mexico.

Tissue samples (roots) were taken at a depth of 10-20 cm, from coffee varieties (Catimor, Bourbon, Marago, Oro Azteca, Árabe, Costa Rica, Sarchimor and Catimor amarillo), and were processed in the biofertilizer and bioinsecticide laboratory of the Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas, Villa Corzo. Roots were dissected into 5 mm long explants, and washed consecutively with 70% ethanol for 3 min, 10% sodium hypochlorite for 10 min and sterile distilled water (twice). The explants were seeded on potato dextrose agar (PDA) medium and incubated at 28 °C. Mycelial growth of fungi was monitored every 24 h, isolated and purified by hyphal tip technique.

Endophyte fungi identification

The isolated endophytic fungi were classified by macroscopic morphological characteristics, especially color and shape of colonies, and identified by microscopic characters using an Axiolab microscope (Carl Zeiss) and the dichotomous

keys of Watanabe (2002). Morphological identification was corroborated molecularly by sequencing of the ITS marker gene. An explant of the fungus was seeded on PDA covered with a sterile cellophane (brand: pape) and incubated for seven days at 28 °C. The mycelium was harvested and frozen in liquid nitrogen, then DNA was extracted using the protocol of Raeder and Broda (1985). The total DNA was used to amplify the 18s internal transcribed spacer (ITS) of the rDNA using primers ITS5 (5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3') and ITS4 (5'-TCCTCCGCTT ATTGATATATGC-3') where the expected fragment for fungi ranges from approximately 600 to 710 base pairs (bp) (White *et al.*, 1990). PCR amplicons were sequenced following the method of Sanger and Coulson (1975) on an ABI sequencer (Applied Biosystems). Subsequently, the sequences were compared by BLAST and recorded in the NCBI database (Altschul *et al.*, 1990).

In vitro confrontation, plant growth promotion and biochemical characterization tests were carried out with strains of endophytic fungi identified and selected as beneficial.

***In vitro* confrontation assay of endophytic fungi against pathogens**

The confrontation assay (endophytic fungi vs pathogenic fungi) *in vitro* was performed in dual cultures, following the protocol described by Ríos *et al.*, (2016). The antifungal activity of endophytic fungi was evaluated against the common soil pathogens *Fusarium oxysporum*, *Fusarium equiseti*, *Sclerotium rolfsii* and *Alternaria solani* donated by the Laboratory of Plant Pathology and Biological Control CIAD-Unidad Cuauhtémoc Chihuahua, Mexico (Ríos *et al.*, 2016; Ruiz-Cisneros *et al.*, 2017). The inhibition of radial growth (IRG) of the fungal pathogen was the variable measured after seven days of interaction at 28 °C. Measurements were taken from the four cardinal points of the Petri dish using a vernier (brand: dasqua). The IRG was determined by applying the following formula $IRG = (R1 - R2) / R1 \times 100$, where R1 represents the radial growth of the pathogen alone and R2 represents the radial growth of the pathogen in interaction with the antagonist. The assays were conducted in triplicate at different times.

***In vitro* Arabidopsis growth promotion assay**

The *in vitro* ability of endophytic fungi to promote plant growth was evaluated following the protocol of Pérez-Corral *et al.*, (2022). *Arabidopsis thaliana* (Col-0) seeds were disinfected with 70% ethanol for 5 min, followed by 3% sodium hypochlorite for 7 min, and five washes with sterile distilled water (1 min). Then, three *A. thaliana* seeds per replicate (four replicates per fungus) were sown in Petri dishes with MS medium (Murashige and Skoog). After 96 h, the germinated seedlings were placed an inoculum of 7 mm diameter of each endophytic fungus in their respective box; they were incubated at 25 °C with an angle of 65° to avoid root obstruction, photoperiod of 16:8 h light/dark for 10 d. The variables measured were: number of leaves, root length, fresh weight of roots and shoots. These trials were conducted in triplicate at different times.

Biochemical characterization of endophytic fungi

Endophytic growth-promoting fungi in *A. thaliana* were biochemically characterized, following different qualitative and quantitative protocols. To determine nitrogen-fixing strains, nitrogen-free ASHBY'S selective medium (20 g sucrose, 0.2g K₂HPO₄, 0.2g MgSO₄.7H₂O, 0.2g NaCl, 0.1g K₂SO₄, 5g CaCO₃, 15g agar, 1000 µl microelements, gauged to 1L with H₂O) was used. Experimental boxes were inoculated with a 7 mm diameter explant of each fungus and incubated at 28 °C for 7 d. Fungi that grew on the culture medium were taken as positive (Salazar and Ordoñez, 2013). *In vitro* siderophore production was evaluated on chromoazurool agar following the protocol of Loudon et al., (2011). A 7 mm diameter explant with 7 d of growth of each endophyte was seeded on chromoazurool agar and incubated at 28°C for 7 d. Strains that formed a halo of orange or yellow-transparent coloration were considered positive. The ability of endophytic fungi to solubilize phosphate was evaluated using NBRIP medium (10g glucose, 5g Ca₃(PO₄)₂, 5g MgCl₂.6H₂O, 0.25g MgSO₄.7H₂O, 0.2g KCl, 0.1g (NH₄)₂ SO₄, 15g agar, gauged to 1L with H₂O). The strains that presented a transparent halo around the explant inoculated in the medium were taken as positive (Shekhar, 1999). To determine the production of indole-3-acetic acid (IAA), a 7 mm diameter explant of the endophytic fungus was seeded in nutrient broth supplemented with L-tryptophan, incubated at constant agitation (180 rpm) for 7 d, then the culture was centrifuged at 10,000 ×g for 15 min; 1 ml of supernatant was mixed with 2 ml of Salkowski solution and incubated for 30 min at room temperature in the dark. Quantification of AIA produced by the endophytic fungi was determined in a Thermoscientific spectrophotometer at 530 nm (Oliveira *et al.*, 2014).

Experimental design and statistical analysis

The *in vitro* experiments of confrontation (endophytic fungi vs. pathogenic fungi) and growth promotion of *A. thaliana* plants were conducted using a completely randomized design and in triplicate (at different times). For the first case, 4 biological replicates were used in each confrontation, and 4 controls (per pathogen and antagonist). Data obtained in both experiments (IRG and growth promotion) were processed in minitab 19 software for analysis of variance (ANOVA) and means were separated by Tukey's test (P≤0.05).

Results

Endophytic fungi isolated from coffee plant roots

By sequencing the ITS marker, 18 strains of endophytic fungi isolated from coffee roots, grouped into five genera (*Trichoderma*, *Colletotrichum*, *Fusarium*, *Simplicillium* and *Lasiodiplodia*), were identified and registered in the NCBI (Table 1). Fungi of the genus *Trichoderma* were identified 10 strains belonging to four species: *T. longibrachiatum* (C1Ca), *T. asperellum* (C2BM, C3Moa, C5Ca, C7M, C9CaM), *T. hamatum* (C4Oa, C10AOa) and *T. reesei* (C6ACa, C11M), two species of *Colletotrichum*: *C. gloeosporoides* (C13OaS) and *C. boninense* (C14CaOaASCr, C23Oa) one species of *Fusarium oxysporum* (C16AOaCa, C18SCrOa, C19ASCM) one of *Simplicillium lanosoniveum* (C21Oa) and one of *Lasiodiplodia theobromae* (C24MCrOaC) (Table 1).

The results suggest that the roots of coffee plants interact with a great diversity of fungal genera (beneficial endophytes and pathogens) independent of the variety, maintaining a dynamic microbiological balance, which are regulated, act

and are part of this complex system. It is important to mention that the genus *Trichoderma* was present in all the varieties and locations sampled, in this research it is reported for the first time in Mexico a diversity of the genus *Trichoderma* (10 strains) as endophytic fungi associated to coffee roots, with characteristics that can be promising in the biofertilization of this crop (Table 1). Due to the widely documented importance of this genus as a beneficial fungus, the strains were characterized for their antifungal and plant growth promoting abilities.

Biocontrol of pathogenic fungi by *Trichoderma* strains

The ten *Trichoderma* strains selected inhibited mycelial growth of the pathogens, *F. oxysporum*, *F. equiseti*, *S. rolfsii* and *A. Solani* (Table 2). The pathogen *F. oxysporum*, was inhibited to the greatest extent (70%) by strain C11M (*Trichoderma reesei*), followed by strains C1Ca (*T. longibrachiatum*), C3Moa, C5Ca (*T. asperellum*) and C6ACa (*T. reesei*) with inhibition values of 58-59%. Strains C2BM, C7M, C9CaM (*T. asperellum*) and C4Oa, C10AOa (*T. hamatum*) inhibited pathogen growth in lower percentages (Table 2). The pathogen *F. equiseti*, was inhibited by 68 and 60% by strains C1Ca (*T. longibrachiatum*) and C2BM (*T. asperellum*), respectively, while strains C3Moa, C5Ca, C7M and C9CaM of *T. asperellum* inhibited by 57% (Table 2). The pathogen *S. rolfsii*, was mostly inhibited by *T. reesei* strains C6ACa and C11M with values of 72 and 69% respectively, followed by strain C1Ca (*T. longibrachiatum*) with 59%. Although *S. rolfsii* is a fast-growing pathogen, the *Trichoderma* strains were able to inhibit its growth, both fungi came into contact with each other within 72 h of each other. The rest of the *Trichoderma* strains presented lower inhibition percentages, attributed to their low growth rate (Table 2). The pathogen *A. solani* was inhibited by most of the *Trichoderma* strains, ranging from 19.57 to 58.67% (Table 2), where the highest inhibition values were obtained with strains C9CaM (*T. asperellum*) and C1Ca (*T. longibrachiatum*) 58.67 and 57.98%, respectively.

***In vitro* growth promotion of *A. thaliana* by endophytic *Trichoderma* strains**

The growth promotion effect of *A. thaliana* was dependent on the *Trichoderma* strain. The plants inoculated with the *Trichoderma* strains presented greater root length than the control plants, those inoculated with strain C10AOa (*Trichoderma hamatum*) presented the highest value 40.10 mm (Table 3). As for the fresh weight of the roots, it was significantly promoted by strain C10AOa (*Trichoderma hamatum*) with a value of 2.8 mg being superior to all other treatments. In the variable fresh weight of shoots, the plants inoculated with the *Trichoderma* strains presented higher weights than the control treatment; however, the highest value 17.12 mg was obtained from the plants inoculated with strain C10AOa (*Trichoderma hamatum*) compared to the control plants 7.4 mg. Most *Trichoderma* strains increased the number of secondary roots in *A. thaliana* plants, being statistically different from control plants (Table 3). These results show that the *Arabidopsis* plants inoculated with *Trichoderma* strains presented greater growth than the control plants, so that these strains, besides inhibiting the growth of phytopathogenic fungi, promote plant growth.

Endophytic strains of *Trichoderma* produce auxins, siderophores and fix nitrogen

Endophytic fungi of the genus *Trichoderma* that inhibited pathogen growth and promoted Arabidopsis growth were biochemically characterized (Table 4). Most of the *Trichoderma* strains, with the exception of C4Oa (*T. hamatum*) were able to fix nitrogen, evidenced by their ability to grow on nitrogen-free ASHBY'S medium. All ten *Trichoderma* strains produced indole-3-acetic acid at different concentrations (Table 4); however, strain C7M (*T. asperellum*) presented the highest AIA production (330 mg/L), followed by strains C6ACa (*T. reesei*), C9CaM, C5Ca, C2BM (*T. asperellum*) and C4Oa (*T. hamatum*). Eighty percent of the strains were able to produce siderophores, evidenced by a halo of orange coloration on the chromoazuroil agar medium (Table 4). All *Trichoderma* strains were unable to solubilize phosphates (Table 4).

Discussion

Five genera of endophytic fungi isolated from coffee roots (*Trichoderma*, *Colletotrichum*, *Fusarium*, *Simplicillium* and *Lasiodiplodia*) were identified by sequencing the ITS marker (Table 1). Most members belonging to the genera *Trichoderma* and *Simplicillium* are considered beneficial (Garcia, 2018; Tseng *et al.*, 2020), while members of the genera *Colletotrichum*, *Fusarium* and *Lasiodiplodia* have mostly been reported as phytopathogens in various crops (Martinez and Perez, 2015). These data differ from those reported by Saucedo *et al.*, (2014) who, in Veracruz Mexico, isolated 10 genera of endophytic fungi from leaves in different coffee agroecosystems: *Alternaria*, *Beauveria*, *Colletotrichum*, *Coniosporium*, *Cryptosporiopsis*, *Diplodia*, *Glomerella*, *Guignardia*, *Phomopsis*, *Xylaria*; while in Panama, De Von *et al.*, (2023) isolated endophytic fungi belonging to the genera *Discosporium*, *Toxosporium*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Nigrospora*, *Curvularia*, *Colletotrichum* and *Bipolaris* from grass leaves.

In Mexico, research has been conducted on endophytic fungi in different hosts; however, there are few studies on endophytes isolated from coffee plant roots. For this reason, our findings contribute to the current knowledge, especially with respect to their abundance and capacities (antifungal and growth promotion). Zarza *et al.*, (2022) reported the presence of a great diversity of endophytic fungi of the genera *Cladosporium*, *Lasiodiplodia*, *Fusarium* and *Pestalotiopsis* associated with coffee leaves, stems and branches in the Soconusco region, Chiapas, Mexico. Solís (2023) reported the presence of the genera *Fusarium*, *Aspergillus*, *Pestalotiopsis*, *Stachybotrys*, *Curvularia*, *Diaporthe*, *Daldinia* and *Colletotrichum* in coffee leaves; they also reported that these genera inhibited the germination of spores of the coffee rust fungus *Hemileia vastratix*. Likewise, a study of microbial diversity in coffee cultivation conducted by Aguilar (2022), in three coffee growing regions of Chiapas, identified a great diversity of microbial genera in coffee cherries, the most abundant and important being *Pichia*, *Hanseniaspora*, *Candida*, *Wickerhamomyces*, *Meyerozyma*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Sordaria*, *Khuyveromyces*, *Rhodotorula*, *Kwoniella*, *Cryptococcus*, *Bandoniozyma*, *Schizophyllum*, *Trichosporon*, *Wallemia*, *Hannaella*, *Cystofilobasidium*, *Sporobolomyces* and *Sterigmatomyces*. This research reports for the first time in Mexico a diversity of fungi of the *Trichoderma* genus (10 strains) as endophytes associated with coffee roots, with biofertilizer characteristics (Table 1), which may be promising in the biofertilization of this crop. Coincidentally, in the Dominican Republic, the isolation of 19 *Trichoderma* strains and 18 non-pathogenic

Fusarium strains in roots of banana plants was reported (Morel *et al.*, 2021). These findings show that, although *Trichoderma* strains have been reported as endophytes in the phyllosphere (Herrera *et al.*, 2023), they are also common in the rhizosphere.

Trichoderma strains inhibited the radial growth of pathogens, the relevance in growth between *Trichoderma* and *Fusarium* was found, where *Trichoderma* exhibited a higher growth rate compared to *Fusarium*, these results agree with that reported by Aceves *et al.*, (2019), where *Trichoderma* strains inhibited the radial growth of *Fusarium* spp. Hoyos *et al.*, (2019) reported that *Trichoderma* inhibited *Fusarium* growth by up to 88%. Biocontrol of *Fusarium* sp. is through the production of antifungal enzymes that affect the mycelium through penetration and lysis of the cell wall; in addition, competition for space and nutrients between this pathogenic genus and the antagonist *Trichoderma* sp. (Corral *et al.*, 2024).

The pathogen *S. rolfsii*, despite being a fast-growing pathogen, the *Trichoderma* strains were able to inhibit its growth, both fungi came into contact within 72 h (Table 2). These data are in agreement with those obtained by Garrido and Vilela (2019), who confirmed that the use of native *Trichoderma* strains inhibited the growth of *S. rolfsii* at 72 h. Likewise, Martínez *et al.*, (2020) reported moderate mycoparasitism and competition for nutrients by *Trichoderma* against *S. rolfsii*, stopping the growth of this pathogen. The antagonistic activity of *Trichoderma* is due to various mechanisms that cause the production of specific compounds including volatile organic compounds (VOCs) and secondary metabolites such as peptaibols (small non-ribosomal peptides), polyketides, terpenes and pyrones as the most studied ones involved in the defense system of plants (Hernández *et al.*, 2019; Monte *et al.*, 2022). For their part, Hyder *et al.*, (2017) argue that pathogen cell wall degradation is related to the action of chitinases, β -1,3-glucanases, β -1,6-glucanases, α -1,3-glucanases, and proteases enzymes excreted during mycoparasitism of *Trichoderma* sp. The pathogen *A. solani* was inhibited by most of the *Trichoderma* strains, ranging from 19.57 to 58.67% (Table 2). The data found are similar to those reported by Ríos *et al.*, (2016) who report values of 56 to 62% in *Alternaria* growth inhibition by *Trichoderma asperellum* strains. Medina *et al.*, (2022) reported that *Trichoderma* inhibited the growth of *Alternaria* with values higher than 87%. Castrillo *et al.*, (2021) observed microscopically that during the pathogen-antagonist interaction, the hyphae of *Alternaria* sp. were coiled by *Trichoderma* sp. parasitism, extracting the cellular contents and causing the death of the host hyphae.

Arabidopsis plants inoculated with *Trichoderma* strains showed higher growth in the variables root length, number of secondary roots and shoot fresh weight (Table 3), these results are similar to those reported by You *et al.*, (2022) who documented that *A. thaliana* plants inoculated with *Trichoderma koningiopsis* showed better growth in root length and shoot fresh weight than control plants. Salas *et al.*, (2015) evidenced that *Trichoderma atroviride* strains promoted plant length and *T. virens* increased biomass. Tseng *et al.*, (2020) mention that growth promotion of *A. thaliana* by *Trichoderma* occurs during the early stages of development. The beneficial effects of *Trichoderma* in terms of plant growth promotion, may be due to its proven ability to enhance nutrient cycling and regulate phytohormones such as indolacetic acid and gibberellic acid, which are involved in physiological processes of elongation and cell division, promoting the growth of roots, stems and leaf area of plants (Celedón *et al.*, 2016; Zin and Badaluddin, 2020; Olowe *et al.*, 2022).

The *Trichoderma* strains reported in this work produced indole-3-acetic acid, fixed nitrogen, compounds that promote cell division and differentiation, plant mass production, among others. In addition, most of the strains secreted chelating compounds (siderophores) responsible for converting iron into a more soluble and assimilable form for plants, so that these compounds are indicated as responsible for promoting plant growth. Li *et al.*, (2018) demonstrated that plant growth promotion by *Trichoderma* is through its ability to solubilize $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, produce cellulases, siderophores, AIAs, proteases and chitinases. Salas *et al.*, (2011) attributed growth promotion in *A. thaliana* seedlings to AIA production by *T. atroviride*, a strain that was also able to induce systemic protection against foliar pathogens. Gonzalez *et al.*, (2019) reported *Trichoderma* strains with the ability to produce AIA and fix nitrogen, favoring even the concentration of nitrogen in *Phaseolus vulgaris* plants, as well as, the stimulation of growth by the production of AIA. In a study carried out by Sánchez (2021), he found strains of *Trichoderma* with the capacity to produce AIA and to solubilize iron (Fe) through the production of siderophores, Fe contributes in the synthesis of chlorophyll, as well as in the enzymatic activity. For this reason, *Trichoderma* is considered as a plant growth promoter by the production of deaminase, as well as phytohormones involved in cell division, root formation and plant growth (Tyskiewicz *et al.*, 2022).

Conclusion

Native endophytic fungi of the genus *Trichoderma* isolated from roots of organic coffee plants presented antifungal properties in vitro and promoted the growth of *Arabidopsis* plants, via production and secretion of auxins, siderophores and nitrogen fixation. This is the first report in Mexico of the diversity of fungi associated with coffee plant roots and of endemic strains of *Trichoderma* isolated from these agroforestry systems with biofertilizer potential that can be integrated into a sustainable agriculture system of coffee cultivation.

Acknowledgments

We thank the Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. (CIAD-Unidad Cuauhtemoc) for its support in providing facilities to develop this experiment. CONACYT for its contribution to the first autor's master scholarship.

References

- Aguilar, A. M. E. (2022). Identificación de la diversidad microbiana de *coffea arabica* y *coffea canephora* en los diferentes métodos de cultivo y de procesamiento mediante secuenciación masiva de nueva generación y la prevalencia de ocratoxina a en café de Chiapas. Tesis de maestría. Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Iztapalapa. Ciudad de México, México.
- Aceves, M. A. C., Hernández, M. J., Toledo, A. R., Sabino, L. J. E., & Romero, R. T. (2019). Capacidad antagónica de *Trichoderma* spp. nativa contra *Phytophthora parasitica* y *Fusarium oxysporum* aislados de cultivos de jamaica. *Revista fitotecnica Mexicana*, 235-241. <https://doi.org/10.35196/rfm.2019.3.235>
- Afzal, I., Shinwari, K. Z., Sikandar, S., & Shahzad, S. (2019). Plant beneficial endophytic bacteria: mechanisms, diversity, host and genetic determinants. *Microbiological Research*, 36-49. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2019.02.001>

- Altschul, S.F., Gish, W., Miller, W., Myers, W.E., & Lipman, D.J. (1990). Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, 403-410. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2)
- Asad, S., Priyashantha, A. K. H., Tibpromma, S., Luo, Y., Zhang, J., Fan, Z., Zhao, L., Shen, K., Niu, C., Lu, L., Promputtha, I., & Karunarathna, S. (2023). Coffee-Associated Endophytes: Plant Growth Promotion and Crop Protection. *Biology*, 12 (7). <https://doi.org/10.3390/biology12070911>
- Bongiorno, V. A., Rhoden, S. A., García, A., Polonio, J. C., Azevedo, J. L., Pereira, J. O., y Pamphile, J. A. (2016). Genetic diversity of endophytic fungi from *Coffea arabica* cv. *Ann Microbiol*, 855-865. <https://doi.org/10.1007/s13213-015-1168-0>
- Castrillo, M., Bich, G., Sioli, G., Zapata, P., & Villalba, L. (2021) Biocontrol capacity of native isolates of *Trichoderma* sp. Against the phytopathogenic fungus *Alternaria alternata*, isolated from yerba mate (*Ilex paraguariensis* Saint Hil). *Chilean Journal of Agricultural & Animal Sciences, ex Agro-Ciencia*, 37 (3). 244-256. <https://doi.org/10.29393/CHJAAS37-26CBML50026>
- Celedón-Vega, P., Martínez-Canchignia, H., González, M., & Seeger, M. (2016). Biosíntesis de ácido indol-3-acético y promoción del crecimiento de plantas por bacterias. *Cultivos Tropicales*, 33-39. <http://dx.doi.org/10.13140/RG.2.1.5158.3609>
- Corral, M. J.J., García-Saucedo, P. A., Aguirre-Paleo, S., Vargas-Sandoval, M., Guzmán-de Casa, A., & Ávila-Val, T. C. (2024). Microorganismos Antagonistas Como Manejo Del Marchitamiento De La Zarzamora Por *Fusarium Oxysporum*. *Revista Mexicana De Ciencias Agrícolas*, 15(3). <https://doi.org/10.29312/remexca.v15i3.3655>
- De Von, C. M., Herrera, R., & Cortez, M. (2023). Caracterización de hongos endófitos en pastos para rumiantes, en el corregimiento de santa ana, provincia de los Santos. *Revista semilla del este*, 99-121.
- E. Monte., W. B. (2022). *Trichoderma* y sus mecanismos de acción para el control de enfermedades de plantas. *Trichoderma su uso en la agricultura*, 183-202.
- Flores, F. V. (2015). La producción de café en México: ventana de oportunidad para el sector agrícola de Chiapas. *Espacio, Innovación más Desarrollo*, 174-194. <http://dx.doi.org/10.31644/IMASD.7.2015.a07>
- García, N. G. (2018). Evaluación de la calidad y métodos de producción de bioplaguicidas para el manejo de *Hemileia vastatrix* en plantaciones de café. Tesis de doctorado. Tesis de Doctorado. *Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza*. Turrialba., Costa Rica.
- Garrido, R. M., & Vilela, S. N. (2019). Capacidad antagonica de *Trichoderma harzianum* frente a *Rhizoctonia*, *Nakatea sigmoidea* y *Sclerotium rolfsii* y su efecto en cepas nativas de *Trichoderma* aisladas de cultivos de arroz. *Scientia Agropecuaria*, 199-206. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2019.02.05>
- González-Marquetti, I., Infante-Martínez, D., Arias-Vargas, Y., Gorrita-Ramírez, S., Hernández-García, T., de la Noval-Pons, B. M., Martínez-Coca, B., & Peteira, B. (2019). Efecto de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg sobre indicadores de crecimiento y desarrollo de *Phaseolus vulgaris* L. cultivar BAT-304. *Revista de protección vegetal*.
- Hernández, M. D. J., Ferrera, C. R. & Alarcón, A. . (2019). *Trichoderma*: importancia agrícola, biotecnológica, y sistemas de fermentación para producir biomasa y enzimas de interés industrial. *Chilean Journal of agricultural & animal sciences*, 98-112. <http://dx.doi.org/10.4067/S0719-38902019005000205>
- Herreño Pinzón, N. T. (2023). Caracterización de microorganismos endófitos en la raíz de *Bactris guineensis*. *Ciencia Unisalle*, 156.
- Herrera, R., de Von Chong, M., Artola, A., Tuñon, J., Cruz, A., Camargo, V., González, F., & Mejía, F. (2023). Caracterización de microorganismos benéficos para el control biológico de patógenos de arroz. *Ciencia Agropecuaria* (37), 35-61.

- Hoyos-Andrade, P., Rivera-Jiménez, M. N., Landero-Valenzuela, N., Silva-Rojas, H.V., Martínez-Salgado, S., & Romero-Arenas, O. (2023). Beneficios ecológicos y biológicos del hongo cosmopolita *Trichoderma* spp. en la agricultura: una perspectiva en el campo mexicano. *Revista Argentina de Microbiología*, 366-377. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2023.06.005>
- Hoyos-Andrade, P., Luna, C. A., Osorio, H. E., Molina, G. E., Landero, V. N. & Barrales, C. H. J. (2019). Antagonismo de *Trichoderma* spp. vs hongos asociados a la marchitez de Chile. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas.*, 1259-1272. <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i6.1326>.
- Husseiny, S., Dishisha, T., Soliman, H. A., Adeleke, R., & Raslan, M. (2021). Characterization of growth promoting bacterial endophytes isolated from *Artemisia annua* L. *South African Journal of Botany*, 238-247. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.07.042>
- Li, Y. T., Hwang, S. G., Huang, Y. M., & Huang, C. H. (2018). Effects of *Trichoderma asperellum* on nutrient uptake and *Fusarium* wilt of tomato. *Crop Protection*, 275-282. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2017.03.021>
- Louden, C. B., Haarmann, D. & Lynne M. A. (2011). Use of blue agar CAS Assay for Siderophore detection. *Journal of microbiology & Biology education*, 51-53. <https://doi.org/10.1128/jmbe.v12i1.249>
- Lu, L., Karunarathna, S. C., Hyde, K. D., Suwannarach, N., Elgorban, A. M., Stephenson, S. L., Al-Rejaie, S., Jayawardena, S. R. & Tibpromma, S. (2022). Endophytic Fungi Associated with Coffee Leaves in China Exhibited *In Vitro* Antagonism against Fungal and Bacterial Pathogens. *Journal of Fungi*, 8 (7) 698. <https://doi.org/10.3390/jof8070698>
- Martínez P. E., & Pérez, V. L. (2015). Incidencia de enfermedades fúngicas en plantaciones de cacao de las provincias orientales de Cuba. *Revista de Protección Vegetal*, 87-96.
- Martínez, M. T. O., Guerrero, A. B. Z., Pecina, Q. V., Rivas, V. P., González, P. E., & Angeles, N. J. G. (2020). Antagonismo de *Trichoderma harzianum* contra la fusariosis del garbanzo y su efecto biofertilizante. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 1135-1147. <https://doi.org/10.29312/remexca.v11i5.2325>
- Medina, T. L. F., López, V. B. E., Valenzuela, C. E., Valenzuela, E. F. A., Romero, F. C. S., Ayala, A. Q. A., Lugo, G. G. A., & Saucedo, A. C. P. (2022). *Trichoderma* spp. como antagonista de fitopatógenos del arándano azul (*Vaccinium corymbosum* L.), 607-613.
- Morel, M., García, S., Castillo, Y., Moya, J.D., Rengifo, D., Reinoso, T., & Martínez N. (2021). Aislamiento y selección de hongos endófitos nativos con potencial antagonístico a nematodos fitoparásitos en banano en las provincias Valverde y Montecristi. *Revista Agropecuaria y Forestal*, 11-24.
- Nwachukwu B.C., Ayangbenro A.S., & Babalola O.O. (2021). Comparative study of microbial structure and functional profile of sunflower rhizosphere grown in two fields. *BMC Microbiology*, 21. <https://doi.org/10.1186/s12866-021-02397-7>
- Oliveira, L. S. M., Marra, L. M., Soares, B. L., Bomfeti, C. A., Da Silva, K., Ferreira, P. A. A., & De Souza, M. F. M. (2014). Bacteria isolated from soils of the western Amazon and from rehabilitated bauxite-mining areas have potential as plant growth promoters. *Mundo J Microbiol Biotechnol.*, 50. <https://doi.org/10.1007/s11274-013-1547-2>
- Olowe, O; Nicola, L; Dare, M; Olalekan, A. A., & Oluranti, O. (2022). *Trichoderma*: Potential bio-resource for the management of tomato root rot diseases in Africa. *Microbiological Research*, 257. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.126978>
- Pérez-Corral, D. A., Ornelas-Paz, J. D. J., Olivas, G. I., Acosta-Muñiz, C. H., Salas-Marina, M. A., Berlanga-Reyes, D. I., Sepulveda, D. R., Mares-Ponce de León, Y., & Ríos-Velasco. C. (2022). Growth promotion of *Phaseolus vulgaris* and *Arabidopsis thaliana* seedlings by *Streptomyces* volatile compounds. *Plants*, 875. <https://doi.org/10.3390/plants11070875>

- Pinheiro, E. A. A., Pina, R. S. J., Feitosa, O. A., Carvalho, M. J., Borges, C. F., Marinho, S. B. P., & Marinho, M. R. A. (2017). Bioprospecting of antimicrobial activity of extracts of endophytic fungi from *Bauhinia guianensis*. *Revista Argentina de Microbiología*, 3-6. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2016.08.005>
- Posada R. H., Sánchez de Prager. M., Hereida-Abarca G., y Sieverding, E. (2016). Effects of soil physical and chemical parameters, and farm management practices on arbuscular mycorrhizal fungi communities and diversities in coffee plantations in Colombia and México. *Agroforestry Systems*, 555-574. <https://doi.org/10.1007/s10457-016-0030-0>
- Raeder, U. & Broda, P. (1985). Rapid DNA preparation from filamentous fungi. *Letters of Applied Microbiology*, 1:17-20. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.1985.tb01479.x>
- Ríos-Velasco, C., Caro-Cisneros, J. M., Berlanga-Reyes, D. I., Ruíz-Cisneros. M. F., Ornelas-Paz, .J. J., Salas-Marina, M. A., Villalobos, P.E. & Guerrero, P.V. (2016). Identification and antagonistic activity *in vitro* of *Bacillus* spp. and *Trichoderma* spp. isolates against common phytopathogenic fungi. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 84-99. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1507-1>
- Ruiz-Cisneros, M. F., Ríos-Velasco, C., Berlanga-Reyes, D. I., Ornelas-Paz, J. J., Acosta-Muñiz, C.H., Romo-Chacón A., Zamudio-Flores, P. B., Pérez-Corral, D. A., Salas-Marina, M. Á., Ibarra-Rendón, J. E., & Fernández-Pavía, S. P. 2017. Incidence and causal agents of root diseases and its antagonists in apple orchards of Chihuahua, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 35(3): 437-462. <http://dx.doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1704-3>
- Hyder, S., Inam-Ul, H. M., Bibi, S., & Humayun, M. A. (2017). Novel potential of *Trichoderma* spp. as biocontrol agent. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 214-222.
- Salas-Marina, M. A., Isordia-Jasso, M.I., Islas-Osuna, M. A., Delgado-Sánchez, P., Jiménez-Bremont, J. F., Rodríguez-Kessler, M., Rosales-Saavedra, M. T., Herrera-Estrella, A., & Casas-Flores, S. (2015). The Epl1 and Sml proteins from *Trichoderma atroviride* and *Trichoderma virens* differentially modulate systemic disease resistance against different life style pathogens in *Solanum lycopersicum*. *Frontiers in Plant Science*, Vol. 6- Article 77. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00077>
- Salas-Marina, M. A., Silva-Flores, M. A., Uresti-Rivera, E. E., Castro-Longoria, E., Herrera-Estrella, A., & Casas-Flores, S. (2011). 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. <https://doi.org/10.1007/s10658-011-9782-6>
- Salazar, L. A. M., & Ordoñez, G. C. A. (2013). Aislamiento e identificación de actinomicetos fijadores de nitrógeno en el suelo del jardín botánico de la Universidad tecnológica de Pereira. *Universidad Tecnológica*. Pereira, Risaralda, Colombia.
- Sánchez, H. D. (2021). Bioprotección y bioestimulación en plantas de tomate (*Solanum lycopersicum*) mediante inoculación con *Trichoderma* spp. Tesis Individual de maestría. Universidad Autónoma de Querétaro. Santiago de Querétaro, México.
- Sanger F. & Coulson, A. R. (1975). A rapid method for determining sequences in DNA by primed synthesis with DNA polymerase. *J Mol Biol.*, 441. [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(75\)90213-2](https://doi.org/10.1016/0022-2836(75)90213-2)
- Santoyo, G., Moreno-Hagelsieb, G., Orozco-Mosqueda, M. C., & Glick, R. B. (2016). Plant growth-promoting bacterial endophytes. *Microbiological research*, 92-99. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.11.008>
- Saucedo-García, A., Anaya, A. L., Espinosa-García, F. J., & González, M. C. (2014). Diversity and Communities of Foliar Endophytic Fungi from Different Agroecosystems of *Coffea arabica* L. in Two Regions of Veracruz, Mexico. *Plos One*, 9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0098454>
- Shekhar, N. C. (1999). An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. *FEMS Microbiology Letters.*, 265-270. [https://doi.org/10.1016/S0378-1097\(98\)00555-2](https://doi.org/10.1016/S0378-1097(98)00555-2)

- Sollepura, B. R., Murali, N., Arkere, C. U., Siddapura, R. N., Ole, S. L., & Harischandra, S. P. (2020). Diversity, plant growth-promoting traits, and biocontrol potential of fungal endophytes of *Sorghum bicolor*. *Plant Pathology*, 642-654. <https://doi.org/10.1111/ppa.13151>
- Solís, P. A. L. (2023). Hongos endófitos en café para el manejo de *Emilia vastatrix* (BERK. & BR.) del Soconusco, Chiapas. Tesis para obtener el grado de maestro en ciencias en protección vegetal. Universidad Autónoma Chapingo. Estado de México, México.
- Soto-Pinto, L., Escobar, C. S., Benítez, K. M., López, C. A., Estrada, L. E., Herrera, H. B., & Jiménez S. E. (2022). Contributions of agroforestry systems to food provisioning of peasant households: conflicts and synergies in Chiapas, Mexico. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.756611>
- Tseng, Y. H., Rouina, H., Groten, K., Rajani, P., Furch, C. U. A., Reichelt, M., Baldwin, T. I., Nataraja, N. K., Shaanker, U. R., & Oelmüller, R. (2020). An endophytic *Trichoderma* strain promotes growth of its hosts and defends against pathogen attack. *Frontiers in Plant Science*, 573-670. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.573670>
- Tyskiewicz, R., Nowak, A., Ozimek, E., & Jaroszuk-Sciset, J. (2022). *Trichoderma*: The current status of its application in agriculture for the biocontrol of fungal phytopathogens and stimulation of plant growth. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(4), 2329. <https://doi.org/10.3390/ijms23042329>
- 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 (12). <https://doi.org/10.3390/jof7121050>
- Watanabe, T. (2002). *Pictorial atlas of soil and seed fungi: Morphologies of cultured fungi and key to species*. Boca Raton, Florida, EE.UU. CRC Press.
- White, T.J., Bruns T, Lee S, & Taylor, J.W. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*, eds. Innis M. A., Gelfand D. H., Sninsky J. J., and White T. J. Academic Press, Inc., New York. Pp. 315–322.
- You, J., Li, G., Li, C., Zhu, L., Yang, H., Song, R., & Gu, W. (2022). Biological Control and Plant Growth Promotion by Volatile Organic Compounds of *Trichoderma koningiopsis* T-51. *Journal of Fungi*, 131. <https://doi.org/10.3390/jof8020131>
- Zarza, E., López-Pastrana, A., Damon, A., Guillén-Navarro, K., & García-Fajardo, L. V. (2022). Fungal diversity in shade-coffee plantations in Soconusco, Mexico. *PeerJ*, 15. <https://doi.org/10.7717/peerj.13610>
- Zin, N. A., y Badaluddin, N. A. (2020). Biological functions of *Trichoderma* spp. for agricultural applications. *Annals of Agricultural Science*, 168-178. <https://doi.org/10.1016/j.aogas.2020.09.003>

Tables

Table 1. Diversity of root endophytic fungi of coffee varieties from three localities in Chiapas, identified by 18S rRNA sequencing of the marker gene (ITS) and registered in GenBank.

Fungi strains (Key)	Genus and species	GenBank accession number	Localities	Varieties
C1Ca	<i>Trichoderma longibrachiatum</i>	PP108377	Nueva Independencia	Catimor amarillo (Ca)
C2BM	<i>Trichoderma asperellum</i>	PP106123	Nueva Independencia	Bourbon (B) y Márago (M)
C3MOa	<i>Trichoderma asperellum</i>	PP108303	Nueva Independencia Las cumbres	Márago y Oro azteca (Oa)
C4Oa	<i>Trichoderma hamatum</i>	PP106125	Las Cumbres Nueva Independencia	Oro azteca
C5Ca	<i>Trichoderma asperellum</i>	PP106126	Nueva Independencia	Catimor amarillo
C6ACa	<i>Trichoderma reesei</i>	PP106127	La lucha Nueva Independencia	Árabe (A) y Catimor amarillo
C7M	<i>Trichoderma asperellum</i>	PP106246	Nueva Independencia	Márago
C9CaM	<i>Trichoderma asperellum</i>	PP106248	Nueva Independencia	Catimor amarillo y Márago
C10AOa	<i>Trichoderma hamatum</i>	PP917528	Las cumbres	Árabe y Oro azteca
C11M	<i>Trichoderma reesei</i>	PP108559	Nueva Independencia	Márago
C13OaS	<i>Colletotrichum gloeosporoides</i>	PP108619	Nueva Independencia Las Cumbres	Oro azteca y Sarchimor (S)
C14CaOaASCr	<i>Colletotrichum boninense</i>	PP106249	Nueva Independencia Las cumbres	Catimor amarillo, Oro azteca, Árabe, Sarchimor y Costa rica
C16AOaCa	<i>Fusarium oxysporum</i>	PP106250	Las cumbres Nueva Independencia	Árabe, Oro azteca y Catimor amarillo

C18SCrOa	<i>Fusarium oxysporum</i>	PP917530	Las cumbres Nueva Independencia	Sarchimor, Costa rica y Oro azteca
C19ASCM	<i>Fusarium oxysporum</i>	PP10625	Las cumbres Nueva Independencia	Árabe, Sarchimor, Catimor (C) y Márago
C21Oa	<i>Simplicillium lanosoniveum</i>	PP106252	Las cumbres	Oro azteca
C23Oa	<i>Colletotrichum boninense</i>	PP108295	Las cumbres	Oro azteca
C24MCrOaC	<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	PP108304	Las cumbres Nva. Independencia	Márago, Costa rica (Cr), Oro azteca y Catimor

Table 2. Inhibition of radial growth of phytopathogenic fungi by *Trichoderma* strains after seven days of interaction.

<i>Trichoderma</i> strains	Radial growth inhibition (%) ± SD			
	<i>F. oxysporum</i>	<i>F. equiseti</i>	<i>S. rolfsii</i>	<i>A. solani</i>
C1Ca <i>T. longibrachiatum</i>	59.790± 2.4 B	68.668± 2.2 A	59.706± 1.1 B	57.987 ± 3.6 A
C2BM <i>T. asperellum</i>	52.362± 2.5 C	60.900± 5.2 AB	48.824± 2.2 DE	40.523± 2.2 B
C3MOa <i>T. asperellum</i>	58.114± 1.9 B	57.105± 2.1 B	47.647± 1.5 E	55.113± 3.9 A
C4Oa <i>T. hamatum</i>	43.927± 2.8 E	36.201± 3.2 D	40.882± 2.0 F	37.062± 2.0 B
C5Ca <i>T. asperellum</i>	59.106± 2.7 B	57.637± 3.0 B	48.235± 1.3 DE	53.757 ± 6.3 A
C6ACa <i>T. reesei</i>	58.203± 0.8 B	53.830 ± 1.8 BC	72.647± 1.4 A	43.340 ± 2.6 B
C7M <i>T. asperellum</i>	46.16± 2.1DE	57.129± 2.2 B	55.588± 2.2 C	53.854 ± 1.3 A
C9CaM <i>T. asperellum</i>	54.68± 1.9 BC	57.166± 3.9 B	51.765± 1.3 CD	58.670± 3.2 A
C10AOa <i>T. hamatum</i>	51.41± 2.6 CD	37.880± 2.5 D	83.824± 1.5 E	19.573 ± 2.0 C
C11M <i>T. reesei</i>	70.556± 1.3 A	46.689± 0.9 C	69.118± 1.1 A	55.324 ± 2.6 A

* Letters in the same column indicate significant differences in treatments, where means ± standard deviation (SD) that share the same letter are not significantly different according to Tukey's test (P≤0.05).

Table 3. Effect of *Trichoderma* strain inoculation on growth variables of *Arabidopsis thaliana* (number of leaves, root length, fresh weight of roots and shoots, number of secondary roots) after 10 d of interaction.

<i>Trichoderma</i> strains	Number of leaves	Root length (mm)	Root fresh weight (mg)	Fresh weight of shoots (mg)	Number of secondary roots
Control plants	6.0± 0.6 A	28.76± 0.9 F	1.4± 0.7 B	7.4± 0.8 E	7.3 ± 0.7 G
C1Ca <i>T. longibrachiatum</i>	6.2± 0.4 A	33.68± 0.9 CD	1.8± 0.6 B	10.40± 0.7 CD	7.3± 0.5 G
C2BM <i>T. asperellum</i>	6.0± 0.8 A	33.64± 0.9 CD	1.2± 0.6 B	10.32± 0.9 CD	9± 0.8 EF
C3MOa <i>T. asperellum</i>	6.3± 0.6 A	34.68± 0.8 BC	1.8± 0.5 B	12.32± 0.9 B	10.3± 0.7 CD
C4Oa <i>T. hamatum</i>	6.6± 0.4 A	35.35± 0.7 B	1.7± 0.4 B	11.83± 0.8 B	8.1± 0.7 FG
C5Ca <i>T. asperellum</i>	6.2± 0.4 A	34.17± 0.9 BC	1.5± 0.6 B	11.40± 0.9 BC	11± 0.7 BC
C6ACa <i>T. reesei</i>	6.2± 0.7 A	32.44± 0.9 DE	1.9± 0.4 B	12.10± 0.9 B	9.4± 0.5 DE
C7M <i>T. asperellum</i>	6.0± 0.6 A	31.56± 0.9 E	1.9± 0.7 B	12.48± 0.9 B	9.2± 0.8 DEF
C9CaM <i>T. asperellum</i>	6.0± 0.6 A	34.17± 0.9 BC	1.6± 0.7 B	11.50± 0.9 BC	9± 0.8 EF
C10AOa <i>T. hamatum</i>	6.1± 0.3 A	40.10± 0.8 A	2.8± 0.7 A	17.12± 0.7 A	15± 0.8 A
C11M <i>T. reesei</i>	6.0± 0.5 A	31.39± 0.9 E	1.3± 0.6 B	9.4± 0.7 D	12.1± 0.7 B

* Letters in the same column indicate significant differences in treatments, where means ± standard deviation (SD) sharing the same letter are not significantly different according to Tukey's test ($P \leq 0.05$).

Table 4. Indole-3-acetic acid-producing, siderophore-producing, nitrogen-fixing *Trichoderma* strains.

<i>Trichoderma</i> strains	AIA production (mg/L)	Siderophores	N fixation	Phosphate solubilization
C1Ca <i>T. longibrachiatum</i>	30 ± 0.0	+	+	-
C2BM <i>T. asperellum</i>	250 ± 0.0	+	+	-
C3MOa <i>T. asperellum</i>	50 ± 0.0	+	+	-
C4Oa <i>T. hamatum</i>	240 ± 0.0	-	-	-
C5Ca <i>T. asperellum</i>	260 ± 0.0	+	+	-
C6ACa <i>T. reesei</i>	290 ± 0.0	-	+	-
C7M <i>T. asperellum</i>	330 ± 0.0	+	+	-
C9CaM <i>T. asperellum</i>	270 ± 0.1	+	+	-
C10AOa <i>T. hamatum</i>	90 ± 0.0	+	+	-
C11M <i>T. reesei</i>	30 ± 0.0	+	+	-

Capítulo II. Artículo II

***Trichoderma* spp. y *Bacillus* spp. promueven el crecimiento y rendimiento del cultivo de maíz (*Zea mays*) disminuyendo las dosis de fertilización**

Brenda del Rosario Saldaña-Morales¹, Miguel Ángel Salas-Marina^{1*}, Vidal Hernández-García¹, Luis Alfredo Rodríguez-Larramendi¹, Nidia Del Carmen Ríos De León¹ y Claudio Ríos-Velasco²

¹Laboratorio de Biofertilizantes y Bioinsecticidas, Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas, sede Villa Corzo. Km. 3.0 Carretera Villa Corzo-Ejido Monterrey. C.P. 30520. Chiapas, México.

²Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C., Unidad Cuauhtémoc, Chihuahua, Av. Río Conchos S/N, Parque Industrial. C.P. 31570, Cuauhtémoc, Chihuahua, México.

Autor de correspondencia: miguel.salas@unicach.mx

Resumen

Los microorganismos del suelo y endófitos de las plantas como los del género *Trichoderma* spp. y *Bacillus* spp., son utilizados como biofertilizantes en la agricultura orgánica debido a que son promotores de crecimiento e inductores del sistema de defensa de las plantas. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto biofertilizante de especies de *Trichoderma* y *Bacillus* endófitos de café en el cultivo del maíz (*Zea mays*). Se evaluaron cuatro especies del género *Trichoderma* (*T. longibrachiatum* C1ca, *T. asperellum* C3moa, *T. hamatum* C10AOa, *T. reesei* C11M) y dos especies de *Bacillus* (*B. amyloliquefaciens* B49 y *B. subtilis* B17) donde los tratamientos fueron combinaciones de hongos, bacterias y fertilización al 50 y 100 % teniendo un total de diecisiete tratamientos y un testigo. El experimento se estableció en bloques completamente al azar con cuatro repeticiones. Las variables que se midieron fueron altura de planta, número de hojas, peso seco de raíz, tallo, hojas y rendimiento. Los datos obtenidos se les realizaron un análisis de varianza (ANOVA) y una prueba de comparación de medias Tukey ($P \leq 0.05$) utilizando el programa Minitab 19. Como resultados se encontró que todas las especies de *Trichoderma* y *Bacillus* promovieron el crecimiento de las plantas de maíz y aumentaron el rendimiento del grano del cultivo aun en los tratamientos con 50% de fertilización, superando al testigo absoluto y al tratamiento con 100% de fertilización. La aplicación de *Trichoderma* y *Bacillus* incrementa el rendimiento de maíz y reduce la aplicación de dosis de fertilizantes químicos hasta un 50%.

Palabras clave: Biofertilizantes, crecimiento vegetal, fertilización, bioestimulante

Introducción

En México, el maíz es el principal componente de la alimentación de su población; aunado a su valor nutricional, destaca su importancia histórica, cultural y económica (Cázares *et al.*, 2015). Sin embargo, este cultivo demanda grandes cantidades de fertilizantes nitrogenados y pesticidas químicos para el control de plagas y enfermedades; y con ello obtener altos rendimientos para satisfacer la demanda alimentaria de los mexicanos y de la población a nivel mundial (SIAP-SAGARPA, 2015; López-Valenzuela *et al.*, 2019). Si bien el uso indiscriminado de agroquímicos ha generado diversos problemas ambientales, como la degradación de los suelos, alterando sus propiedades físicas, químicas y biológicas, debido a que la mayoría son altamente tóxicos; además, han alterado las comunidades microbianas del suelo, limitando su productividad y contribuyendo al aumento de la resistencia de los patógenos y su incremento en los costos de producción (Jiménez, 2011).

En este sentido, los productos biológicos o biofertilizantes a base de microorganismos son una alternativa de producción amigable con el medio ambiente y pueden mitigar o coadyuvar a los impactos negativos provocados por los agroquímicos, debido a sus diferentes mecanismos de acción tales como antagonismo, micoparasitismo, antibiosis contra patógenos: además de promover el crecimiento e inducir el sistema de defensa de las plantas (De los Santos *et al.*, 2018). Entre los elementos más valiosos en la producción de estos biofertilizantes están los microorganismos promotores de crecimiento vegetal, conocidos como PGPM (Plant Growth-Promoting Microorganism), aislados de ambientes diversos, con la habilidad potencial de estimular el crecimiento de las plantas (Elein *et al.*, 2005; Bashan *et al.*, 2014). Por tanto, los hongos del género *Trichoderma* spp. y bacterias del género *Bacillus* spp. favorecen el desarrollo radicular, fijación del nitrógeno atmosférico, solubilización del fósforo del suelo, producción de ácidos orgánicos y metabolitos secundarios que actúan análogamente a las fitohormonas, por lo que influyen directamente en la disponibilidad de nutrientes y en la estimulación del crecimiento vegetal (Puente *et al.*, 2010; Cano, 2011).

Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto biofertilizante de consorcios microbianos de *Trichoderma* spp. y *Bacillus* spp. endófitos de café en el cultivo del maíz (*Zea mays*).

Materiales y métodos

Campo experimental

El ensayo se llevó a cabo en el campo experimental de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas (UNICACH), Villa Corzo, Chiapas, durante el ciclo primavera-verano del año 2022, su latitud de 16°09'49"N y cuenta con una longitud de -93°16'29"W, ubicado a 580 msnm.

Experimento en campo

Los microorganismos utilizados fueron *Trichoderma longibrachiatum* (C1Ca), *T. asperellum* (C3Moa), *T. hamatum* (C10AOa), *T. reesei* (C11M), *Bacillus amyloliquefaciens* (B49) y *Bacillus subtilis* (B17) donados por el Laboratorio de Biofertilizantes y Bioinsecticidas de la UNICACH, Sede Villa Corzo, endófitos aislados de raíces de café cultivadas bajo sistemas agroforestales. Las cepas de *Trichoderma* fueron esporuladas en PDA (papa-dextrosa-agar) y *Bacillus* crecidas en LB (Luria-Bertani), ambos géneros fueron cosechados y cuantificados en una cámara Neubauer (Isolab) y un microscopio Axiolab (Carl Zeiss), las concentraciones se ajustaron a 1×10^6 esporas/ml para *Trichoderma* y 1×10^6 UFC/ml para *Bacillus*.

Las semillas de maíz (Pioneer 4039) adaptadas a la región, fueron inoculadas al momento de la siembra por inmersión y sembradas a una distancia entre surcos 60 cm y distancia entre plantas 25 cm; se realizaron dos inoculaciones más al suelo tres días antes de cada fertilización a los 15 y 30 días después de la siembra. Se utilizó un diseño en bloques al azar con 4 repeticiones. El cultivo fue fertilizado con la fórmula 142 N- 50 P- 110 K kg/ha (100% de fertilización) y con 71 N- 25 P- 55 K kg/ha (50% de fertilización) con base a un análisis de suelo. Los tratamientos que se utilizaron fueron los siguientes.

Tabla 1. Tratamientos a base de *Trichoderma* y *Bacillus* evaluados en la producción de maíz

Tratamientos
1. Testigo absoluto
2. 100% Nutrición (142 N – 50 P – 110 K)
3. <i>T. longibrachiatum</i> (C1Ca) + <i>B. amyloliquefaciens</i> (B49) +100% fertilización

-
4. *T. longibrachiatum* (C1Ca) + *B. amyloliquefaciens* (B49) + 50% fertilización
-
5. *T. longibrachiatum* (C1Ca) + *B. subtilis* (B17) + 100% fertilización
-
6. *T. longibrachiatum* (C1Ca) + *B. subtilis* (B17) + 50% fertilización
-
7. *T. asperellum* (C3Moa) + *B. amyloliquefaciens* (B49) +100% fertilización
-
8. *T. asperellum* (C3Moa) + *B. amyloliquefaciens* (B49) + 50% fertilización
-
9. *T. asperellum* (C3Moa) + *B. subtilis* (B17) + 100% fertilización
-
10. *T. asperellum* (C3Moa) + *B. subtilis* (B17) + 50% fertilización
-
11. *T. hamatum* (C10AOa) + *B. amyloliquefaciens* (B49) +100% fertilización
-
12. *T. hamatum* (C10AOa) + *B. amyloliquefaciens* (B49) + 50% fertilización
-
13. *T. hamatum* (C10AOa) + *B. subtilis* (B17) + 100% fertilización
-
14. *T. hamatum* (C10AOa) + *B. subtilis* (B17) + 50% fertilización
-
15. *T. reesei* (C11M) + *B. amyloliquefaciens* (B49) +100% fertilización
-
16. *T. reesei* (C11M) + *B. amyloliquefaciens* (B49) + 50% fertilización
-
17. *T. reesei* (C11M) + *B. subtilis* (B17) + 100% fertilización
-
18. *T. reesei* (C11M) + *B. subtilis* (B17) + 50% fertilización
-

Las variables que se midieron fueron altura de planta, considerando la base del tallo hasta la espiga (cm), número de hojas, peso seco de raíces, tallos y hojas (gr) que conformaron la parte aérea de la planta. Para el rendimiento de grano se realizó siguiendo la metodología propuesta por CIMMYT, (1985); donde se registró el rendimiento de grano (T/ha) y el peso de mil granos (gr), el rendimiento del grano se ajustó al 12% de nivel de humedad con un determinador (Motomco 919) con un peso de muestra de 250 gr. Las mediciones se realizaron en la etapa vegetativa, 40 días después de la siembra (dds) y reproductiva R6 (190 dds) del cultivo, mediante un análisis destructivo, se midieron 8 plantas por tratamiento. Los datos obtenidos se analizaron usando Minitab 16, para el análisis de varianza (ANOVA) y las medias fueron clasificadas con la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

Resultados y Discusión

En la variable altura de plantas de maíz, se encontró que todos los tratamientos presentaron mayor altura comparado con el testigo absoluto, sin embargo, el tratamiento 12 (*Trichoderma hamatum* (C10AOa) + *B. amyloliquefaciens* (B49) con 50% de fertilización) presentó el mayor valor de altura de planta con una media de 242 cm comparado con el testigo absoluto y el tratamiento 2 (100% de nutrición) que presentaron valores de 185 y 227 cm respectivamente (Tabla 2). Los resultados son similares a los reportados por Ortuño *et al.*, (2013), donde encontraron que el uso de microorganismos del género *Trichoderma*, mejoran la absorción y optimización del N reduciendo la dosis hasta en 50%, que dio lugar a un crecimiento sano y mayor altura de planta en aguacate. Por su parte, Gao *et al.*, (2020), reportaron que el género *Bacillus* en combinación con *Azotobacter* con 50% de nutrición, promovieron el crecimiento de las plantas de maíz, aumentando su altura a 276 cm, comparado con su control (100% de nutrición) con una altura de 176 cm.

Para la variable peso seco de raíces, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos; sin embargo, se registró que los tratamientos 6 (*T. longibrachiatum* (C1Ca) + *B. subtilis* (B17) + 50% fertilización), 11 (*T. hamatum* (C10AOa) + *B. amyloliquefaciens* (B49) + 100% fertilización) y 13 (*T. hamatum* (C10AOa) + *B. subtilis* (B17) + 100% fertilización) presentaron los mayores valores de 85, 88, 81 gr comparado con el testigo absoluto y el tratamiento 2 que presentaron valores de 60 y 61 gr, respectivamente (Tabla 2). Gao *et al.*, (2020) reportaron que la aplicación combinada de purín de biogás, biofertilizantes (*Azotobacter* y *Bacillus*) con un 50% de NPK, son capaces de aumentar el peso seco de raíces y hojas en el cultivo del maíz. Así mismo, Mtaita *et al.*, (2019) señalan que el aumento del peso seco en las plantas por la combinación de microorganismos puede deberse a una absorción equilibrada de nutrientes, lo que conduce a una mayor división y agrandamiento de las células, lo que genera el crecimiento en las plantas.

En la variable peso seco de tallos, se observó que el testigo absoluto presentó una media de 88 gr, siendo superado por 14 de los tratamientos evaluados; donde los tratamientos 9 (*T. asperellum* (C3Moa) + *B. subtilis* (B17) + 100% fertilización) y 12 (*T. hamatum* (C10AOa) + *B. amyloliquefaciens* (B49) + 50% fertilización) presentaron un valor de una media de 125 gr, seguido del tratamiento 17 (*T. reesei* (C11M) + *B. subtilis* (B17) + 100% fertilización) con 124 gr (Tabla 2). Un estudio realizado por Silva *et al.*, (2023), demostraron que la aplicación de *Trichoderma* y *Bacillus* con polvo de roca con 50% de nutrición, aumenta el peso seco de los brotes en el cultivo de maíz, mismo que supera a su control.

En la variable peso seco de hojas no se presentaron diferencias significativas entre el testigo absoluto y los tratamientos (Tabla 2). Además de la importancia agrícola que el cultivo de maíz tiene para los agricultores, también resulta ser fuente de proteínas para el consumo animal, la cosecha del maíz forrajero incluye toda la planta (tallos, hojas, grano) y puede ser cosechada en verde o seco para su uso en pacas o ensilaje, de este modo resulta importante el incremento de la biomasa en la planta, razón por la que los microorganismos cumplen diversas funciones que le permiten un mejor desarrollo, debido a la absorción de nutrientes en las plantas (Reta *et al.*, 2002). Por su parte, Kurniawan (2017), menciona que la aplicación de *Trichoderma* y sustancias húmicas en el cultivo de maíz mostraron mayor desarrollo de biomasa total seca con respecto al control, de un 16 a 32% más peso seco. Cabe resaltar que los microorganismos del género *Trichoderma* y *Bacillus* favorecen al crecimiento de las plantas, al producir ácido indolacético, solubilizan fosfatos, así también, tienen la capacidad de producir sideróforos (Cubillos *et al.*, 2011).

Los tratamientos evaluados en esta investigación demostraron capacidad para aumentar el rendimiento del grano; en particular el tratamiento 12 (*T. hamatum* (C10AOa) + *B. amyloliquefaciens* (B49) + 50% fertilización) que, con el suministro de la mitad de la dosis de fertilización, produjo 8 T/ha, comparado favorablemente con el testigo absoluto y el tratamiento 2 (100% de nutrición), que presentaron rendimientos de 5.3 y 7.7 T/ha respectivamente (Tabla 2). Este resultado demuestra que la aplicación de biofertilizantes a base de *Trichoderma* y *Bacillus* se puede mantener e incrementar el rendimiento del cultivo de maíz y disminuir las dosis de fertilización hasta en un 50%, de este modo se reducen los costos de producción, así como la sobre explotación de los suelos. Páez *et al.*, (2006), indican que la inoculación con *Trichoderma* spp., redujo la tasa de nitrógeno requerida por las plantas de maíz, en consecuencia, se reduce el costo de producción y se tiene una mejora ambiental. Del mismo modo, Nepalí *et al.*, (2020) reportaron que el uso de cepas de *Trichoderma* con 50% de NPK, mejora la biomasa hasta en 83%, además de aumentar el rendimiento del grano en un 15%. En diversos estudios realizados con bacterias del género *Pseudomonas* y *Bacillus* como promotoras del crecimiento y rendimiento vegetal en diferentes suelos, ambientes y cultivos de importancia agronómica mostraron un aumento del rendimiento del 5 al 30%. Asimismo, una disminución del 25 al 50% en la dosificación de fertilizantes químicos (Hernández Escareño *et al.*, 2015; García Crespo *et al.*, 2012; Adesemoye *et al.*, 2009; Aguado y Moreno, 2008).

Tabla 2. *Trichoderma* spp. y *Bacillus* spp., estimulan el crecimiento y rendimiento del grano del cultivo de maíz. Medias clasificadas con la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$)

Tratamientos	Altura de planta (cm)	Peso seco raíz (gr)	Peso seco de tallo (gr)	Peso seco hojas (gr)	T/ha
1. Testigo absoluto	185±3.4 E	60±12ABCD	88±13BCDE	56± AB	5.3±0.1 F
2. 100% Nutrición (142 kg/ha N – 50 kg/ha P – 110 kg/ha K)	227±10.5 ABC	61±22ABCD	119±12ABC	58± AB	7.7±0.4 BC
3. (<i>T. longibrachiatum</i> (C1Ca) + <i>B. amyloliquefaciens</i> (B49) + 100% fertilización)	233±7.4 ABC	74±11AB	115±8ABC	56± AB	7.8±0.1 B
4. (<i>T. longibrachiatum</i> (C1Ca) + <i>B. amyloliquefaciens</i> (B49) + 50% nutrición)	221±4.8ABCD	76±3AB	123±10AB	60± A	7.6±2 C
5. (<i>T. longibrachiatum</i> (C1Ca) + <i>B. subtilis</i> (B17) + 100% nutrición)	217±8.4BCD	59±10ABCD	109±9ABCDE	55± AB	7.6±2 C
6. (<i>T. longibrachiatum</i> (C1Ca) + <i>B. subtilis</i> (B17) + 50% nutrición)	229±7.9ABC	85±7 A	112±7ABCD	58± AB	7.7±0.4 BC
7. <i>T. asperellum</i> (C3Moa) + <i>B. amyloliquefaciens</i> (B49) + 100% nutrición)	216±8.5BCD	34±8D	111±9ABCDE	60± A	7.7±0.4 BC
8. <i>T. asperellum</i> (C3Moa) + <i>B. amyloliquefaciens</i> (B49) + 50% nutrición)	211±12 CD	68±15ABC	79±15DE	52± AB	7.2±3 D
9. <i>T. asperellum</i> (C3Moa) + <i>B. subtilis</i> (B17) + 100% nutrición)	222±8.2ABCD	49±9 BCD	125±7 A	58± AB	7.5± 4 CD
10. <i>T. asperellum</i> (C3Moa) + <i>B. subtilis</i> (B17) + 50% nutrición)	219±5.6BCD	40±20CD	86±16CDE	47± AB	7.7±0.4 BC
11. <i>T. hamatum</i> (C10AOa) + <i>B. amyloliquefaciens</i> (B49) + 100% nutrición)	216±4.5BCD	88±6 A	108±13ABCDE	59± AB	7.7±0.4 BC
12. <i>T. hamatum</i> (C10AOa) + <i>B. amyloliquefaciens</i> (B49) + 50% nutrición)	242±6.4 A	66±12ABCD	125±5 A	58± AB	8.1±1 A

13. <i>T. hamatum</i> (C10AOa) + <i>B. subtilis</i> (B17) + 100% nutrición)	220±6.4ABCD	81±8AB	106±20ABCDE	54± AB	7.2±2.1 D
14. <i>T. hamatum</i> (C10AOa) + <i>B. subtilis</i> (B17) + 50% nutrición)	219±8.4ABCD	49±15 BCD	110±23ABCDE	63± A	7.1±3.1 DE
15. <i>T. reesei</i> (C11M) + <i>B. amyloliquefaciens</i> (B49) +100% nutrición)	219±6.2BCD	66±13ABCD	102±5ABCDE	62± A	7.6± 3C
16. <i>T. reesei</i> (C11M) + <i>B. amyloliquefaciens</i> (B49) + 50% nutrición)	225±2.7ABCD	76±16AB	112±12ABCD	57± AB	7.5± 4 CD
17. <i>T. reesei</i> (C11M) + <i>B. subtilis</i> B (17) + 100% nutrición)	234±17AB	72±7ABC	124±14 A	58± AB	7.9±1.2 AB
18. <i>T. reesei</i> (C11M) + <i>B. subtilis</i> (B17) + 50% nutrición)	203±14DE	50±9BCD	76±19E	40± B	6.6±4.1 E

Conclusión

Las cepas de *Trichoderma hamatum* y *Bacillus amyloliquefaciens* endófitas de café presentaron efectividad biológica en la promoción del crecimiento vegetal y el rendimiento del cultivo de maíz con una fertilización del 50%. Por lo tanto, pueden ser considerados como biofertilizantes potenciales para su aplicación en el cultivo; que además de su efecto biofertilizante, son una alternativa amigable con el medio ambiente contribuyendo en la disminución del uso de fertilizantes químicos y reducción los costos de producción del cultivo de maíz.

Bibliografía

- Adesemoye, A., Torbert, H., Kloepper, J. 2009. Las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal permiten tasas de aplicación reducidas de fertilizantes químicos. *Ecología Microbiana*, 58(4):921–929.
- Aguado, A., Moreno, B. 2008. Potencial de los bioinoculantes microbianos como alternativa para reducir costos de fertilización en maíz de temporal. – In *Memorias Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, Forestales y Pecuarias, INIFAP/ SAGARPA*. Guanajuato, México.

- Bashan, Y., L. E. de-Bashan, S. R. Prabhu, and J. P. Hernández. 2014. Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: formulations and practical perspectives (1998-2013). *Plant Soil* 378: 1-33.
- Cano, M. A. 2011. Interacción de microorganismos benéficos en plantas: micorrizas, *Trichoderma* spp. y *Pseudomonas* spp. *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica*. 14: 15-31.
- Cázares E., J. Chávez, Y. Salinas, F. Castillo, y P. Ramírez. 2015. Variación en la composición del grano entre poblaciones de maíz (*Zea mays* L.) nativas de Yucatán, México. *Agrociencia* 49:15–30.
- CIMMYT. (1985). Gestión de ensayos y presentación de datos para el programa internacional de análisis de maíz del CIMMYT. *Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT)*, 20.
- Cubillos H. J. G., Páez, R. A., Mejía, D. L. (2011). Evaluación de la Capacidad Biocontroladora de *Trichoderma harzianum* Rifai contra *Fusarium solani* (mart.) Sacc. Asociado al Complejo "Secadera" en Maracuyá, Bajo Condiciones de Invernadero. *Revista Facultad Nacional de Agronomía – Medellín*. vol. 64, núm. 1. pp. 5821-5830. Universidad Nacional de Colombia Medellín, Colombia.
- De los Santos, V. S.; Parra-Cota, F. I.; Herrera-Sepúlveda, A.; Valenzuela-Aragón, B. y Estrada-Mora, J. C. 2018. Colmena: colección de microorganismos edáficos y endófitos nativos, para contribuir a la seguridad alimentaria nacional. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 9(1):191-202.
- Elein T., A., Á. Leyva, y A. Hernández. 2005. Microorganismos benéficos como biofertilizantes eficientes para el cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). *Rev. Colomb. Biotecnol.* 7: 47-54.
- Gao, C., El-Sawah, A.M., Alí, D.F.I., Alhaj Hamoud, Y., Shaghaleh, H. y Sheteiwy, M.S. 2020. The Integration of Bio and Organic Fertilizers Improve Plant Growth, Grain Yield, Quality and Metabolism of Hybrid Maize (*Zea mays* L.). *Agronomy*. 10, 319. <https://doi.org/10.3390/agronomy10030319>
- García Crespo, RG, Arcia Montesuma, MA, Pérez Tortolero, MR, Riera Tona, RF 2012. Efecto de *Trichoderma* sobre el desarrollo de papa y el biocontrol de *Rhizoctonia* bajo tres tiempos de inicio de aplicación. – *Agronomía Tropical*, 62(1–4):77–96.

- Harman, G. 2006. Descripción general de los mecanismos y usos de *Trichoderma* spp. Fitopatología, 96(2):190– 2018.01.05 MoALD. 2018. Información estadística sobre la agricultura de Nepal 2074/75 (2017/18). – Gobierno de Nepal, Ministerio de Desarrollo Agrícola y Ganadero, Singha Durbar, Katmandú, Nepal. 194. DOI: 10.1094/PHYTO-96-0190.
- Hernández-Escareño, JJ, Morales, PG, Rodríguez, RF, Sánchez-Yáñez, JM 2015. Inoculación de *Burkholderia cepacia* y *Gluconacetobacter diazotrophicus* sobre la fenología y biomasa de *Triticum aestivum* var. Nana F2007 al 50% de fertilizante nitrogenado. Scientia Agropecuaria, 6(1):7–16. DOI: 10.17268/sci.agroecu.2015.01.01.
- Jiménez C., N. S. de Albarracín, G. Altuna, y M. Alcano. 2011. Efecto de *Trichoderma harzianum* (Rifai) sobre el crecimiento de plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* L.). Rev. Fac. Agron. LUZ 28: 1-10
- Kurniawan, R. E. K. (2017). The effect of formulation humic substance and *Trichoderma* sp. to increase production and growth of corn (*Zea Mays* L.). Sains Tanah-Journal of Soil Science and Agroclimatology, 14(1), 36-41
- López-Valenzuela, B. E.-B.-V.-S.-G.-O. (2019). *Trichoderma* spp. and *Bacillus* spp. as growth promoters in maize (*Zea mays* L.). *International Journal of Experimental Botany*, 88: 37-42.
- Mtaita, T. A., Nyaera, K., Mutetwa, M., and Masaka, T. (2019). Effect of Bio Fertilizer With Varying Levels of Mineral Fertilizer on Maize (*Zea Mays*. L) Growth. Galore International Journal of Applied Sciences and Humanities, 3, 1-9.
- Nepali, B., Subedi, S., Bhattarai, S., Marahatta, S., Bhandari, D., and Shrestha, J. (2020). Bio-fertilizer activity of *Trichoderma viride* and *Pseudomonas fluorescens* as growth and yield promoter for maize. Journal of agricultural science. 191-195.
- Ortuño N, Miranda C, Carlos M. Selección de cepas de *Trichoderma* spp generadoras de metabolitos secundarios de interés para su uso como promotor de crecimiento en plantas cultivadas. J Selva Andina Biosph 2013; 1:16-32.
- Páez, O., Bernaza, G., Acosta, M. 2006. Uso agrícola del *Trichoderma*. Instituto de Sanidad Vegetal. La Habana. Cuba. 10 págs. (En español)

- Perera, S. E. (25 de Enero de 2023). Estudio de las propiedades antagonicas y efecto bioestimulante vegetal de *Trichoderma asperellum* (Ta13-17). *Tesis Doctorado en Ciencias en Agricultura Tropical Sustentable* , pág. 80.
- Puente M., J. García, E. Rubio, y A. Peticari. 2010. Microorganismos promotores del crecimiento vegetal empleados como inoculantes en trigo. INTA EEA Rafaela, Pub. Miscelánea 116: 39-44
- Reta, S. D. J.; Carrillo, S. A.; Gaytán, M. E.; Castro, M. y Cueto, W. J. A. 2002. Guía para cultivar maíz forrajero en surcos estrechos. INIFAP-CIRNOC-CELALA. Matamoros, Coahuila. México.
- SIAP, S. (2015). Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera/ Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. *Base de Datos Estadísticos de Producción*.
- Silva, P.H.V., Souza, A.G.V., de Araujo, L.D., Frezarin, E.T., de Souza, G.V.L., da Silveira, C.M., Rigobelo. 2023. E.C. *Trichoderma harzianum* and *Bacillus subtilis* in Association with Rock Powder for the Initial Development of Maize Plants. *Agronomy*. 13, 872. <https://doi.org/10.3390/agronomy13030872>
- Wu, S., Cao, Z., Li, Z., Cheung, K, & Wong, M. (2005). Effects of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial. *Geoderma*, 155-156.



SOCIEDAD MEXICANA DE CONTROL BIOLÓGICO A. C.

OTORGA LA SIGUIENTE

CONSTANCIA



Brenda del Rosario Saldaña-Morales, Miguel Ángel Salas-Marina, Vidal Hernández-García, Luis Alfredo Rodríguez Larramendi y Claudio Ríos-Velasco.

por su participación como ponente, con el tema "EVALUACIÓN DE CONSORCIOS MICROBIANOS DE CEPAS DE *Trichoderma* spp. (HYPOCREAEAE) Y *Bacillus* spp. (BACILLALES: BACILLACEAE) EN EL CULTIVO DE MAÍZ", 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



SENASICA



TEXAS A&M



CONSEJO NACIONAL CONSULTIVO FITOSANITARIO



mex



KOPPERT
BIOLOGICAL SYSTEMS



Otorga la siguiente

La Sociedad Mexicana de Control Biológico A. C.

Constancia



A: Brenda del Rosario Saldaña-Morales, Miguel Ángel Salas-Marina, Vidal Hernández-García, Luis Alfredo Rodríguez-Larramendi, Claudio Ríos Velasco, Daniel Alonso Pérez-Corral

Por su participación como ponente del trabajo "**Caracterización de microorganismos endófitos aislados de *Chamaedorea elegans* (Arecaceae) como promotores de crecimiento vegetal**" 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 Ángel Ayala Zermeño
Coordinador del Congreso y
Carteles



bioBEST
SUSTAINABLE CROP MANAGEMENT



KOPPERT
BIOLOGICAL SYSTEMS

UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y ARTES DE CHIAPAS FACULTAD DE INGENIERÍA

otorga el presente

RECONOCIMIENTO a

C. BRENDA DEL ROSARIO SALDAÑA MORALES
MTRO. MIGUEL ÁNGEL SALAS MARINA
MTRO. VIDAL HERNÁNDEZ GARCÍA
MTRO. LUIS ALFREDO RODRÍGUEZ LARRAMENDI
MTRO. CLAUDIO RÍOS VELASCO

Por haber obtenido el primer lugar en el concurso de carteles con el tema: “Caracterización bioquímica y agronómica de microorganismos endófitos de café” 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





**GOBIERNO DE
MÉXICO**



CONAHCYT
CONSEJO NACIONAL DE HUMANIDADES
E CIENCIAS Y TECNOLOGÍAS



Centro de Investigación
en Alimentación y Desarrollo
CIAD

Cd. Cuauhtémoc, Chihuahua, 02 de octubre, 2024
Laboratorio de Patología Vegetal y Control Biológico
OF/POSC/CUAU/23/2024
ASUNTO: ESTANCIA ACADÉMICA Y DE INVESTIGACIÓN

**A QUIEN CORRESPONDA
PRESENTE.-**

Por este medio, expreso que la **C. Brenda del Rosario Saldaña Morales** con número de matrícula 63122008, CVU 1181531, egresada del Programa de Maestría en Ciencias Agroforestales, de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas (UNICACH), realizó su estancia académica 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. Saldaña-Morales, condujo experimentos relacionados con su proyecto de investigación denominado "Microorganismos endófitos de sistemas agroforestales de café como biofertilizantes potenciales", bajo la supervisión 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. 117

Correo electrónico: claudio.rios@ciad.mx

Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A. C.





CONAHCYT
CONSEJO NACIONAL DE HUMANIDADES
CIENCIAS Y TECNOLOGÍAS



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. BRENDA DEL ROSARIO SALDAÑA MORALES** con número de **CVU 1181531** beneficiada con una beca para obtener el grado de **MAESTRA** 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 envío un cordial saludo.

DR. MIGUEL ÁNGEL SALAS MARINA

Coordinador de la Maestría en Ciencias Agroforestales





CONAHCYT
CONSEJO NACIONAL DE HUMANIDADES
CIENCIAS Y TECNOLOGÍAS



Constancia de actividades de retribución social

Actividad 1_ Divulgar la ciencia y tecnología a niños y jóvenes, mediante cursos y pláticas

Descripción de la actividad: Se llevó a cabo el curso-taller "la Ciencia en los niños y las niñas, el mundo microscópico de los hongos", se realizaron actividades en laboratorio, jardín y biblioteca, el objetivo fue fomentar el interés por la ciencia en edades tempranas, además de destacar el trabajo realizado por el Laboratorio de Biofertilizantes y Bioinsecticidas de la UNICACH.

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: Dr. Miguel Ángel Salas Marina.

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

Descripción del impacto social de la actividad: Impulsar el desarrollo de vocaciones científicas desde temprana edad de los niños en el municipio de Villa Corzo, Chiapas, es fundamental proporcionarles una comprensión accesible de los procesos científicos, contribuyendo así al desarrollo educativo y social del municipio; y, a la vez, dar a conocer la labor realizada por el Laboratorio de Biofertilizantes y Bioinsecticidas de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas (UNCACH).

Brenda del Rosario Saldaña Morales

Nombre y firma de la persona becaria

1181531



CONAHCYT

CONSEJO NACIONAL DE HUMANIDADES
CIENCIAS Y TECNOLOGÍAS



Maestría en
Ciencias
Agroforestales

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
GENE VILLAGRÓN

Dr. Vidal Hernández García

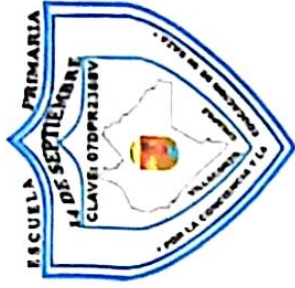
**Nombre y firma de la persona
responsable de supervisar la actividad
de retribución social en el programa
de posgrado
(Co-director interno / externo)**

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

AL ING. *Brenda del Rosario Saldaña Morales*

Por su destacada participación en el taller de Divulgación "La Ciencia en los niños y las niñas" dirigido a alumnos de primer grado de primaria.



ESTADO DE CHIAPAS
 SECRETARÍA DE EDUCACIÓN
 DIRECCIÓN GENERAL DE EDUCACIÓN PRIMARIA
 VILLACORZO, CHIAPAS

Prof. Pasqual Rizado Aguilar López
 Director Escolar

Villacorzo, Chiapas 16 de marzo de 2023

Discusiones generales

Los géneros de microorganismos identificados en este trabajo coinciden con los reportados por Alvarado (2016), que corresponden a géneros como *Trichoderma*, *Clonostachys*, *Botryosphaeria*, *Umbelopsis*, *Pestalotiopsis*, *Acremonium*, *Fusarium* y *Colletotrichum*. Así mismo, se observó que existen géneros catalogados como patógenos que tienen la capacidad de promover el crecimiento de las plantas de *A. thaliana*; además, producen sustancias promotoras del crecimiento vegetal como ácido indol-3-acético, fijación de nitrógeno y sideróforos. Estos datos concuerdan con Pariona *et al.* (2010) quienes mencionan que algunos géneros reportados como patógenos, también pueden beneficiar a las plantas al repeler, antagonizar e intervenir en el crecimiento y desarrollo de estas; además, de que pueden tener la capacidad de fijar nitrógeno, solubilizar fosfatos, producir sideróforos, así como la producción de fitohormonas que regulan el crecimiento vegetal. Aunado a ello, el uso de microorganismos del género *Trichoderma*, mejoran la absorción y optimización del nitrógeno reducido al 50%, que dio lugar a un crecimiento sano, y una mayor altura de planta en aguacate; datos que coinciden con este trabajo en la asociación de especies de *Trichoderma* spp. y *Bacillus* spp. con 50% de nutrición. Así mismo, Wu *et al.* (2005) comprobaron la efectividad de aplicar un tratamiento de consorcio microbiano (*Azotobacter chroococcum*, *Bacillus megaterium*, *B. mucilaginous* y *Glomus mosseae* o *G. intraradices*) más el 50% de fertilización, logrando incrementar la altura de planta y el peso seco en plantas de maíz (*Zea mays*) en comparación a su control absoluto. Las raíces de maíz colonizadas por consorcios de *Trichoderma* spp., necesitan menos dosis de fertilización en comparación con aquellas raíces no colonizadas, datos similares a los reportados por Harman (2006), donde evaluaron dos consorcios microbianos del género *Trichoderma* spp., con una dosis de fertilización del 100 y 60%; siendo mejor el tratamiento con el 60% de fertilización nitrogenada en raíces colonizadas por el consorcio de cepas del género *Trichoderma*; de esta manera se optimiza el uso de nutrientes y se reduce hasta un 40% la fertilización. Del mismo modo, Páez *et al.* (2006), indican que la inoculación con *Trichoderma* spp., redujo la tasa de nitrógeno requerida por las plantas de maíz y, en consecuencia, el costo de lograr una mejora ambiental apreciable.

Conclusiones generales

Los sistemas agroforestales de café, son fuente potencial de una gran diversidad de microorganismos endófitos que se encuentran colonizando el tejido vegetal de las plantas, brindándoles beneficios de forma directa e indirecta, mediante la producción de fitohormonas vegetales que promueven el crecimiento; así como, la solubilización de fosfatos, la producción de sideróforos y mecanismos de acción contra patógenos como antagonismo, micoparasitismo y antibiosis, lo que induce en el sistema de defensa de las plantas. Se encontró una gran diversidad de géneros microbianos endófitos, entre ellos, algunos géneros que se han reportado como patógenos, su presencia se evidenció sin causar daños aparentes a su hospedero. Los microorganismos endófitos del género *Trichoderma* y *Bacillus* aislados de sistemas agroforestales de café pueden ser utilizados como biofertilizantes para mejorar y mantener el rendimiento del cultivo de maíz; además, de que intervienen paulatinamente en la restauración de suelos agrícolas degradados; así mismo, inhiben el crecimiento de organismos fitopatógenos convirtiéndose en una alternativa amigable con el medio ambiente.

Bibliografía

- Afzal, I., Shinwari, Z.K., Sikandar, S., Shahzad, S. (2019). Bacterias endófitas beneficiosas para las plantas: mecanismos, diversidad, rango de huéspedes y determinantes genéticos. *Microbiol. Res.*, 221, 36-49.
- Alvarado, R. D. (2016). Aislamiento y caracterización molecular de microorganismos endofíticos, asociados a *Valeriana* sp. y *Gentianella weberbaueri* Gil y su uso como promotores del crecimiento vegetal. Universidad Nacional Santiago Antúnez de Mayolo. Huaraz-Ancash-Perú.
- Ahemad, M. (2012). Implications of bacterial resistance against heavy metals in bioremediation. *A review. IIOABJ*, 3:39-46.
- Altieri, M. (1993). Agroecology: The Scientific Basis of Alternative Agriculture. *Divn. Biol. Control, Univ. Calif.*, Berkeley, CA.
- Begoude, B. A. D., Slippers, B., Wingfield, M. J. & Roux, J. (2011). The pathogenic potential of endophytic Botryosphaeriaceous fungi on *Terminalia* species in Cameroon. *Forest pathology*, 41 (4), 281-292.
- Bellenger, J. P., Darnajoux, R., Zhang, X. y Kraepiel, A. M. L. (2020). Biological nitrogen fixation by alternative nitrogenases in terrestrial ecosystems: a review. *Biogeochemistry*, 149 (1) 53-73.

- Blesh, J.M. y Barrett, G.W. (2006). Farmers' attitudes regarding agrolandscape ecology: A regional comparison. *Journal of Sustainable Agriculture*, 121-143.
- Capellesso, A.J. y Cazella, A.A. (2013). Indicador de sustentabilidade dos agroecossistemas: estudo de caso em áreas de cultivo de milho. *Ciência Rural*, 2297-2303.
- Capellesso, A.J., Cazella, A.A., Schmitt filho, A.L., Farley, J. y Martins, D.A. (2016). Economic and environmental impacts of production intensification in agriculture: comparing transgenic, conventional, and agroecological maize crops. *Agroecology and Sustainable Food Systems*, 215-236.
- Carrol, C.R.J., Vandermeer, H. and Rosset, P.M. (1990). *Agroecology*. McGrawhill, New York, Eds.
- Chaney, R. (1983). Potential effects of waste constituents on the food chain. In: *Land Treatment of Hazardous Wastes*. Noyes Data Corp, Park Ridge, 152-240.
- Cuadras, B.A.A., Peinado, G.V.M., Peinado, G.H.J., López, L.J.J., Barrientos, J.H. (2021). Agricultura intensiva y calidad de suelos: retos para el desarrollo sustentable en Sinaloa. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 1401-14.
- Del Puerto-Rodríguez, A.M., Suárez-Tamayo, S., y Palacio-Estrada, D.E. (2014). Efectos de los plaguicidas sobre el ambiente y la salud. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*, 372-387.
- Delaye, L., García-Guzmán, G. & Heil, M. (2013). Endophytes versus biotrophic and necrotrophic pathogens-are fungal lifestyles evolutionarily stable traits. *Fungal Diversity*, 60 (1) 125-135.
- Gakuubi, M.M., Munusamy, M., Liang, Z.-X. y Ng, S.B. (2021). Endófitos fúngicos: una frontera prometedora para el descubrimiento de nuevos compuestos bioactivos. *Fungi*, 7, 786.
- García, C., Hernández, T., Costa, F. y Ceccanti, B. (1994). Biochemical parameters in soils regenerated by addition of organic wastes. *Waste Manage. Res*, 457-466.
- Gimeno, M. (1996). An overview of the latest development of microencapsulation for agricultural products. *J. Environ. Sci. Health. Part B. . Pesticides, Food Contaminants and Agricultural Wastes*, 407-420.
- Goldstein, A., Lester, T. & Brown, J. (2003). Research on the metabolic engineering of the direct oxidation pathway for extraction of phosphate from ore has generated preliminary evidence for PQQ biosynthesis in *Escherichia coli* as well as a possible role for the highly conserved region of . *quinoprotein dehydrogenases*. *Biochimica et Biophysica Acta Proteins and Proteomics*, 266-271.
- Golinska, P., Wypij, M., Agarkar, G., Rathod, D., Dahm, H. y Rai, M. (2015). Actinobacterias endófitas de plantas medicinales: diversidad y bioactividad. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 108, 267-289.
- Grabka, R., d'Entremont, T.W., Adams, S.J., Walker, A.K., Tanney, J.B., Abbasi, P.A. y Ali, S. (2022). Endófitos fúngicos y su papel en la protección de plantas agrícolas contra plagas y patógenos. *Plants*, 11, 384.

- Harman, G. 2006. Descripción general de los mecanismos y usos de *Trichoderma* spp. – Fitopatología, 96(2):190– 2018.01.05 MoALD. 2018. Información estadística sobre la agricultura de Nepal 2074/75 (2017/18). – Gobierno de Nepal, Ministerio de Desarrollo Agrícola y Ganadero, Singha Durbar, Katmandú, Nepal. 194. DOI: 10.1094/PHYTO-96-0190.
- Hewitt, T.I., y Katherine, R.S. (1995). Intensive agriculture and environmental quality: examining the newest agricultural myth Greenbelt. M.D. Henry and A.Wallace. *Institute for Alternative Agriculture Institute Rodale*.
- Jha, C.K., Patel, B., y Saraf, M. (28, 891-899). Estimulación del crecimiento de *Jatropha curcas* por la bacteria promotora del crecimiento de plantas *Enterobacter cancerogenus* MSA2. *Mundo J. Microbiol. Biotecnología.*, 2012.
- Jurburg, D.S., Shek, K.L. y McGuire, K. (2020). La composición microbiana del suelo varía en respuesta al manejo del agroecosistema cafetero. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 96, 164.
- Kavitha, V.y Chandran, K. (2017). Organic farming in conserving biodiversity in india-a review. *Agricultural reviews*, 316-320.
- Kobayashi, D. Y., Reedy, R. M., Bick, J. & Oudemans, P. V. . (2002). Characterization of a chitinase gene from *Stenotrophomonas maltophilia* strain 34S1 and its involvement in biological control. *Applied and Environmental Microbiology*, 1047-1054.
- Kusari, S., Hertweck, C., Spiteller, M. (2012). Chemical ecology of endophytic fungi: Origins of secondary metabolites. *Chem. & Biol*, 792-798.
- Li, J. H., Wang, E. T., Chen, W. F. y Chen, W. X. (2008). Genetic diversity and potential promotion of plant growth detected in nodule endophytic bacteria of soybean grown in Heilongjiang province of China. *Soil Biology and Biochemistry*, 238-246.
- Márquez, S. S., Bills, G. F., Herrero, N. & Zabalgoeazcoa, I. (2012). Non-systemic fungal endophytes of grasses. *Fungal ecology*, 5 (3), 289-297.
- Mishra, V.K., Passari, A.K., León, V.V., y Singh, B.P. (2017). Diversidad molecular y detección de hongos endófitos basados en sus genes biosintéticos antimicrobianos. *n Biología Fúngica; Singh, Springer*, 1-35.
- Muleta, D., Assefa, F., Börjesson, E. y Granhall, U. (2013). Rhizobacterias solubilizantes de fosfato asociadas con *Coffea arabica* L. en bosques naturales de café del suroeste de Etiopía. *J. Saudi Soc. Agric.*, 12, 73-84.
- Páez, O., Bernaza, G., Acosta, M. 2006. Uso agrícola del *Trichoderma*. Instituto de Sanidad Vegetal. LaHabana. Cuba. 10 págs. (En español)
- Pariona-Llanos R., Santi Ferrara F. I., Soto Gonzales H. H., Ramos Barbosa H., (2010). Influence of organic fertilization on the number of culturable diazotrophic endophytic bacteria isolated from sugarcane. *European Journal of Soil Biology*. 46:387-393.
- Paredes-Mendoza, M. y Espinosa-Victoria, D. (2010). Ácidos orgánicos producidos por rizobacterias que solubilizan fosfato: una revisión crítica. *Terra Latinoamericana*, 28 (1) 61-70.

- Pascual, J.A. (1995). Efectividad de los residuos orgánicos urbanos en la mejora de la calidad de suelos ácidos: aspectos biológicos y bioquímicos. *Tesis Doctoral.* , Universidad de Murcia.
- Pitiwittayakul, N. y Tanasupawat, S. (2020). Plant Growth Promoting endophytic Bacteria and their potential benefits in Asian countries. En: Beneficial Microbes for Sustainable Agriculture and Environmental Management. *Apple Academic Press*, 81-114.
- Pratiwi, E.R., Ardyati, T., Suharjono, S. (2020). Bacterias endófitas promotoras del crecimiento vegetal de *Coffea canephora* y *Coffea arabica* L. en el bosque de la UB. *J. Exp. Vida Sci.*, 10, 119-126.
- Puri, A., Padda, K. P. y Chanway, C. P. (2017). Plant growth promotion by endophytic bacteria in nonnative crop hosts. En: Maheshwari, D. & Annapurna K. (eds.) Endophytes: crop productivity and protection. *Sustainable Development and Biodiversity, vol 16. Springer.*
- Ramos-Garza, J., Rodríguez-Tovar, A. V., Flores-Cotera, L. B., Rivera-Orduña, F. N., Vásquez-Murrieta, M. S., Ponce-Mendoza, A. y Wang, E. T. . (2016). Diversity of fungal endophytes from the medicinal plant *Dendropanax arboreus* in a protected area of Mexico. . *Annals of Microbiology*, 66, 991-1002.
- Restrepo-Correa, S. P., Pineda-Meneses, E. C. y Ríos-Ororio, L. A. (2017). Mecanismos de acción de hongos y bacterias empleados como biofertilizantes en suelos agrícolas: una revisión sistemática. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria* , 335-351.
- Sánchez-Fernández, R. E., Sánchez-Ortiz, B. L., Sandoval Espinosa, Y. K. M., Ulloa-Benítez, A., Armendáriz-Guillén B., García-Méndez, M. C. & Macías-Rubalcava, M. L. . (2013). Hongos endófitos, fuente potencial de metabolitos secundarios bioactivos con utilidad en agricultura y medicina. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 16 (2), 132-146.
- Schouten, A. (2019). Endophyte biotechnology: potential for agriculture and pharmacology. *CABI, UK.*
- Schulz, B., Römmert, A. K., Dammann, U., Aust, H. J. & Strack, D. (1999). The endophyte-host interaction: a balanced antagonism. *Mycological Research*, 103 (10), 1275-1283.
- Silva, E.M., Vieira, E.T., Tashima, L.D. y Guilherme, D.D. (2017). A sustainability rereading of agrarian production systems. *Interações*, 18 (4), 43-54.
- Soumare, A., Diedhiou, A. G., Thuita, M., Hafidi, M., Ouhdouch, Y., Gopalakrishnan, S. y Kouisni, L. (2020). Exploiting biological nitrogen fixation: a route towards a sustainable agriculture. *Plants*, 9 (8), 1011.
- Swarnalakshmi, K., Senthilkumar, M. y Ramakrishnan, B. . (2016). Endophytic actinobacteria: nitrogen fixation, phytohormone production, and antibiosis. En: Subramaniam G., Arumugam S., Rajendran V. *Plant growth promoting actinobacteria. Springer.*
- Teshome, B., Wassie, M., Abatneh, E. (2017). Aislamiento, cribado y caracterización bioquímica de rizobacterias solubilizantes de fosfato asociadas a *Coffea arabica* L. *J. Fertil. Péstico.*, 8, 188.

- Vasquez, P. y Vignolles, M. (2015). Establecimiento agroproductivo ecologico vs. agricultura convencional: Partido de Tandil, Provincia de Buenos Aires. *Sociedade & Natureza*, 27 (2), 267-280.
- Verma, S.K., Sahu, P.K., Kumar, K., Pal, G., Gond, S.K., Kharwar, R.N. y White, J.F. (2021). Roles endófitos en la adquisición de nutrientes, el desarrollo de la arquitectura del sistema radicular y la tolerancia al estrés oxidativo. *J. Appl. Microbiol.*, 2161-2177.
- Wan, J. H. C. y Wong, M. H. . (2004). Effects of earthworm activity and P-solubilizing bacteria on P availability in soil. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 167, 209-213.
- Ward, D. A. (2006). Microbiological perspective on microbial species. *Microbes*, 269-278.
- Wu, S. C., Cao, Z. H., Li, Z. G., Cheung, K. C., Wong, M.H. . (2005). Effects of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial. *. Geoderma*, 125: 155-166.