

# Los hongos endófitos y sus aplicaciones potenciales en la agricultura



<https://eqrcode.co/a/BoiMuO>

## The endophytic fungi and their potential uses in agriculture.

Belkis Peteira Delgado\*, Jersys Arévalo Ortega, Danay Ynfante Martínez, Benedicto Martínez Coca

Departamento de Fitopatología, Dirección Sanidad Vegetal, Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA). Carretera de Jamaica y Autopista Nacional. Apartado 10. San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba.

**RESUMEN:** El objetivo del presente trabajo fue la revisión de diferentes aspectos relacionados con los endófitos de origen fúngico, con énfasis en sus funciones (en especial las relacionadas con la protección vegetal). Se detallan el concepto general de endófito, su clasificación, los procedimientos generales para su aislamiento, caracterización y conservación. Se nombran y explican algunas de sus funciones más importantes y se describen ejemplos de sus funciones en la protección de las plantas, así como de casos de la aplicación mixta con otros endófitos o con otros controles biológicos con función de depredador o parasitoide y riesgos de su aplicación.

**Palabras clave:** aislamiento de hongos, colonización endofítica, inoculaciones mixtas, manejo integrado de plagas, protección vegetal.

**ABSTRACT:** The objective of this work was to review different issues related to endophytes of fungal origin, with emphasis on their functions (especially those related to plant protection). In this paper, the general concept of endophyte, its classification, general procedures for its isolation, characterization and conservation are detailed. Some of its most important functions are mentioned and explained, and examples of its functions in plant protection including the risk of their application, are described, and so are the cases of mixed application with other endophytes or with other biological controls with predator or parasitoid function.

**Key words:** fungi isolation, endophytic colonization, integrated pest management mixed inoculation, plant protection.

## INTRODUCCIÓN

Las plantas se encuentran en continuo contacto con otros organismos. Bajo condiciones naturales, ellas interactúan, además, con un gran número de organismos nocivos, los que son, potencialmente, una de las causas de las pérdidas en los rendimientos en las plantas cultivadas (1).

Hasta la fecha, una parte importante de la protección de cultivos se enfoca en los productos de síntesis química (plaguicidas). La aplicación de estos productos trae consigo daños ambientales, elevados costos económicos y efectos adversos en la salud del ecosistema, en general. Aunque se hacen grandes esfuerzos en la búsqueda de alternativas menos agresivas para el ambiente, las soluciones hasta ahora planteadas en algunos casos resultan ser controversiales. Sin embargo, puede que la respuesta se haya estado gestando por siglos de forma natural, a partir de las interacciones entre organismos, tal es el caso de los hongos endófitos (HE).

El uso estratégico de organismos naturales para controlar poblaciones de plagas e incrementar la producción de los principales cultivos representa una op-

ción viable para aumentar la resistencia de las plantas hospedantes y el control de plagas, en comparación con el método basado en el uso de plaguicidas sintéticos (2).

Los endófitos se definen como microorganismos (hongos, bacterias) que colonizan los tejidos internos vivos de las plantas sin causar efecto negativo inmediato (3). En los últimos años se describieron nuevas funciones de los HE en la naturaleza más allá de la regulación de poblaciones de artrópodos, en particular las relacionadas con sus sorprendentes asociaciones con las plantas, de las que emanan nuevas estrategias, no solo para la protección de cultivos, sino incluso para la producción vegetal (4). Actualmente, una parte sustancial de la investigación sobre microorganismos endófitos se centra en los métodos de aislamiento, la biodiversidad, los metabolitos secundarios y, especialmente, los mecanismos de interacción entre el endófito y el hospedante (3).

El objetivo del presente trabajo fue la revisión de diferentes aspectos relacionados con los endófitos de origen fúngico, con énfasis en sus funciones (en especial las relacionadas con la protección vegetal), su aislamiento, caracterización y riesgos de su aplicación.

\*Autor para correspondencia: *Belkis Peteira Delgado*. E-mail: [bpeteira@censa.edu.cu](mailto:bpeteira@censa.edu.cu)

Recibido: 09/09/2021

Aceptado: 22/10/2021

## PARTE PRINCIPAL

Numerosos autores coinciden en que el término endófito se introdujo originalmente por De Bary en 1866 (5, 6,7). Este autor, en su concepto de endófito, se refiere a "cualquier organismo que se encuentre dentro de los tejidos vegetales, distinto de las epífitas que viven en la superficie de las plantas". Esta definición se revisó posteriormente y se especificaron diferentes aspectos. Carroll en 1986 definió a los endófitos como mutualistas que colonizan partes aéreas de tejidos vegetales vivos y no causan síntomas de enfermedad, de los cuales se excluyen los hongos patógenos y micorrízicos (8).

En 1991, Petrini propuso incluir a todos los organismos que habitan los órganos de las plantas que, en algún momento de su vida, pueden colonizar los tejidos internos de las plantas sin causar un daño aparente al hospedante. De ahí que, los patógenos latentes que viven sin síntomas dentro de los tejidos de la planta y que tienen una fase epífita en su ciclo de vida, también son endófitos (8).

Según Azevedo y Araujo (9), "las micorrizas son endófitas, pero de un tipo especial que produce estructuras externas a partir de las plantas hospedantes. Los microorganismos endofíticos se pueden dividir en dos grupos: los que no generan estructuras externas del hospedador (grupo I) y los que son capaces de desarrollar estructuras externas (grupo II), como los nódulos de bacterias fijadoras de N<sub>2</sub> y hongos micorrízicos". No obstante, de forma general los estudios que tratan del tema refieren a la definición dada por Petrini, al parecer, como la más aceptada (3,5,6,7,8,10).

En este artículo se hará referencia a los hongos endofíticos (HE). Dentro del concepto de HE también se apunta su naturaleza como simbioses y mutualistas omnipresentes (10,11). Están presentes en todas las especies de plantas examinadas y se estima que hay alrededor de un millón de hongos endofíticos (7). Los microorganismos endofíticos pueden o no crecer en medios de cultivo, es decir, pueden o no cultivarse (9).

### Diversidad y Clasificación

Según Saucedo-García *et al.* (12), el conocimiento de la diversidad de los HE se relaciona con las técnicas microbiológicas utilizadas para su detección. Estos autores plantearon que los procedimientos basados en técnicas de cultivo tradicionales (desinfección del tejido vegetal y siembra en placas Petri, contentivas en medios de cultivo), no incluyen, por ejemplo, a los biotrofos obligados y a especies que solo forman micelios estériles, lo cual imposibilita su identificación taxonómica. La aplicación de técnicas moleculares hace más factible una identificación más real de la diversidad existente, así como de aspectos relacionados con su ubicación en los tejidos del hospedante y su fluctuación. Esta aproximación ha brindado nuevos elementos en diferentes estudios.

Dreyfuss y Chapela, citados por Kumar y Hyde (13), estimaron que los HE de las 270 000 especies de plantas que existen en este planeta, podrían representar 1,38×10<sup>6</sup> especies fúngicas únicas. La enormidad de esta estimación se debe al hecho de que, de todas las especies de plantas examinadas hasta la fecha, se han detectado endófitos y, por otro lado, que la composición y la frecuencia de especies endofíticas dependían del tipo de tejido, lo que sugiere que puedan encontrarse más de una especie endofítica en un órgano vegetal (13).

Estudios llevados a cabo por Macaya-Sanz *et al.* en 2017 (14), mediante técnicas metagenómicas, apuntaron a que los hongos endófitos desempeñan diferentes funciones en las especies forestales. Sus resultados evidenciaron que la composición de la flora endofítica varió considerablemente entre distintos hospedantes de la misma especie (*Ulmus minor* Mill.). Esta variación tuvo cierta relación con la tolerancia del árbol a la enfermedad de la grafiosis. A su vez, plantearon que la composición endofítica en eucalipto varió con el tiempo durante el proceso de degradación de la madera. Esta variación parece guardar una estrecha relación con la capacidad de las diferentes cepas para degradar los componentes de la madera, y para soportar los metabolitos potencialmente fungitóxicos presentes en ella. Este comportamiento evidencia que los HE no solo tienen funciones ecológicas relevantes cuando habitan en la planta viva, sino que una vez que esta o alguno de sus órganos muere, diferentes taxones de endófitos actúan de manera secuencial, y posiblemente complementaria, en la descomposición de los principales componentes de la madera. También observaron que los genotipos de olmos más susceptibles presentaron una menor riqueza de endófitos que los genotipos de tolerancia intermedia o alta.

Saucedo-García *et al.* (12) estudiaron la presencia y diversidad de HE en diferentes sistemas agroforestales del café. Aunque no se encontró un patrón consistente de similitud comunitaria entre los diferentes sistemas agroforestales del cultivo, observaron que las plantaciones rústicas compartieron el mayor número de morfoespecies. Finalmente, sugirieron que la abundancia, riqueza, diversidad y comunidades de endófitos pudieron estar influenciadas, predominantemente, por la región cafetalera y, en menor medida, por el sistema agroforestal.

Por su parte, Wilberforcea *et al.* (15), en sus investigaciones, eligieron tres sitios de pastizales de características físicas similares, pero con historiales de manejo diferentes. Estos autores concluyeron que las comunidades diferían en campos de manejo contrastante. La presencia y la ausencia de especies pareció afectarse estacionalmente; las diferencias en los sitios se manifestaron en abundancia relativa. Las comunidades presentes en los sitios fueron separables, en función de la identidad y abundancia de taxones existentes en los sistemas de raíces de los pastizales, especialmente

al final del verano y principios del otoño. Si bien la causa pudo ser más difícil de probar, se demostró de manera concluyente que el contenido de Nitrógeno del suelo puede ser un mecanismo por el cual el manejo afecta a los hongos colonizadores de raíces.

Finalmente, los endófitos aislados del mismo hospedante pueden variar, dependiendo de la región en que este se encuentre (temperatura, elevación, precipitación, humedad relativa, entre otros), el tipo de vegetación, el tipo del tejido vegetal de donde se tome la muestra (hojas, raquis, venas, tallos, raíces) y su edad (Arnold *et al* citados por Gómez (16).

Por lo tanto, es de suponer que, ante tanta diversidad, se imponga una clasificación no menos compleja. De forma más simplificada y resumida, se reconocen dos grupos principales de HE: los endofíticos clavicipitaceos (comúnmente conocidos también como C - endófitos) y los no clavicipitaceos (NC - endófitos). Tomando como base los artículos de Rodríguez *et al.* (17), Ruby Erach *et al.* (18) y Sánchez Fernández *et al.* (19), las características más importantes de cada clase pudieran enunciarse como sigue a continuación:

1. Los endófitos clavicipitaceos (clase I) representan un pequeño número de especies relacionadas filogenéticamente y se limitan a algunos pastos de estación fría y cálida, con una gama reducida de hospedantes. Su transmisión es principalmente vertical, o sea, las plantas maternas transmiten hongos a la descendencia a través de infecciones de semillas. Los beneficios conferidos por estos hongos parecen depender de la especie del hospedante, el genotipo del mismo y las condiciones ambientales. Estos endófitos son miembros del grupo de los clavicipitaceos, ubicados en el Reino Fungi, División Ascomycota, Clase Sordariomycetes, Orden Hypocreales, Familia Clavicipitaceae. Géneros: entre los teleomorfos: *Epichlōe* spp., *Balancia* sp., *Claviceps* spp., *Cordyceps* spp, entre otros, y los anamorfos *Metarhizium* spp., *Beauveria* spp., *Pochonia chlamydosporia*, *Neotyphodium* spp. y otros.
2. Los endófitos no clavicipitaceos (clase II), por su parte, se distribuyen en tres clases según sus patrones de colonización del hospedante, mecanismo de transmisión, biodiversidad y función biológica. Pertenecen a un amplio grupo de hongos conocidos como anamorfos, conidiales o imperfectos, los cuales son poco definidos taxonómicamente debido a que se desconoce su reproducción sexual. Los géneros representativos son *Alternaria*, *Arthrotrichum*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Colletotrichum*, *Coprinellus*, *Curvularia*, *Fusarium*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Phanerochaete* y *Phoma*, entre otros.
  - a. Clase II: La diversidad de estos endófitos en plantas hospedantes individuales es bastante limitada. Pueden crecer en los tejidos, tanto superficial como internamente. Comprende una di-

versidad de especies, todas las cuales son miembros de las divisiones Ascomycota o Basidiomycota. Tienen la capacidad de conferir tolerancia al estrés específico del hábitat a las plantas hospedantes. Su transmisión es vertical y horizontal.

- b. Clase III: se distinguen sobre la base de su aparición y transmisión horizontal. Esto incluye plantas vasculares, no vasculares, angiospermas leñosas y herbáceas en bosques tropicales y comunidades antárticas. Son especialmente conocidos por su gran diversidad dentro de los tejidos, plantas y poblaciones individuales del hospedante y están restringidos a tejidos por encima del suelo. Su transmisión es horizontal.
- c. Clase IV: se caracterizan por poseer tabiques y formar estructuras melanizadas como hifas inter e intracelulares y microesclerocios en las raíces. La diversidad en esta clase no está suficientemente evaluada. Generalmente son hongos ascomicetos. Esta clase de endófitos se encuentra en plantas hospedadoras de los ecosistemas antártico, ártico, alpino, subalpino, templado y tropical. También son capaces de una colonización extensa de los tejidos. Su transmisión es horizontal.

Estos aspectos pueden ser analizados en algunos artículos de revisión que a los autores de este trabajo les gustaría recomendar, debido a la profundidad con que abordan el tema. Entre ellos se encuentran los artículos presentados por: Rodríguez *et al.* (17) y Sánchez Fernández *et al.* (19). En el primero de los artículos mencionados, se resumen en una tabla las principales características de las diferentes clases de HE, sobre la base de criterios simbióticos como son la gama de hospedantes, el tejido colonizado, la colonización y biodiversidad en la planta, la transmisión y los beneficios. También se exponen en cada una de las clases aspectos de gran interés como los orígenes evolutivos, el impacto en el hospedante, el efecto en la resistencia/susceptibilidad de las plantas, los costos de la simbiosis y la función en la ecofisiología vegetal. En el segundo, además de tratar aspectos de la clasificación, se enfatiza en el uso potencial de metabolitos secundarios en la agricultura y la medicina.

### **Transmisión, especificidad y factores que influyen en la colonización**

Los endófitos fúngicos pueden presentar diferencias en los patrones de colonización y forma de transmisión a sus hospedantes. Generalmente, las especies que colonizan pastos son endófitos sistémicos, y suelen encontrarse también en las semillas, por lo que son transmitidos de modo vertical. Es común que los endófitos no sistémicos, de crecimiento inter e intracelular, sean transmitidos de una planta a otra, de modo

horizontal (16), a través de la dispersión de las esporas por polinizadores, fitófagos, viento, agua.

Las comunidades de HE pueden ser divididas, a su vez, en dos grupos principales: específicas (presentes en baja abundancia en un hospedero determinado) y de amplio espectro (encontrados en alta abundancia en diferentes especies vegetales). Los estudios mostraron que las plantas tropicales albergan gran diversidad de hongos de distribución específica (16).

La especificidad de los endófitos puede alcanzar hasta el nivel de un tejido particular del hospedante. Por ejemplo, especies de *Neotyphodium coenophialum* (Morgan-Jones & W. Gams) Glenn, C.W. Bacon & Hanlin tienen como único hospedero a *Festuca arundinacea* (Schreb.) Čelak., mientras que, su estado sexual *Epichloë festucae* Leuchtm., Scharndl y MR Siegel, tiende a colonizar *Lolium perenne* L. y a contadas especies del género *Festuca* (20,21).

En estudios se detectó un alto grado de especificidad por órganos o partes particulares de las plantas como raíz, hoja, corteza (22). Sin embargo, en orquídeas epífitas y plantas leñosas no se encontraron evidencias de especificidad (23). Según Suryanarayanan *et al.* (24), esta variación indica que los endófitos con una amplia gama de hospederos desarrollaron, a través del tiempo, diversos tipos de adaptaciones para contrarrestar los mecanismos de defensa de sus hospederos.

Los principales factores que pueden regular la colonización microbiana incluyen el genotipo de la planta, la etapa de crecimiento, el estado fisiológico, el tipo de tejidos vegetales, la competencia microbiana, algunas condiciones ambientales del suelo, así como algunas prácticas agrícolas (25).

Otro aspecto interesante es la combinación de factores como la dosis y el método de aplicación o inoculación. Tales factores son muy importantes al seleccionar la cepa fúngica, ya que determinarán no solo el porcentaje de colonización en la planta, sino también la capacidad de persistir en el ambiente durante un período de tiempo deseable, sin que produzca un efecto perjudicial para la salud o el medio ambiente (26).

Algunos estudios mostraron que el grado de colonización de los diferentes tejidos y órganos de la planta y su persistencia en el tiempo varían según el cultivo y la cepa de HE, pudiendo existir únicamente una colonización transitoria o llegar a transmitirse verticalmente y encontrarse en la semilla (27).

Wheatley *et al.* (28) plantearon que, debido a que la colonización de los ovarios por el endófito se produce durante la diferenciación floral, un estrés en este estadio podría afectar tanto la fecundidad de las plantas como la proporción de semillas simbióticas. También podría modificar la longevidad y su efecto en las semillas. Recientemente, se ha sugerido que el nivel de las especies reactivas de oxígeno tiene una función importante en la regulación de la interacción simbiótica pastos-endófito (29). Se plantea que una mayor carga de antioxidantes en las plantas simbióticas podría ser

el mecanismo responsable de esta regulación y de la mayor tolerancia al estrés abiótico (30).

El aumento de la concentración de ozono en la tropósfera afecta la persistencia de la simbiosis pasto-endófito, con los efectos más críticos en la etapa reproductiva de la planta. Se observó que la simbiosis con endófitos afectó negativamente la longevidad de las semillas, y la mayor tasa de pérdida de viabilidad del endófito con relación a las semillas (31).

En otra investigación se examinó la influencia de la edad de las plántulas en el éxito de la colonización endofítica de tres cepas de *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuill (BB Fafu-12, BB Fafu-13 y BB Fafu-16) y una cepa de *Metarhizium anisopliae* (Metschn.) Sorokin (MA Fafu-1) en plantas de *Citrus limon* (L.) Osbeck. El porcentaje más alto de recuperación de hongos endofíticos se registró en las plántulas de tres meses de edad, respecto a las de cuatro y seis meses, donde los micelios fúngicos inoculados se reaislaron con éxito en el 65,6 % de los tejidos de hojas y tallos recién desarrollados sin tratar (26).

Se han utilizado varios métodos y protocolos experimentales para inocular artificialmente HE en plantas de cultivo. Estos métodos pueden ser: rociar hojas con suspensión de conidios, remojar semillas en suspensión de conidios, inyectar inóculo de hongos (conidios y/micelio) en los tallos, (d) sumergir las raíces de las plántulas en suspensión de conidios, y (e) empapar el suelo con suspensión de conidios. En una revisión del tema realizada por Spiridon y Eliopolus en el año 2020 (32), se analizaron las ventajas y desventajas de cada uno de estos métodos y se presentaron los resultados más exitosos.

## Aislamiento

En el análisis de la diversidad de endófitos, las técnicas tradicionales, como los métodos dependientes del cultivo, se utilizaron de forma rutinaria en los estudios iniciales. No obstante, actualmente se conoce que estas metodologías limitaron nuevos descubrimientos debido a que algunos hongos no son cultivables. Las técnicas moleculares, como los métodos de secuenciación y huellas de ADN, se utilizan con éxito en la detección e identificación de HE. Sin embargo, las técnicas tradicionales siguen aplicándose, no solo como una primera aproximación, sino para la aplicación práctica de estos.

Dentro de las técnicas básicas o tradicionales se reconocen, de forma general, la observación directa y los métodos dependientes del cultivo. La primera se basa en la observación bajo microscopio óptico o electrónico de preparaciones de los tejidos de las muestras supuestamente colonizadas por HE. Según Ramesh Maheshwari (33), el requisito mínimo antes de que un hongo se denomine "endófito" debería ser la demostración de sus hifas en el tejido vivo. Este autor cita los trabajos de Sathe y Raghukumar, quienes

utilizaron una técnica de blanqueamiento y tinción para demostrar hifas intracelulares en pastos marinos y esta técnica puede ser de aplicación general. En este caso solo se observan estructuras hifales, por lo que no es posible su uso con fines taxonómicos, para lo cual se requiere la observación de esporas (8). Los endófitos facultativos ofrecerían el mayor problema. Pueden ser oportunistas y se vuelven biotróficos bajo ciertas condiciones ambientales. Ambos tipos son desafiantes debido a sus interacciones con la planta, las modificaciones del crecimiento de la planta, sus capacidades biosintéticas e implicaciones evolutivas (33).

Por estas razones, se utilizan más los métodos dependientes de la siembra en medios de cultivo sintéticos, especialmente para estudios de diversidad y con pretensiones de aislamiento para la realización de otros estudios de caracterización cultural, morfofisiológica, molecular, patogénica (si se trata de ACB), dinámica de poblaciones, o como inóculos para su aplicación directa o para la detección de nuevos metabolitos secundarios biológicamente activos, útiles en la salud humana, animal o vegetal.

De forma general, en los métodos que implican la siembra en medios de cultivo, los tejidos de las plantas se someten a un paso de desinfección de las superficies. Este paso consta de varias fases (6,8,33,34,35) que incluyen:

1. El lavado cuidadoso con agua corriente, para eliminar partículas de suelo, restos vegetales y otros epífitos.
2. La desinfección con soluciones para eliminar a otros microorganismos presentes en la superficie del hospedante. El tiempo y tipo de desinfectantes requeridos para eliminar los microorganismos de la superficie vegetal depende, en gran parte, de la especie y tejido de la planta. Algunas de las soluciones utilizadas para la desinfección son el cloruro de mercurio (0,1 % p/v), diferentes concentraciones de etanol (70 %, 90 %) durante unos pocos segundos a minutos (30 segundos a 1 min) e hipoclorito de sodio (1- 4 %) durante 2-3 minutos, dependiendo del tipo de material vegetal. Finalmente, se realizan varios lavados con agua destilada estéril.
3. Siembra de fragmentos miceliares crecidos a partir de los tejidos anteriormente desinfectados, en placas contentivas con medio agar nutritivo, PDA estándar (agar papa dextrosa), MEA (agar extracto de malta), YEA (agar extracto de levadura), así como medios mínimos con tejido o extracto vegetal, o en algunos casos medios semiselectivos. En ocasiones se añaden al medio algunos antibióticos para las bacterias (100 µg/ml de estreptomycin, ampicilina, tetraciclina o cloranfenicol). Se recomienda que el medio de cultivo debe contener fuentes de carbono y de nitrógeno, así como que el pH sea ligeramente ácido, para mejorar el crecimiento del hongo e inhibir el desarrollo de microorganismos oportunistas

(bacterias) y una temperatura de incubación de 25-30°C (33).

4. Obtención de colonias puras de los aislados endófitos, a partir de cultivos monospóricos.
5. Identificación de los HE según las características morfológicas de los cultivos descritas para cada género en las claves taxonómicas y su confirmación por otras técnicas, por ejemplo, moleculares,

En la práctica, se puede suponer que los aislamientos son endófitos cuando se confirma la esterilización total de la superficie, es decir, no hay crecimiento de hongos al imprimir los tejidos vegetales esterilizados, o alícuotas de cultivo del agua del último enjuague, en la superficie de los medios nutritivos (8,33).

Una vez obtenidos los cultivos puros se debe proceder a la conservación, la cual puede efectuarse a través de la criopreservación, congelación, liofilización y ultracongelación; asimismo, mediante la inoculación de suspensión de esporas de los aislados en viales con arena, esferas de alginato, silicagel o suelo desecado, o cultivos en cuñas de agar (tubos de ensayo y/o eppendorf), en aceite de parafina, tejidos del hospedante secos, glicerol (25 %) y agua destilada estéril (36).

Es importante tener en cuenta que la variación en el ambiente de crecimiento puede tener impactos significativos en la cantidad y diversidad de metabolitos secundarios de hongos. En el entorno industrial, la optimización de las condiciones de cultivo puede conducir a un aumento significativo de la producción de un compuesto de interés. Dicha optimización se convierte en un desafío en una situación de detección de descubrimiento de fármacos, ya que las condiciones ideales para un organismo pueden inducir una diversidad metabólica deficiente para un organismo diferente (37).

### Caracterización

Tradicionalmente, la taxonomía de los hongos se basa en el análisis de los caracteres morfológicos de las estructuras de reproducción. Sin embargo, para una alta proporción de HE resulta difícil su identificación mediante tales criterios, debido a que muchos de los aislados en el laboratorio permanecen en forma micelial, sin esporular en los medios de cultivos utilizados rutinariamente.

La morfología de las estructuras de reproducción (esporas y/o conidios, conidióforos, células conidiógenas, cuerpos fructíferos, etc.) y la apariencia de las colonias en el medio de cultivo son caracteres que ayudan a definir los taxones fúngicos de los HE. Teniendo en cuenta estos aspectos es comprensible que el trabajo taxonómico morfológico requiere de amplia y sólida experiencia.

En las últimas décadas, con la estandarización, desarrollo y aplicación de diferentes técnicas moleculares, esta tarea se ha simplificado, especialmente cuan-

do los HE aislados no presenten estructuras de reproducción. Para estudios filogenéticos, diversos marcadores se aplican como son los genes 18S, 28S, *COI* (Citocromo C Oxidasa subunidad 1 del ADN mitocondrial), *tub2* ( $\beta$ -tubulina 2) y las regiones ITS (Espaciador interno de transcrito) y *Tefl* (Factor de elongación), entre otros (21,38).

La secuenciación del genoma, genómica comparativa, microarrays, secuenciación de próxima generación, metagenómica, metatranscriptómica y un método computacional adecuado, son algunas de las técnicas que se pueden utilizar para desentrañar la relación planta-endófito, y para mejorar la gestión agrícola de estos en términos de promoción del crecimiento vegetal, biocontrol y biorremediación (39,40).

La señalización de un endófito con la planta y con otros endófitos coexistentes se puede rastrear y cuantificar para una caracterización integral de su asociación mutualista. Estas técnicas proporcionan una comprensión integral de las interacciones moleculares endofíticas y transducción de señales, expresión de genes entre especies y activación/desactivación de las cascadas de genes requeridas que conducen a la producción sostenida de un compuesto de interés (41, 42).

No obstante, uno de los principales problemas para lograr este objetivo es el desafío técnico de cómo separar el ADN del HE del de la planta. Este último es la mayoría de las veces dominante respecto al del endofítico, lo que dificulta el aislamiento y la secuenciación del metagenoma endófito en una cobertura alta. Ayomide y Oluranti, (2020) (40), plantearon que para la extracción de ADN comúnmente se usan kits comerciales que tienen aproximadamente 95 % de aceptación entre todos los demás métodos relacionados. El método basado en bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB) también se utiliza para la extracción de ADN. En términos de producción y aceptabilidad de kits comerciales, MoBio Laboratories, Qiagen, EE.UU. y Macherey Nagel, Alemania, son empresas líderes según la evaluación realizada por estos autores.

En un estudio de la simbiosis entre los pastos de estación fría y hongos de la familia Clavicipitaceae (*L. perenne* y el hongo biotrófico *E. festucae*), a partir del análisis del transcriptoma de la planta, se revelaron cambios dramáticos en la expresión de los genes del hospedante involucrados en la defensa de patógenos, la activación de transposones y la biosíntesis y respuesta de hormonas. Además, se destacó lo finamente sintonizadas que están las asociaciones pasto-endófito y cómo la interferencia con las vías de señalización involucradas en el mantenimiento de estas asociaciones puede desencadenar un cambio de interacción mutualista a patógena (29).

Muhammad Waqas *et al.* (43) encontraron que la aplicación y asociación endofítica de *Penicillium* sp. y *Phoma glomerata* (Corda) Wollenw y Hochapfel con plantas de pepino aumentaron significativamente la biomasa de la planta y los indicadores de crecimiento

relacionados en condiciones de estrés salino y por sequía, inducidos por cloruro de sodio y polietilenglicol, respectivamente, en comparación con las plantas de control. La simbiosis endofítica (*Penicillium* sp. y *P. glomerata*) resultó en una asimilación significativamente mayor de nutrientes esenciales como potasio, calcio y magnesio, y redujo la toxicidad del sodio en comparación con las plantas de control durante el estrés por salinidad. En este caso, debido a los análisis bioquímicos y moleculares, se pudo determinar que dicho estrés se mitigó por las actividades de catalasa, peroxidasa y polifenol oxidasa, las cuales se redujeron significativamente en plantas endofíticas, en comparación con las plantas control. Estas enzimas ayudan a las plantas a eliminar el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de las mitocondrias y a regular las respuestas al estrés. En condiciones de estrés, la infección con estos endófitos moduló significativamente el estrés a través de ácido abscísico regulado para una síntesis reducida, ácido jasmónico alterado y contenidos elevados de ácido salicílico en comparación con el control. Finalmente, se concluyó que los dos endófitos reprogramaron significativamente el crecimiento de las plantas hospedantes durante condiciones de estrés.

## Selección

Si el objetivo de la selección es la obtención de cepas promisorias de HE como ACB, como un primer paso se ejecutan ensayos *in vitro*, los cuales ofrecen conocimiento importante sobre la actividad y el espectro de acción de estos hongos. Para evaluar la capacidad de producir el efecto antifúngico de los HE, con frecuencia se desarrolla el ensayo de cultivo dual, que posibilita seleccionar hongos con propiedades antagonistas hacia otros hongos fitopatógenos. A través de este ensayo se determinan los mecanismos de acción del HE antagonista (antibiosis, competencia por espacio o nutrientes y el micoparasitismo,). Una vez seleccionadas las cepas promisorias, es necesario pasar al nivel experimental en condiciones de invernadero, antes de diseñar los experimentos de campo, cuyos resultados definen finalmente la aceptación práctica del ACB.

Otros aspectos a tener en cuenta al seleccionar una cepa de HE como ACB son los siguientes:

1. La cepa seleccionada debe tener una elevada capacidad de colonización y reproducción en los tejidos internos después de su inoculación en las plantas, ya que una población que declina rápidamente tiene una baja capacidad competitiva con la microflora presente en la planta.
2. Debe tener capacidad de reducir o suprimir eficientemente la población de la plaga.
3. Debe tener la capacidad de reproducirse abundantemente en condiciones *in vitro* para asegurar su reproducción y conservación a nivel comercial.

Para seleccionar cepas promisorias, como fuentes de productos naturales útiles y novedosos para el hombre, se han seguido diversas estrategias. Entre estas se pueden mencionar: a) aislamiento de microorganismos (endófitos, epífitos, saprófitos) que se encuentren relacionados con plantas utilizadas en la medicina tradicional o que presenten informes previos de actividad biológica; b) búsqueda de organismos microbianos en ambientes extremos o de gran biodiversidad; c) modificación de los parámetros de cultivo *in vitro*: composición del medio de cultivo, pH, aireación, fotoperiodo, temperatura; d) uso de elicitores o agentes modificadores epigenéticos para modular la expresión génica (44); e) el co-cultivo de microorganismos en un mismo ambiente, entre otras. Los co-cultivos o cultivos duales pueden realizarse tanto en medios líquidos como en sólidos, aunque los primeros son más utilizados. No obstante, Bertrand *et al.* (45) informaron el estudio de las zonas de confrontación en co-cultivos fúngicos en medio sólido, como un método exitoso para la inducción de nuevos compuestos. Las interacciones en estos cultivos duales pueden conducir a la activación de mecanismos regulatorios complejos, que resultan en la generación de productos naturales nuevos y de gran diversidad estructural.

Si el aspecto de interés para la selección es la colonización de la planta hospedante, se debe analizar este comportamiento en condiciones semicontroladas y de campo. Para ello es importante el cálculo del porcentaje de frecuencia de colonización y el porcentaje de hongos dominantes endófitos. Los aislados de hongos endofíticos de cada segmento de tejido de la planta hospedante se analizan en función del porcentaje de densidad de colonización. Se analiza, además, el porcentaje relativo de ocurrencia de diferentes grupos de hongos y el porcentaje de tasa de infección endofítica (6).

### Funciones

En la actualidad, el incremento de los estudios relacionados con los HE se debe a sus funciones en la interacción con las plantas. La naturaleza compleja de esta interacción les confiere a las plantas, entre otras, la capacidad de defenderse ante factores bióticos y abióticos adversos. Por esta razón, uno de los temas de investigación más analizados se relaciona con los estudios encaminados a su selección como agentes de control biológico (ACB) para el manejo de plagas. Los HE producen un amplio arsenal de metabolitos secundarios que mejoran la resistencia frente a patógenos y herbívoros, la absorción de nutrientes, promueven el crecimiento vegetal y la resistencia frente a estreses, tales como la salinidad, altas temperaturas, mayor tolerancia a la sequía, al estrés oxidativo, a suelos ácidos con altos contenidos de Zn y Al.

### Solubilización de nutrientes

Entre las funciones menos conocidas de los endófitos se encuentra el aumento de la biodisponibilidad de nutrientes. Raya *et al.* (46,47) realizaron un estudio para evaluar la capacidad de *B. bassiana*, *Metarhizium brunneum* Petch e *Isaria farinosa* (Holmsk.) Fr. para movilizar Hierro (Fe) de óxidos de este mineral que diferían en composición, tamaño de partícula y cristalinidad, incluyendo ferrihidrita, hematita, goetita y magnetita. En el ensayo *in vitro*, los tres hongos aumentaron la disponibilidad de Fe de manera diferente según el tamaño de partícula y la cristalinidad. *I. farinosa* y *B. bassiana* aumentaron el pH del medio de cultivo. En el ensayo *in vivo*, la dosis más alta ( $5 \times 10^8$  conidios  $\text{ml}^{-1}$ ) de *M. brunneum* alivió los síntomas de clorosis por déficit de Fe de las plantas de sorgo cultivadas en el suelo calcáreo, mientras que las dosis de  $5 \times 10^6$  y  $5 \times 10^8$  conidios  $\text{ml}^{-1}$  produjeron un aumento de la altura de la planta y producción de inflorescencia del girasol.

En algunos estudios se evaluó el efecto de varias cepas endofíticas de *B. bassiana* sobre la reproducción de moscas blancas de invernadero y el crecimiento de tomates. La mayoría de las cepas mostró algún grado de solubilización de fosfato y producción de sideróforos. Los endófitos evaluados redujeron el número de huevos y ninfas por  $\text{cm}^2$  de moscas blancas en folíolos de tomate en comparación con el control y se comportaron superiores o similares al insecticida sintético comercial, además de inducir mayor altura y biomasa. (48).

### Producción de metabolitos

Como se expuso anteriormente, un campo atractivo de investigación son los metabolitos secundarios de los HE. Hamilton *et al.* (49) plantearon que estos hongos pueden producir antioxidantes en respuesta al estrés biótico y abiótico cuando se cultivan, tanto en un medio artificial como en la planta. Este impacto significativo de la colonización de endófitos en la actividad antioxidante de los hospedantes colonizados se expresa, especialmente, cuando se exponen al estrés. Concluyen que las consecuencias de los cambios en la producción de especies reactivas de oxígeno y el aumento de la actividad antioxidante en el simbiote parecen ser beneficiosas en muchos casos, pero se deben analizar los costos.

Los metabolitos secundarios que producen los HE también tienen un importante potencial en su uso como productos farmacéuticos de naturaleza variada: anticancerígenos, antimicrobianos, insecticidas, antivirales, antioxidantes e inmunomoduladores, antiprotzoarias; enfermedades neurodegenerativas; actividad citotóxica; actividad antiinflamatoria y control hiperglucémico (16). También pueden descomponer la balsa (50).

En la búsqueda de nuevos metabolitos, en especial con fines farmacéuticos, se realizaron experimentos de co-cultivo (cultivos duales) que, unidos a la aparición de nuevas tecnologías como la metabolómica diferencial, la activación de reguladores específicos y la regulación epigenética, constituyen estrategias valiosas con enfoques novedosos para la obtención de nuevos productos (24, 44, 45). Según Chiang *et al.* (44), la química de los productos naturales y la genética molecular han entrado en una nueva interrelación. Las colaboraciones entre micólogos, genetistas, bioquímicos y químicos son fundamentales para facilitar el descubrimiento de nuevos productos naturales y los genes implicados en su biosíntesis, que al final beneficiarán a la búsqueda comercial de reacciones enzimáticas.

Otra estrategia interesante es que las plantas medicinales, que se utilizan desde hace siglos como fuente alternativa de medicina, son una fuente valiosa para la bioprospección de endófitos. Es más probable que los HE aislados de plantas medicinales exhiban potenciales farmacéuticos (51).

No obstante, estas investigaciones se enfrentan con problemas futuros como la degradación ambiental, la pérdida de biodiversidad, la rápida disminución de las selvas tropicales y la desaparición de las plantas medicinales, que tienen el mayor recurso potencial para adquirir nuevos microorganismos y sus productos. Por lo tanto, fomentar la investigación biológica de productos naturales es una opción crucial para luchar contra las diversas enfermedades potencialmente mortales junto con diversas aplicaciones industriales (52).

### **Promoción del crecimiento vegetal**

Los endófitos microbianos tienen la capacidad de actuar como agentes promotores del crecimiento de las plantas mediante la producción de fitohormonas; también permiten que las plantas crezcan en suelos contaminados mediante la descomposición de compuestos peligrosos. Durante el largo periodo de coevolución, los HE se han adaptado gradualmente a sus microambientes especiales mediante la variación genética, incluida la captación de segmentos de ADN de plantas en sus propios genomas, así como la inserción de sus segmentos de ADN en los genomas del hospedante. Esto podría ser la causa que ciertos endófitos posean la capacidad de biosintetizar algunos fitoquímicos originados a partir de sus plantas hospedantes (53).

Los endófitos son capaces de producir diferentes tipos de fitohormonas (53). Emmanuel Ortiz-Espinoza *et al.* (54) evaluaron el efecto de dos cepas comerciales de hongos endófitos entomopatógenos y de aislados de suelos agrícolas del estado de San Luis Potosí (HEE) sobre el crecimiento, fotosíntesis, intercambio de gases y producción en plantas de chile poblano (*Capsicum annuum* L.). Los aislados de suelo evaluados pertenecían a los géneros *Metarhizium* (RV01), *Paecilomyces* (RV05) y *Penicillium* (aislado SL14); *B.*

*bassiana* (BB42) y *M. anisopliae* (MA25) y las cepas comerciales a *B. bassiana* (BB09) y *M. anisopliae* (MA28). Además, utilizaron dos métodos de aplicación: 1) inoculación en semilla; y 2) aspersión del sustrato y una segunda aplicación cuando emergió la primera hoja verdadera. Los autores concluyeron que la inoculación directa de HE sobre la semilla genera mejores resultados con aumento en la producción de biomasa total, y en el peso seco de la parte aérea y de raíces; además, que los aislados obtenidos a partir de suelos agrícolas pueden competir con cepas comerciales en la promoción del crecimiento de plantas de chile poblano en invernadero, aunque con variaciones en función de la cepa.

Otros autores evaluaron el efecto endofítico y estimulante de cuatro cepas de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg (*Ta.13*, *Ta.78*, *Ta.85* y *Ta.90*) sobre *Phaseolus vulgaris* L. (cv. BAT-304) en condiciones semicontroladas. Las evaluaciones se realizaron en plantas de 15 días, sembradas en dos momentos: 1) siembra e inoculación de *Trichoderma* en el suelo al unísono; 2) siembra de las plantas siete días después de la inoculación con el hongo. Los resultados indicaron que *Ta.85* produjo la mayor estimulación en cuanto al número de hojas, altura de las plantas y longitud de raíces, cuando el hongo se aplicó el mismo día de la siembra. Todas las cepas fueron endófitas para el cultivar de frijol estudiado. Las cepas *Ta.90* y *Ta.85* incrementaron el contenido foliar de N en el primer momento de siembra; mientras que, *Ta.78*, *Ta.85* y *Ta.90* lo hicieron durante el segundo momento. Solo *Ta.78* incrementó el K foliar con respecto al control, cuando el hongo se inoculó antes de la siembra. Las plantas tratadas con *Ta.78* mostraron actividades enzimáticas POD, PPO y PAL superiores con respecto a las plantas control. La cepa *Ta.13* aumentó las actividades POD y PPO; mientras que, *Ta.85* y *Ta.90* exhibieron actividad PPO. Los resultados sugieren que la cepa *Ta.85*, inoculada al unísono con la siembra de frijol, es eficiente en la estimulación del crecimiento; *Ta.78* se destacó en la nutrición y posible inducción de resistencia en el cultivar (55).

El efecto de la cepa IMI SD 187 de *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata* Kamyschko ex Barron y Onions) Zare y Gams como endófito en la promoción del crecimiento de plantas de frijol negro cultivar 'Cuba Cueto 25-9' (CC 25-9N) también se evaluó, tanto *in vitro* como en condiciones semicontroladas. La cepa incrementó los parámetros asociados a la germinación *in vitro* de semillas de frijol, con un efecto significativo en la longitud del hipocotilo y la masa fresca de las plántulas. En condiciones semicontroladas se logró una elevada colonización en la raíz, con un crecimiento endofítico de 16,67 % en 30 días y adelantó la germinación en dos días. Se observó una tendencia a incrementar los parámetros número de hojas trifoliadas, longitud del tallo, masa fresca y seca aérea, y masa fresca de raíz en los tratamientos con el hongo respecto al control (56).



Esta misma cepa se utilizó en experimentos dirigidos al estudio de su efecto en la promoción del crecimiento de vitroplantas de plátanos y bananos. Se utilizaron los cultivares ‘CEMSA -’ (AAB), ‘Pisang Ceilan’ (AAB), ‘FHIA-01’ (AAAB) y ‘FHIA-18’ (AAAB). En esta investigación se efectuaron dos aplicaciones de KlamiC® (5,6 x 10<sup>5</sup> clamidosporas.vitroplanta-1). Se produjo un incremento significativo del crecimiento de las vitroplantas tratadas con KlamiC®, en comparación con los controles. El hongo colonizó el sustrato y la rizosfera de las vitroplantas, con menor porcentaje en el cultivar ‘FHIA-18’ (AAAB) con 4,15 % (57). Estos resultados fueron posteriormente validados e introducidos como parte del manejo agronómico de vitroplántulas de *Musa paradisiaca* L. en fase de adaptación *ex vitro* (58).

### Tolerancia al estrés

Esta facultad de los hongos endófitos para mejorar la capacidad de las plantas para tolerar estreses abióticos agrega una nueva dimensión a las interacciones entre plantas hospedantes y endófitos, lo que podría explorarse en la agricultura, no solo para mitigar plagas y enfermedades en condiciones de cambio climático, sino también como un enfoque alternativo a la autodistribución de estos hongos en aplicaciones inundativas (59).

Los cultivos colonizados por endófitos tienen una alta tendencia a la tolerancia al estrés con relación a aquellos que carecen de dicha simbiosis. La mayoría de las vías a las que se dirigen los ARNm para la defensa de las plantas están desactivadas durante el establecimiento de la simbiosis. De manera similar, los genes involucrados en las vías anabólicas son más diversos y abundantes entre los endófitos, en contraste con los fitopatógenos. El comportamiento endofítico puede verse afectado por diferentes genes que se encuentran conservados, incluidos varios reguladores transcripcionales. Se sabe que los endófitos pueden actuar como una barrera con microorganismos patógenos y evitar que se arraiguen. De manera similar, a través de la antibiosis o la resistencia sistémica inducida, pueden mantener la salud de la planta y ayudar a mejorar el crecimiento y los rendimientos. La señalización del ácido jasmónico (JA) y etileno (ET), así como el ácido salicílico (SA), es necesaria para la resistencia inducida mediada por endófitos (25).

Otra investigación en el tema se realizó con el propósito de determinar el efecto de una concentración de 50 mmol.L<sup>-1</sup> de NaCl sobre la interacción entre la cepa IMI SD 187 de *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata* y *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) en el cultivo de tomate. Luego de 65 días, se evaluaron el índice de agallamiento, la cantidad de juveniles de segundo estadio de *M. incognita* en el suelo, la actividad saprofítica y parasítica de la cepa IMI SD 187; también se registró el pH potenciométrico y la

conductividad eléctrica del suelo. Los resultados demostraron que la cepa IMI SD 187 colonizó la raíz en un rango de 1,9-4,2x10<sup>3</sup> UFC, registró una población en el suelo de 1,5-3,3x10<sup>4</sup> UFC, parasitó 63 % de huevos y colonizó 80 % de masas de huevos de *M. incognita* en presencia de la concentración de NaCl utilizada (60).

### Inducción de resistencia

Algunos investigadores plantean que los HE como los ACB pueden inducir resistencia en las plantas contra patógenos, incluidos hongos, bacterias y virus y, en algunos casos, insectos plaga y nematodos.

Los HE pueden estimular a la planta a producir fitoalexinas, lignina, calosa, entre otros. Por ejemplo, plantas de soya inoculadas con *M. anisopliae* aumentaron significativamente la cantidad de fitoalexinas isoflavonoides (3). El mecanismo de defensa más estudiado en la simbiosis con hongos endófitos es la producción de alcaloides con efectos negativos sobre herbívoros vertebrados e invertebrados (61). Los HE pueden sintetizar uno, dos o tres clases químicas de alcaloides. Sin embargo, tanto de la cantidad como del tipo de alcaloide dependen de la interacción planta-endófito, como así de las condiciones ambientales abióticas y bióticas (5,62,63,64).

Es posible que los endófitos provoquen un reordenamiento hormonal similar al encontrado en las simbiosis con micorrizas y rizobacterias, dado que los endófitos también son microorganismos biótrofos (65). Por lo tanto, es de esperar que posean mecanismos que atenúen las defensas de las plantas mediadas por el ácido salicílico (AS) y promuevan la activación de la vía del ácido jasmónico (AJ), por lo que las plantas mostrarán de esta forma un mayor nivel de resistencia mediada por vía del AJ.

El hecho de que en la interacción planta - HE se produzca la inducción preferencial de la vía mediada por el AJ, provocará que el incremento de las defensas sea contra insectos masticadores, beneficiando a la planta aun cuando el HE produzca metabolitos secundarios inefectivos contra la plaga o estos se encuentren restringidos a partes específicas de la planta. En relación con esto, las plantas de *Lolium multiflorum* (Lam.) Husnot simbióticas con el endófito *E. occultans* fueron más resistentes a *S. frugiperda* que las plantas no simbióticas. Sin embargo, cuando ambas plantas (colonizadas y no colonizadas) se trataron con Metil jazmonato (MeAJ), no mostraron un aumento en la resistencia frente a los insectos. La exposición de las plantas con endófito al MeAJ produjo una reducción en la concentración de los alcaloides lolinas, y un aumento del crecimiento y una extensión del desarrollo de la plaga (66).

En otro trabajo similar, los autores investigaron los efectos letales y previos a la mortalidad de *B. bassiana* y *M. brunneum* en *A. gossypii*; los pulgones recibie-

ron inóculo mientras se alimentaban de hojas recientemente rociadas (inóculo superficial y colonizadas endofíticamente) o mientras se alimentaban de hojas no rociadas pero colonizadas endofíticamente. También se compararon las emisiones volátiles de las plantas colonizadas y las plantas de control. Las tasas de mortalidad de pulgones variaron entre 48,2 y 56,9 % en hojas rociadas y entre 37,7 y 50,0 en hojas colonizadas endofíticamente. Hubo un efecto significativo de la colonización endofítica sobre la tasa de producción de ninfas, pero esto no resultó en un aumento general de la población de áfidos. La colonización endofítica no influyó en la selección de la planta hospedante a pesar de que hubo diferencias cualitativas y cuantitativas en la mezcla de volátiles liberados por las plantas colonizadas y de control. Aunque la colonización endofítica no cambió el comportamiento de los herbívoros, las plantas se beneficiaron a través de la defensa indirecta, la resistencia a patógenos de las plantas o la tolerancia al estrés abiótico (67).

Por su parte, Pocerull *et al.* (68) realizaron varios experimentos para determinar: la capacidad de dos formulaciones comerciales de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg (T34) y *T. harzianum* Rifai (T22) para inducir resistencia sistémica en tomate contra una población avirulenta de *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) Chitwood. T34 redujo el número de masas de huevos y huevos por planta en 71 y 54 %, respectivamente. T22 redujo el 48 % del número de huevos por planta, pero no el número de masas de huevos.

Con el objetivo de determinar el potencial de cepas de *T. asperellum* como agente de control biológico de *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitwood, se evaluaron diferentes cepas (Ta.1, Ta.13, Ta.25, Ta.78, Ta.79 y Ta.90), seleccionadas previamente por su alta capacidad antagonica, producción de metabolitos y adaptación a diversas condiciones ambientales y sustratos. En los ensayos *in vitro*, se evaluó el efecto de las cepas sobre juveniles de *M. incognita* y se utilizaron las diluciones de 1/10; 1/25; 1/50 y filtrado puro de cada una de las cepas y un tratamiento control (agua estéril). Por otra parte, en condiciones semicontroladas, plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) se inocularon con 2,5 juveniles de segundo estadio (J2) por gramo de suelo y a las 72 horas se adicionó inóculo de la cepa Ta.90; se aplicó  $10^7$  UCF por maceta. Los tratamientos fueron: plantas sanas (control absoluto), plantas + Ta.90; plantas + Ta.90 + nematodos, plantas + nematodo y nematodos + Ta.90 (sin plantas). Los filtrados de las cepas de *T. asperellum* causaron altos niveles de mortalidad y sobresalió la cepa Ta.90 con 90 % de mortalidad a las 24 horas. En macetas, dicha cepa provocó una disminución en el número de huevos por hembras y atenuó el efecto del nematodo sobre los parámetros: altura, diámetro del tallo, número de hojas y masa fresca aérea (69).

Otro estudio similar se centró en la modelación, simulando la interacción *M. incognita* - *T. asperellum* - garbanzo (*Cicer arietinum* L.) mediante el modelo determinístico propuesto por Anderson y May. Los resultados demostraron que la población del nematodo tiende a decrecer por la acción de *T. asperellum* y alcanzó valores por debajo del nivel de inóculo a partir de los 73 días. Además, se infiere que, de una generación a otra, la población se reduce en 35 % y esta disminución poblacional se logra en presencia de *T. asperellum* en niveles superiores a  $10^4$  UFC.ml<sup>-1</sup>. Se propuso un segundo modelo de interacción, en el que se incorporó la dinámica de crecimiento del cultivo para ser validado en trabajos futuros que demuestren la acción del hongo en cada estadio biológico del nematodo (70).

Otros autores examinaron el potencial de 10 aislados de hongos para colonizar plantas de maíz e inducir resistencia contra el virus del moteado clorótico del maíz (MCMV) y el virus del mosaico de la caña de azúcar (SCMV). Las semillas de maíz se empaparon en inóculo de hongos, se sembraron y se evaluaron para determinar la colonización endofítica. Las plantas tratadas con hongos se inocularon por desafío con SCMV y / o MCMV para evaluar los efectos de los aislados de hongos sobre los virus en términos de incidencia, gravedad y títulos de virus a lo largo del tiempo. Aislamientos de *T. harzianum*, *Trichoderma atroviride* Bissett, *H. lixii* colonizaron diferentes secciones de plantas. En las plantas de maíz inoculadas con *T. harzianum* y *M. anisopliae* se observó una reducción de la gravedad del SCMV y los títulos del virus hasta 1,4 y 2,7 veces, respectivamente, sobre los controles, pero no hubo un efecto significativo sobre el MCMV. Por lo tanto, sugieren que tanto *T. harzianum* como *M. anisopliae* son candidatos potenciales para inducir resistencia contra SCMV y pueden usarse para el manejo integrado de MLN (necrosis letal del maíz) (71).

### **Efecto Directo sobre la plaga como ACB**

Los hongos endófitos pueden proveer protección a la planta contra insectos herbívoros, enfermedades vegetales o nematodos parásitos de plantas. Diversos hongos agentes de control biológico han mostrado habilidad para colonizar tejidos de diferentes plantas, como verdaderos endófitos sin causar síntomas de daños aparentes; sin embargo, esta colonización depende de las especies de plantas y el aislamiento del hongo ACB en cuestión. Por otra parte, esta interacción puede ser beneficiosa para la planta y para el hongo, neutral o, en algunos casos, antagonista.

Varios autores demostraron que los hongos entomatógenos son capaces de colonizar endofíticamente los tejidos de diversas plantas; tal es el caso de *B. bassiana*, *M. anisopliae*, *Lecanicillium lecanii* y otros endófitos, con diversos modos de acción frente a insectos plaga.

Sánchez Rodríguez *et al.* (4) informaron la mortalidad de larvas de *Spodoptera littoralis* Boisduval cuando estas se alimentaron con hojas de plantas de trigo blando colonizadas por la cepa del HE *B. bassiana* EABb 04/01-Tip. Esta autora no observó crecimiento fúngico a partir de los cadáveres de las larvas infectadas, por lo que sugiere que la mortalidad encontrada pudo estar asociada a la producción de metabolitos insecticidas.

González *et al.* (67,72) analizaron el efecto de la colonización endofítica de plantas de melón por cepas de *B. bassiana* y *M. brunneum*, sobre el comportamiento alimenticio de los pulgones y a la transmisión de virus persistentes y no persistentes. Sus resultados revelaron que la colonización del HE no afectó el comportamiento alimenticio de *A. gossypii* asociado a la inoculación de *Cucumber mosaic virus* (CMV) (no persistente), ni *Cucurbit aphid-borne yellows virus* (CABYV) (persistente), pero modificó algunos aspectos relacionados con el proceso de adquisición de virus no persistentes. No obstante, sus ensayos de transmisión revelaron que la incidencia de los dos virus fue significativamente reducida cuando las plantas estaban colonizadas con el HE antes de producirse su infestación con pulgones virulíferos, lo cual atribuyó a la posible inducción de resistencia sistémica, consecuencia de la colonización de la planta por el hongo. Por otra parte, el HE no afectó significativamente la cantidad de hembras ápteras de *A. gossypii* consumidas por *Chrysoperla carnea* Stephens, ni el tiempo de consumo. Sin embargo, las crisopas no consumieron por completo los pulgones con indicios de infección fúngica, como posible mecanismo de seguridad por parte del neuróptero, pero mostraron una preferencia significativa por *A. gossypii* alimentados de plantas de melón colonizadas con la cepa de *B. bassiana*.

En otro estudio, el endófito *E. occultans* (CD Moon, B. Scott y MJ Chr.) Schardl también afectó negativamente el crecimiento y desarrollo de *S. frugiperda*. Específicamente, se encontró que la presencia del hongo redujo el peso de las larvas y extendió el tiempo de desarrollo de los insectos. Sin embargo, no se observaron efectos del endófito sobre la supervivencia individual de los insectos. No obstante, alrededor del 50 % de los adultos emergidos de larvas criadas en plantas con el endófito presentaron deformaciones en las alas (66).

Muvea *et al.* (73) examinaron el efecto potencial del hongo endofítico *Hypocrea lixii* Pat. (F3ST1) sobre la alimentación de *Thrips tabaci* Lindeman y la replicación del virus de la mancha amarilla del iris (IYSV) en plantas de cebolla colonizadas con endófitos (E+) y sin endófitos (E-). El número de pinchazos de alimentación de trips y el nivel de enfermedad fue significativamente menor en plantas E+ en comparación con las plantas E-, durante cuatro semanas después de la exposición a trips. La replicación de IYSV se redujo 2,5 veces y las actividades de alimentación de los

trips fueron dos veces más bajas en el tratamiento endofítico. No obstante, plantearon que deben realizarse más estudios para dilucidar los metabolitos secundarios implicados en dicha interacción mediada por endófito-trips-virus y determinar si las interacciones se extienden para esta y otras variedades de cebolla y virus en condiciones de campo.

La supresión de enfermedades de las plantas, debido a la acción de microorganismos endofíticos, se demostró en varios patosistemas. Los mecanismos potenciales de los HE en la protección de la planta contra los patógenos se relacionan con efectos directos (interacción entre endófitos y patógenos) e indirectos (mejora de las defensas de la planta) y los efectos ecológicos, desempeñando una función importante en los resultados de la interacción planta - patógeno que conduce a la enfermedad. Según Sikora (74), la presencia de microorganismos (entre ellos señala a los HE), hace más efectiva la capacidad amortiguadora de un suelo en la naturaleza, para suprimir la mayoría de los patógenos de suelo y problemas de nematodos.

Algunos autores han estudiado el efecto de los HE en los cultivos de plátanos y bananos. Zum Felde (75) plantea que, en suelos de fincas comerciales de bananos en Guatemala, se observó la supresión de nematodos, efecto que fue transmitido de una plantación a otra, mediante el trasplante de cormos. Chaves (76) señaló que *Trichoderma* y *Fusarium* fueron los géneros más abundantes de HE presentes en tejidos internos de raíces de banano y que mostraron un alto potencial para el control de nematodos, con reducciones de hasta 90 % en la población final de *Radopholus similis* (Cobb) Thorn en el sistema radical de plantas protegidas por estos HE. A su vez, informó un incremento en el peso y la longitud de la raíz, y en el peso foliar de dichas plantas, en comparación con plantas no protegidas. Estos resultados también coinciden con lo informado por Pocasangre (77).

### Aplicaciones mixtas

Así como las condiciones de crecimiento o las características específicas del cultivar, las interacciones con otros microorganismos pueden impactar el efecto de los HE sobre sus hospedantes y sobre los agentes nocivos. Aun cuando los HE pueden ser utilizados en diferentes estrategias de manejo junto a otras tácticas, es necesario el desarrollo de experimentos en condiciones controladas para conocer aspectos como las dosis de aplicación, el momento y la frecuencia antes de proceder a la aplicación en campo. Algunas investigaciones refieren resultados positivos, mientras otras los refieren como neutros, o incluso negativos, en lo que respecta a la mezcla de los HE con otros controles biológicos.

En busca de alternativas más eficientes y saludables con el ambiente, se evaluó la aplicación de una cepa de *B. bassiana* por su capacidad endofita en

plantas de garbanzo (*C. arietinum*) y una de *Bacillus thuringiensis* Berliner, de forma individual y combinada para el control de *H. armigera*. Los tratamientos combinados de estos mostraron un aumento en la mortalidad de las larvas y una disminución en la pupación, la emergencia de adultos y la eclosión de huevos. Específicamente, se observaron efectos sinérgicos sobre la mortalidad cuando las larvas se expusieron a la aplicación simultánea de *B. bassiana* con *B. thuringiensis*. Estos hallazgos indican que la aplicación integrada de *B. bassiana* y *B. thuringiensis* se puede utilizar eficazmente contra *H. armigera* (78).

También se evaluaron dos cepas fúngicas de *B. bassiana* para el control de adultos del psílido asiático de los cítricos (*Diaphorina citri* Kuwayama). Ambas cepas causaron entre 10 y 15 % de mortalidad de adultos de *D. citri* en los siete días posteriores a la exposición. Las hembras de *D. citri* alimentadas en plantas colonizadas por los endófitos pusieron menos huevos en comparación con las alimentadas de plántulas sin endófitos, con una reducción en la emergencia de adultos en las plantas tratadas con *B. bassiana*. Además, las plantas colonizadas con los HE indujeron una mejora significativa en la altura de la planta (79).

Estudios realizados en Cuba sobre el efecto de la aplicación conjunta de *P. chlamydosporia* y *T. asperellum* en la climatización de vitroplantas de banano (*Musa* sp.), demostraron la compatibilidad *in vitro* y *ex vitro* de ambos hongos agentes de control biológico endófitos. El hongo antagonista no limitó la colonización del hongo nematófago, a pesar de las diferencias en su velocidad de crecimiento y ambos hongos lograron un efecto en la estimulación del crecimiento de las vitroplantas. Los resultados indican las ventajas de la aplicación combinada de estos hongos en estrategias de biomanejo en banano (80).

## Riesgos

Se conoce que las dosis decrecientes y la aplicación del entomófago antes que el HE reducen los efectos negativos sobre varios grupos de entomófagos, como coccinélidos depredadores (81,82), crisopas (83) y varias especies de parasitoides de pulgones (84,85). Los tratamientos con HE pueden considerarse de bajo riesgo para depredadores y parasitoides y, por tanto, compatibles con los mismos. El depredador *C. carnea* se alimenta de larvas de *S. littoralis* infectadas con *M. brunneum* (86) y el parasitoide *Aphidius ervi* Haliday oviposita en pulgones infectados con *Pandora neoaphidis* (Remaudière & Hennebert) Humber. Sin embargo, existen pocos trabajos en los que se haya estudiado si la colonización endofítica de la planta puede tener un efecto sobre integrantes del tercer nivel trófico, y los pocos que hay tratan de su efecto sobre los parasitoides (27).

En un estudio se determinó que las larvas del parasitoide *Aphelinus abdominalis* Dalman fueron muy susceptibles a la alta concentración de esporas de *B. bassiana* ( $1 \times 10^9$  c/ml), medida por las tasas de formación de momias y emergencia adulta, en comparación con el tratamiento de control. Por el contrario, *B. bassiana* no tuvo efectos sobre el desarrollo del parasitoide cuando las larvas de este se trataron con la menor concentración de esporas ( $1 \times 10^4$  c/ml) o sus pupas se trataron con concentraciones de esporas altas o bajas. Por esta razón, sugieren que podría ser posible combinar *B. bassiana* y *A. abdominalis* para el manejo integrado de plagas de *Nasonovia. ribisnigri* Mosley (85).

En los bioensayos referidos anteriormente, de las larvas de crisopa verde (*C. carnea*) alimentadas con larvas de *S. littoralis* sanas y tratadas con cepas de *M. brunneum*, se confirmó la presencia de destruxina A a concentraciones bajas en las larvas de *S. littoralis* infectadas con cepa BIPESCO5, mientras que el metabolito no se detectó en *C. carnea* que consumieron larvas de *S. littoralis* tratadas con *M. brunneum*. Las larvas de crisopa se alimentaron preferentemente de presas sanas en comparación con las presas tratadas con *M. brunneum*. Además, las larvas de *C. carnea* alimentadas con presas sanas ganaron más peso que las alimentadas con individuos tratados. Ambos tratamientos de *M. brunneum* utilizados contra larvas de *S. littoralis* pueden considerarse de bajo riesgo para *C. carnea*, debido a la falta de mortalidad relacionada con hongos en el depredador y al no moverse la destruxina A de la presa al depredador. Sin embargo, se necesitan más estudios sobre otros no objetivos y con más cepas de *M. brunneum* para evaluar su posible uso simultáneo en el manejo integrado de plagas (86).

Por su parte, González-Mas *et al.* (87) evaluaron la eficacia de depredación / parasitismo de larvas de crisopa, *C. carnea*, y del parasitoide braconídeo, *Aphidius colemani* Viereck, cuando se les ofrecieron pulgones inoculados con *B. bassiana* directamente con una suspensión de hongos (solo bioensayo de crisopas) o se habían alimentado de plantas de melón colonizadas endofíticamente por este hongo. La aplicación de *B. bassiana* no influyó significativamente en el número de presas de pulgón consumidas por las crisopas o en el tiempo que tardaron en consumir cada pulgón. En este caso, las larvas de *C. carnea* prefirieron alimentarse de pulgones criados en plantas colonizadas por *B. bassiana* en comparación con las plantas de control. En otro ensayo, el número de pulgones parasitados por *A. colemani* y su proporción sexual no se afectaron, independientemente de si los pulgones se alimentaron de plantas colonizadas por *B. bassiana* o no. Finalmente, apoyan la hipótesis de que los hongos entomopatógenos endofíticos pueden usarse en combinación con otros enemigos naturales, como depredadores y parasitoides.

Zum Felde *et al.* (88) indicaron que la combinación de agentes de control biológico compatibles (*Fusarium oxysporum* Schltdl, *T. atroviride*) proporcionan una protección mejorada y más estable contra *R. similis*, en comparación con el uso de un solo agente de control biológico. Se necesitan más investigaciones para explorar los mecanismos por los cuales los hongos endófitos controlan a *R. similis* en los tejidos de la raíz del banano y su movimiento o transferencia de una generación de plantas a la siguiente. No obstante, se comprobó que cuando se establece la supresión de nematodos en el campo, esta se transfiere de las plantas madre a las hijas. La combinación de inoculaciones de endófitos mutualistas aumentó los niveles de control de nematodos y el crecimiento de las plantas en plantas 'Williams' inoculadas (75).

Ocho aislamientos endofíticos compatibles, con conocida actividad antagonista contra *R. similis* aplicados individualmente, o de forma mixta en vitroplantas de banano del cultivar "Gran Enano" en invernadero, mostraron que la inoculación múltiple disminuyó significativamente la penetración del nematodo y redujo la población final de este en el sistema radical de la planta. El efecto aditivo y/o sinérgico de los mecanismos de acción de los agentes biológicos quedó demostrado en su actividad antagonista contra *R. similis*. Además, los resultados obtenidos en el bioensayo de promoción de crecimiento demostraron que las plantas protegidas con inoculaciones múltiples presentaron valores mayores en las variables peso total de la planta, peso radical y longitud radical en comparación con las inoculaciones individuales y los testigos (76).

En bioensayos de laboratorio, se rociaron adultos de *Hippodamia convergens* Guerin con suspensiones de conidios de *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown & Smith a diferentes concentraciones y se evaluó la mortalidad; aunque una proporción de coccinélidos sucumbió a la infección (la mayor proporción fue de 22 % cuando las mariquitas habían sufrido estrés). Estos investigadores plantearon que es poco probable que estén en riesgo de infección como resultado directo de una aplicación de aerosol, a menos que haya períodos prolongados de alta humedad o los coccinélidos estaban estresados. Cuando se les proporcionaron cadáveres de *Diuraphis noxia* Kurdjumov no infectados o infectados con *P. fumosoroseus* como presa, los coccinélidos consumieron más pulgones no infectados. Los depredadores nunca consumieron cadáveres de pulgones de los que el hongo estaba en erupción o esporulando. Los depredadores contaminados con conidios de *P. fumosoroseus* pudieron transferir conidios a poblaciones sanas de *D. noxia* e iniciar la infección en los pulgones. Esta proporción de pulgones infectados fue mayor cuando los coccinélidos se contaminaron al buscar alimento entre cadáveres esporulantes (81).

Al evaluar la compatibilidad de los hongos *B. bassiana* y *M. anisopliae* con *Chrysoperla externa* Hagen, depredador de ninfas de *Trialeurodes*

*vaporariorum* (Westwood), en condiciones de laboratorio, no hubo diferencias estadísticas en la mortalidad corregida en los estadios larvales II y III de *C. externa*, expuestos a *B. bassiana*, y para su estado larval frente a *M. anisopliae*, a altas concentraciones ( $1 \times 10^8$  conidios  $\text{ml}^{-1}$ ) de estos HE. Estos resultados indican que *C. externa* podría ser aplicada como entomófago en un esquema de manejo integrado de *T. vaporariorum* en cultivos de tomate, conjuntamente con hongos como *B. bassiana* y *M. anisopliae* (89).

Los aislamientos de *Metarhizium robertsii* (formalmente conocido como *M. anisopliae*) (ESALQ 1622) y *B. bassiana* (ESALQ 3375) (en inoculaciones simples y combinadas en tratamientos de semillas), para suprimir el crecimiento de la población de ácaros rojos *Tetranychus urticae* Koch y la capacidad de promover el crecimiento de plantas de frijol *Phaseolus vulgaris* L., mostraron un alto potencial. El ácaro depredador *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot no mostró diferencias en la tasa de depredación de *T. urticae* de las plantas tratadas y no tratadas, aunque los depredadores tenían más probabilidades de alimentarse de los ácaros de las plantas tratadas con hongos durante la primera mitad del ensayo y de los ácaros de las plantas de control durante el resto del ensayo. Se concluyó que, en general, los dos aislados de hongos tienen potencial como inoculantes de semillas para suprimir los ácaros en el frijol y la estrategia parece no tener conflicto con el uso de ácaros depredadores (90).

En un experimento *in vitro*, se comparó la susceptibilidad de tres especies de coccinélidos, *Harmonia axyridis* Pallas, *Coccinella septempunctata* L. y *Adalia bipunctata* L. a la infección por *B. bassiana* (cepa comercial GHA) después de la exposición a tres dosis ( $10^5$ ,  $10^7$ ,  $10^9$  conidios  $\text{ml}^{-1}$ ). Las dos subpoblaciones de *H. axyridis* (Japón y Reino Unido) fueron más resistentes a la infección por *B. bassiana* que *A. bipunctata* o *C. septempunctata*, sólo la dosis de  $10^9$  conidios  $\text{ml}^{-1}$  resultó mortal para *H. axyridis*, en contraste, *C. septempunctata* y *A. bipunctata* expuestos a la concentración de  $1,0^7$  conidios  $\text{ml}^{-1}$  del hongo, tuvieron un 80 % y 70 % de mortalidad, respectivamente. La inoculación con dosis altas ( $10^9$  conidios  $\text{ml}^{-1}$ ) redujo la fecundidad de *A. bipunctata* a cero, pero a las concentraciones de  $10^5$  y  $10^7$  conidios  $\text{ml}^{-1}$  la producción de huevos fue similar a los individuos de control. Por el contrario, todas las dosis de *B. bassiana* redujeron drásticamente la producción de huevos de *H. axyridis* (Reino Unido) (82).

Los resultados de la aplicación de *B. bassiana* a larvas, pupas y adultos del depredador *Eriopsis connexa* Germar (ACB) mostraron que el entomopatógeno infectó al coleóptero. En el análisis de la interacción entre *B. bassiana* y el depredador a través de presas infectadas se encontró que los efectos del hongo sobre la supervivencia de las larvas fueron significativamente diferentes cuando se examinó la supervivencia acumulada (desde el primer estadio larvario hasta la edad

adulto). La fecundidad diaria se redujo significativamente a los cinco días en comparación con el grupo de control. Por el contrario, no se observaron diferencias significativas entre los cinco días de oviposición en la tasa de huevos eclosionados. Este estudio mostró que, a pesar de haber recibido una sola dosis del hongo en su ciclo de vida, los parámetros poblacionales del depredador *E. connexa* se vieron afectados. Serían necesarios más estudios para ayudar a identificar las interacciones entre los enemigos naturales para aumentar y mejorar las oportunidades y desarrollar aún más los programas de control biológico de plagas (91).

Se realizó un bioensayo con la cepa nativa del Delta del Mississippi (NI8 ARSEF8889) de *B. bassiana*, aislada de *Lygus lineolaris* (Palisot de Beauvois), sobre *Chrysoperla rufilabris* (Burmeister). Los adultos del predador, tratados con el hongo a cuatro concentraciones de pulverización ( $7,02 \times 10^4$ ,  $10^5$ ,  $10^6$ , y  $10^7$ ) esporas por mL), mostraron efectos significativos y la gravedad del impacto dependió de la concentración probada. El método de aplicación simuló pulverización atomizada y las concentraciones probadas La cepa de *B. bassiana* impactó todas las medidas demográficas de la reproducción y sobrevivencia de *C. rufilabris*. La tasa de aumento intrínseco y finito y las tasas de reproducción bruta y neta de adultos tratados con las concentraciones de prueba más altas disminuyeron significativamente, mientras que el tiempo de duplicación aumentó para adultos tratados con las concentraciones de pruebas más bajas. Sobre la base de estas observaciones, *C. rufilabris* será afectado por aerosoles de *B. bassiana* dirigidos a *L. lineolaris* si los adultos están presentes en el momento y lugar del tratamiento (83).

La virulencia de tres cepas de *B. bassiana* y una de *M. anisopliae*, seleccionadas previamente por su virulencia contra *Galleria mellonella* L. y *Tenebrio molitor* L., se probó contra *Trialeurodes vaporariorum* y su parasitoide *Encarsia formosa* Gahan en ensayos de laboratorio. La cepa comercial de *B. bassiana* ATCC 74040, tanto como cultivo fúngico puro como micoinsecticida formulado (Naturalis), se incluyó en los ensayos como control positivo. Todas las cepas de los entomopatógenos y el producto comercial fueron eficaces en el control de ninfa de *T. vaporariorum*. Sin embargo, las cepas de hongos entomopatógenos, y especialmente Naturalis, afectaron negativamente el desarrollo de *E. formosa* y su actividad parasitaria sobre las ninfas de *T. vaporariorum*. Este efecto fue más pronunciado cuando las cepas fúngicas se aplicaron antes de la parasitación. Este autor sugiere que la aplicación de hongos entomopatógenos es incompatible con la liberación de *E. formosa* en los cultivos (84).

Las diferentes respuestas obtenidas de la interacción endófitos - entomófagos, aun frente a una misma especie del primero, hace necesario la prueba y selección de cada agente en los distintos sistemas, cada cepa de HE tiene características intrínsecas, así como una

maquinaria metabólica que responde en gran medida al nicho y/o condiciones donde ha evolucionado.

Por otro lado, debido a su propio origen y evolución, el desempeño ecológico de estos endófitos es diverso y en muchos casos desconocido. Se sugiere que algunas especies endófitas pueden cambiar a saprófitos o incluso llegar a inducir síntomas de la enfermedad. De hecho, se aislaron algunas especies de hongos en el trópico donde actúan endófitos, mientras que en zonas templadas son saprófitos (22).

La interacción entre los hongos endófitos también podría tener consecuencias negativas para la inmunidad de las plantas y su desempeño potencial. Teniendo en cuenta que, como se planteó anteriormente, la represión de la vía del AS parece ser esencial para establecer y mantener la relación simbiótica (similar a lo que ocurre con los hongos micorrízicos), las plantas colonizadas con HE serán más susceptibles a patógenos biotrofos (ya que esta es la vía utilizada por las plantas para inducir los mecanismos de resistencia a los mismos). Por el contrario, si la vía del AS se activa debido a factores bióticos o abióticos se producirá un efecto negativo sobre el endófito (1).

Según plantea Martin Heil (92), muchos endófitos son percibidos como patógenos e inducen respuestas de resistencia del hospedante, un efecto que parece ser el mecanismo general que subyace a sus efectos "indirectos". La falta de síntomas visibles de la enfermedad podría ser el resultado de un delicado equilibrio entre las respuestas de resistencia del hospedero que mantienen la tasa de crecimiento de los microorganismos en una magnitud tolerable y los microorganismos, suprimiendo la resistencia de la planta lo suficiente, como para permitir la colonización. Es la suma neta de todos sus efectos positivos (a menudo condicionales) (promoción del crecimiento, mejora de la resistencia, etc.) y de todos sus efectos negativos (que invariablemente comprenden el uso de nutrientes, pero también pueden incluir la supresión de ciertas señales de defensa). Esta suma decide si la colonización de una planta por un microorganismo puede considerarse un mutualismo, parasitismo o comensalismo bajo un conjunto definido de condiciones ambientales. Los estudios comparativos futuros deberán identificar los factores que deciden en qué parte de la "línea fina" de parásito a mutualista es más probable encontrar una combinación de endófito-hospedante dada.

Hasta la fecha, en tomate como en muchos otros cultivos hortícolas, la introducción artificial de HE se limita a un grupo restringido de microbios beneficiosos que incluyen especies pertenecientes al género *Sarocladium*, *Beauveria*, *Metarhizium*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Serendipita* (antes *Piriformospora*), *Pochonia*, *Pythium* y *Trichoderma* (93). También se informó que el hongo mejor estudiado, *B. bassiana*, coloniza numerosos cultivos, como maíz, trigo, algodón, soja, tomate, vid, sorgo y cítricos; también reduce la infestación por plagas graves, principalmente larvas

de polilla y pulgones. La presencia de endófitos resultó en una reducción significativa, tanto de la población de plagas como del daño a las plantas en la mayoría de los casos (32).

La investigación en el tema de los endófitos abre amplias posibilidades para el estudio de la interacción planta-endófito y permite explorar su potencial como un sistema alternativo de expresión de genes que confieran resistencia a plagas y enfermedades, sin recurrir al uso de plantas transgénicas. En los hospederos, los endófitos transgénicos pueden ser usados como vehículo para la producción y entrega de productos generados a partir de genes de interés agronómico, cumpliendo funciones protectoras y proporcionando otras ventajas que se reflejen en una mayor productividad de la planta (94). Sin embargo, según estos autores, un factor que limita la implementación de esta herramienta, especialmente en los países en vía de desarrollo, es la falta de investigación y entendimiento de estos microorganismos, ya que actualmente se prioriza el uso de los recursos para la investigación en temas que generan soluciones a corto plazo, dejando de lado el potencial con que cuentan estos microorganismos y sus interacciones.

No obstante, los avances obtenidos y el incremento constante de investigaciones sobre los HE, aún quedan por dilucidar numerosos aspectos. Según Spiridon y Eliopolus (32), es preciso que se investiguen: (a) los mecanismos fisiológicos que utilizan los endófitos para colonizar la planta y si estos mecanismos difieren según el punto de entrada en la planta; (b) si algunos aislados de hongos tienen más éxito como endófitos que otros y el grado en que su cepa determina su tasa de supervivencia dentro de la planta; (c) cómo viajan los hongos endofíticos a la planta, ya sea a través de semillas, conidios del suelo, entre otros; (d) las formas en que las plantas y los insectos que se alimentan son afectados por los endófitos; y (e) las formas en que los endófitos se benefician de las plantas. A pesar de los numerosos estudios sobre endófitos, es cierto que solo se han estudiado muy pocas especies. Se cree firmemente que todavía hay miles de endófitos inexplorados debido a la limitada investigación en este campo. Por lo tanto, existe una necesidad urgente de descubrir y evaluar estas cepas endofíticas desconocidas.

Como se aprecia a través de este artículo de revisión, los hongos endófitos forman con sus hospedantes relaciones bióticas muy complejas e intensas, que en la actualidad no son posibles de comprender totalmente. Los avances de la ciencia sobre la agrupación de esos hongos, de acuerdo a sus efectos sobre las plantas y las combinaciones entre ellos, se consideran insuficientes, debido a la diversidad y complejidad de los mismos. En tal sentido, la introducción de los HE, en combinación con otros agentes de control biológico microbianos o invertebrados, requiere de un conocimiento profundo de las interacciones multitróficas

que se desarrollan en determinado agroecosistema, la influencia de factores abióticos, aspectos referentes a su inoculación (tipo, dosis, frecuencia) que, de no tenerse en cuenta, pueden dar al traste con los efectos deseados.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Proyecto “Microbial uptakes for sustainable management of major banana pests and diseases” (MUSA), financiado por el Programa de Investigación e Innovación de la Unión Europea Horizonte 2020, en virtud del acuerdo de subvención 727624, por la posibilidad de reunir el material necesario para realizar los análisis correspondientes contenidos en este artículo.

## REFERENCIAS

1. Peteira B. La resistencia inducida como alternativa para el manejo de plagas en las plantas de cultivo. *Rev. Protección Veg.* 2020; 35 (1): 1-12.
2. Wafaa MH. Role of entophytic microorganisms in biocontrol of plant diseases. *Life Science Journal.* 2010; 7 (2): 57-62.
3. Stępniewska Z, Kuźniar A. Endophytic microorganisms-promising applications in bioremediation of greenhouse gases. *Appl Microbiol Biotechnol* 2013; 97:9589-9596.
4. Sánchez-Rodríguez AR, Raya-Díaz S, Zamarreño AM, García-Mina JM, del Campillo MC, Quesada-Moraga E. An endophytic *Beauveria bassiana* strain increases spike production in bread and durum wheat plants and effectively controls cotton leafworm (*Spodoptera littoralis*) larvae. *Biological Control.* 2017: 1049-9644. doi: [10.1016/j.biocontrol.2017.01.012](https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2017.01.012).
5. Morales García D. Bioprospección de hongos endófitos para el control biológico del nematodo barrenador *Radopholus similis* (Cobb) Thorn en el cultivo del banano. Trabajo Final de Graduación sometido al Tribunal del Área Académica Agroforestal del Instituto Tecnológico de Costa Rica para optar por el grado de Magister en Gestión de Recursos Naturales y Tecnologías de Producción. Campus Cartago, Costa Rica. 2014, págs.
6. Mishra Y, Singh A, Batra A, Sharma MM. Understanding the biodiversity and biological applications of endophytic fungi: A Review. *J Microb Biochem Technol.* 2014, S8:004. doi: [10.4172/1948-5948.S8-004](https://doi.org/10.4172/1948-5948.S8-004).
7. Yan-Ling Li, Xiao-Ming Xin, Zheng-Yao Chang, Ren-Jiu Shi1, Zeng-Min Miao, Jing Ding, *et al.* The endophytic fungi of *Salvia miltiorrhiza* Bge.f. *alba* are a potential source of natural antioxidants. *Botanical Studies.* 2015; 56 (5): 1-7.

8. Xiang Sun, Liang-Dong Guo. Endophytic fungal diversity: review of traditional and molecular techniques. *Mycology: An International Journal on Fungal Biology*. 2012; 3 (1): 65-76
9. Azevedo JL, Araujo WL. Diversity and applications of endophytic fungi isolated from tropical plants. In: Ganguli BN, Deshmukh SK (eds) *Fungi multifaceted microbes*. Anamaya, New Delh. 2007
10. Dina Pezo Santillan. Bioprotección de *Plukenetia volubilis* L. con el hongo *Trichoderma* sp. para reducir los daños de *Meloidogyne incognita* bajo condiciones de vivero. Tesis para optar el título profesional de ingeniero agrónomo. Universidad nacional de San Martín-Tarapoto, Facultad de Ciencias Agrarias Escuela Profesional de Agronomía. Tarapoto - Perú. 2016, 49 págs.
11. Bandara W, Seneviratne G, Kulasoorya A. Interactions among endophytic bacteria and fungi: effect and potentials. *J Biosci*. 2006; 31: 645-650.
12. Saucedo-García A, Anaya AL, Espinosa-García FJ, González MC. Diversity and communities of foliar endophytic fungi from different agroecosystems of *Coffea arabica* L. in two regions of Veracruz, Mexico. *PLoS ONE*. 2014; 9 (6): e98454. doi:[10.1371/journal.pone.0098454](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0098454).
13. Kumar DSS, Hyde KD. Biodiversity and tissue-recurrence of endophytic fungi in *Tripterygium wilfordii*. *Fungal Diversity*. 2004; 17: 69-90.
14. Macaya-Sanz D, Eugenio M.E, Martín-Sampedro R, Fillat U, Ibarra D, Del Barrio A, et al. Diversidad de hongos endófitos en especies forestales y su posible papel en la defensa de su hospedante y la degradación de la madera. 7mo Congreso Forestal Español. Gestión del Monte: Servicios ambientales y bioeconomía. 26-30 de Junio del 2017, Plasencia Cáceres, Extremadura. Ed. Soc. española de Ciencias Forestales. ISBN 978-84-941695-2-6.
15. Wilberforce EM, Boddy L, Griffiths R, Griffith GW. Agricultural management affects communities of culturable root-endophytic fungi in temperate grasslands. *Soil Biology & Biochemistry*. 2003; 35: 1143-1154.
16. Gómez Krupko M. Aislamiento y evaluación antifúngica de hongos endófitos de *Acalypha gaudieri* Pax y K. Hoffm. [Tesis en opción al título de Maestro en Ciencias Biológicas (Ciencias Biológicas: Opción Biotecnología)]. Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C. 2014. Págs. 99.
17. Rodríguez RJ, White Jr JF, Arnold AE, Redman RS. Fungal endophytes: diversity and functional roles. *New Phytologist* 2009; 182: 314-330. doi: [10.1111/j.1469-8137.2009.02773](https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.02773).
18. Jalgaonwala RE, Vishwas MB, Totaram MR. A review: Natural products from plant associated endophytic fungi. *J Microbiol. Biotech. Res*. 2011; 1 (2): 21-32.
19. Sánchez-Fernández RE, Sánchez-Ortiz BL, Monserrat Sandoval-Espinosa YK, Ulloa-Benítez Á, Armendáriz-Guillén B, García-Méndez MC, et al. Hongos endófitos: fuente potencial de metabolitos secundarios bioactivos con utilidad en agricultura y medicina. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*. 2013; 16 (2):132-146.
20. Saikkonen K, Faeth SH, Helander M, Sullivan TJ. Fungal endophytes: A continuum of interactions with host plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 1998; 29: 319-343.
21. Sánchez MMS. Estudio de la microbiota endofítica asociada a las gramíneas *Dactylis glomerata*, *Holcus lanatus*, *Ammophila arenaria* y *Elymus farctus*. [Tesis en opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias]. Universidad de Salamanca. España. 2009; 272 pág.
22. Gamboa-Gaitán MA. Hongos endófitos tropicales: Conocimiento actual y perspectivas. *Acta Biológica Colombiana*. 2006; 11: 3-20.
23. Lodge DJ. Diversidad mundial y regional de hongos. En: M. Hernández, A García, F. Álvarez y M. Ulloa (Eds.). *Enfoques contemporáneos para el estudio de la biodiversidad*. Ediciones Científicas Universitarias UNAM, México. 2001; 291-304 pág.
24. Suryanarayanan TS, Thirunavukkarasu N, Govindarajulu MB, Sasse F, Jansen R, Murali TS. Fungal endophytes and bioprospecting. *Fungal Biology Reviews*. 2009; 23 (1-2): 9-19.
25. Anteneh Ademe Mengistu. Endophytes: colonization, behaviour, and their role in defense mechanism. *Hindawi International Journal of Microbiology*. 2020; 1-8. Article ID 6927219, <https://doi.org/10.1155/2020/6927219>.
26. Bamisope SB, Akutse KS, Dash CK, Qasim M, Aguila LCR, Ashraf HJ, et al. Effects of seedling age on colonization patterns of *Citrus limon* plants by endophytic *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* and their influence on seedlings growth. *J. Fungi*. 2020; 6 (29): 2-15. doi:[10.3390/jof6010029](https://doi.org/10.3390/jof6010029).
27. González Mas N. Respuesta de *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: Aphididae) y sus enemigos naturales entomófagos a la colonización de plantas de melón por hongos entomopatógenos endófitos. [Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias]. Universidad de Córdoba, Argentina. 2019. 187 págs.
28. Wheatley WM, Kemp HW, Simpson WR, Hume DE, Nicol HI, Kemp DR, et al. Viability of endemic endophyte (*Neotyphodium lolii*) and perennial ryegrass (*Lolium perenne*) seed at retail and wholesale outlets in south-eastern Australia.



- Seed Science and Technology. 2007; 35: 360-370. <https://doi.org/10.15258/sst.2007.35.2.11>.
29. Eaton CJ, Cox MP, Scott B. What triggers grass endophytes to switch from mutualism to pathogenism? *Plant Science*. 2011; 180: 190-195.
30. Hamilton CE, Bauerle TL. A new currency for mutualism? Fungal endophytes alter antioxidant activity in hosts responding to drought. *Fungal Diversity*. 2012; 54: 39-49.
31. Ueno AC. Cambios mediados por el ozono sobre la simbiosis entre pastos y hongos endófitos de transmisión vertical. [Tesis presentada en opción del Grado Científico de Doctor en Ciencias ]. Universidad de Buenos Aires, Área Ciencias Agropecuarias. Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires. 2012;195 págs.
32. Spiridon M, Eliopoulos PA. Endophytic entomopathogenic fungi: A valuable biological control tool against plant pests. *Appl. Sci*. 2020; 10 (360): 1-13. doi:10.3390/app10010360.
33. Ramesh Maheshwari. What is an endophytic fungus? *Current Science*. 2006; 90 (10): 1309.
34. Syed Baker, Satish S. Endophytes: Natural Warehouse of Bioactive Compounds. *Drug Invention Today*. 2012; 4 (11): 548-553.
35. Tayung K, Jha DK. Endophytic fungi as potential sources of bioactive natural products: prospects and challenges. *Rev. Plant Pathol*. 2014; 6: 299-334. r
36. Shashank AT, Rakesh Kumar KL, Ramakrishna D, Kiran S, Kosturkova G, Gokare RA. Current Understanding of Endophytes: Their Relevance, Importance, and Industrial Potentials. *IOSR Journal of Biotechnology and Biochemistry (IOSR-JBB)*. 2017; 3: 43-59. ISSN: 2455-264X
37. VanderMolen KM, Raja HA, El-Elimat T, Oberlies NH. Evaluation of culture media for the production of secondary metabolites in a natural products screening program. *AMB Express*. 2013; 3: 71. Disponible en: <http://www.amb-express.com/content/3/1/71>. Consultado: 1/8/2021
38. Infante D, Martínez B, González N, Reyes Y. Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. *Rev Protección Veg*. 2009; 24 (1): 14-21.
39. Kaul S, Sharma T, Dhar MK. “Omics” tools for better understanding the plant-endophyte interactions. *Front. Plant Sci*. 2016; 7: 955. doi: 10.3389/fpls.2016.00955.
40. Ayomide Emmanuel Fadiji, Oluranti OB. Metagenomics methods for the study of plant-associated microbial communities: A review. *Journal of Microbiological Methods*. 2020; 170: 105860.
41. Souvik Kusari, Hertweck C, Spiteller M. Chemical Ecology of Endophytic Fungi: Origins of Secondary Metabolites. *Chemistry & Biology*. 2012; 19 (7): 792-798.
42. Hardoim PR, van Overbeek LS, Berg G, Pirttilä AM, Compant S, Campisano A, et al. The hidden world within plants: ecological and evolutionary considerations for defining functioning of microbial endophytes. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2015. doi:10.1128/MMBR.00050-14.
43. Muhammad Waqas, Khan AL, Kamran M, Hamayun M, Kang S-M, Kim Y-H, et al. Endophytic fungi produce gibberellins and indoleacetic acid and promotes host-plant growth during stress. *Molecules*. 2012; 17: 10754-10773. doi:10.3390/molecules170910754.
44. Chiang YM, Lee KH, Sanchez JF, Keller NP, Wang CC. Unlocking fungal cryptic natural products. *Natural Product Communications*. 2009; 4 (11): 1505-1510.
45. Bertrand S, Schumpp O, Bohni N, Monod M, Gindro K, Wolfender JL. De novo production of metabolites by fungal co-culture of *Trichophyton rubrum* and *Bionectria ochroleuca*. *Journal of Natural Products*. 2013; 76 (6): 1157-65.
46. Raya-Díaz S, Quesada-Moraga E, Barrón V, del Campillo MC, Sánchez-Rodríguez AR. Redefining the dose of the entomopathogenic fungus *Metarhizium brunneum* (Ascomycota: Hypocreales) to increase Fe bioavailability and promote plant growth in calcareous and sandy soils. *Plant and Soil*. 2017a; 418: 387-404, doi:10.1007/s11104-017-3303-0.
47. Raya-Díaz S, Sánchez-Rodríguez AR, Segura-Fernández JM, del Campillo M C, Quesada-Moraga E. Entomopathogenic fungi-based mechanisms for improved Fe nutrition in sorghum plants grown on calcareous substrates. *PLoS ONE*. 2017b 12: (e0185903). doi: 10.1371/journal.pone.0185903.
48. Barra-Bucarei L, González MG, Iglesias AF, Aguayo GS, Peñalosa MG, Vera PV. *Beauveria bassiana* multifunction as an endophyte: growth promotion and biologic control of *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Hemiptera: Aleyrodidae) in Tomato. *Insects*. 2020; 11: 591; doi:10.3390/insects11090591.
49. Hamilton CE, Gundel PE, Helander M, Saikkonen K. Endophytic mediation of reactive oxygen species and antioxidant activity in plants: A review. *Fungal Diversity*. 2012; 54, 1-10.
50. Santos Cruz J, da Silva CA, Hamerski L. Natural products from endophytic fungi associated with Rubiaceae species. *J. Fungi*. 2020; 6, 128. doi:10.3390/jof6030128.
51. Gaurav Kumar, Chandra P, Choudhary M. Endophytic fungi: a potential source of bioactive compounds. *Chem Sci Rev Lett*. 2017; 6 (24): 2373-2381.
52. Shukla ST, Habbu PV, Kulkarni VH, Jagadish KS, Pandey AR, Sutariya VN. Endophytic microbes: A novel source for biologically/pharmacologically

- active secondary metabolites. Asian Journal of Pharmacology and Toxicology. 2014; 2 (3): 01-16.
53. Mahendra Rai, Rathod D, Agarkar G, Dar M, Brestic M, Pastore GM, *et al.* Fungal growth promotor endophytes: a pragmatic approach towards sustainable food and agriculture. Symbiosis. 2014. DOI [10.1007/s13199-014-0273-3](https://doi.org/10.1007/s13199-014-0273-3).
54. HEMmanuel Ortiz-Espinoza, Villegas-Rodríguez F, Ramírez-Tobías HM, Hernández-Arteaga LE, Marín-Sánchez J. La inoculación con hongos endófitos entomopatógenos en semilla genera una respuesta fisiológica y promueve el crecimiento vegetal en plantas de chile poblano en invernadero. Nova Scientia. 2020; 12 (2): 1-27. [doi.org/10.21640/ns.v12i25.2586](https://doi.org/10.21640/ns.v12i25.2586).
55. González-Marquetti I, Infante-Martínez D, Arias-Vargas Y, Gorrita-Ramírez S, Hernández-García T, de la Noval-Pons BM, *et al.* Efecto de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg sobre indicadores de crecimiento y desarrollo de *Phaseolus vulgaris* L. cultivar BAT-304. Rev. Protección Veg. 2019;34(2) Epub 27-Ago- versión impresa ISSN 1010-2752 versión On-line ISSN 2224-4697
56. Arévalo-Ortega J, Hernández Socorro MA, Lamz Piedra A, Montes de Oca N, Hidalgo-Díaz L. Efecto de *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata* (Goddard) Zare y Gams como endófito facultativo en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Rev. Protección Veg. 2019; 34(2), mayo-agosto, ISSN: 2224-4697
57. Hernández Socorro MA, Arévalo Ortega J, Marrero Roque D, Hidalgo Díaz L. Efecto de Klamic® en la estimulación del crecimiento de vitroplantas de plátanos y bananos Cultivos Tropicales. 2016; 37(4): 168-172.
58. Arévalo Ortega J, Hernández Socorro MA, Alfonso de la Cruz R, Montes de Oca Martínez N, Hidalgo-Díaz L. Validación de *Pochonia chlamydosporia* (Goddard) y Gams en el manejo agronómico de vitroplantas *Musa paradisiaca* L. en fase de adaptación *ex vitro*. Rev. Protección Veg. 2020; 35(2).
59. Bamisile BS, Dash CK, Akutse KS, Keppanar R and Wang L. Fungal Endophytes: Beyond Herbivore Management. Front. Microbiol. 2018; 9: 544. doi: [10.3389/fmicb.2018.00544](https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00544).
60. Hidalgo-Díaz L, Ceiro W. Interacción entre *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata* (Kamyschko ex Barron y Onions) Zare y Gams y *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitwood en tomate en presencia de NaCl. Rev. Protección Veg. 2017; 32(1):76-81.
61. Saikkonen K, Gundel P, Helander M. Chemical ecology mediated by fungal endophytes in grasses. Journal of Chemical Ecology. 2013; 39: 962-968.
62. Spiering MJ, Moon CD, Wilkinson HH, Schardl CL. Gene clusters for insecticidal loline alkaloids in the grass-endophytic fungus *Neotyphodium uncinatum*. Genetics 2005; 169: 1403-1414.
63. Rasmussen S, Parsons AJ, Bassett S, Christensen MJ, Hume DE, Johnson LJ, *et al.* High nitrogen supply and carbohydrate content reduce fungal endophyte and alkaloid concentration in *Lolium perenne*. New Phytologist. 2007; 173: 787-797.
64. Zhang D-X, Nagabhyru P, Schardl CL. Regulation of a chemical defense against herbivory produced by symbiotic fungi in grass plants. Plant Physiology. 2009; 150: 1072-1082.
65. Poveda J, Abril-Urias P, Escobar C. Biological control of plant-parasitic nematodes by filamentous fungi inducers of resistance: *Trichoderma*, mycorrhizal and endophytic fungi. Front. Microbiol. 2020; 11: 992. doi: [10.3389/fmicb.2020.00992](https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00992).
66. Bastías Campos DA. Mecanismos de resistencia a insectos en pastos que forman simbiosis con hongos endófitos. [Tesis presentada en opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias]. Universidad de Buenos Aires, Área Ciencias Agropecuarias. 2018. 96 págs.
67. González-Mas N, Sánchez-Ortiz A, Valverde-García P, Quesada-Moraga E. Effects of endophytic entomopathogenic ascomycetes on the life-history traits of *Aphis gossypii* Glover and its interactions with melon Plants. Insects. 2019; 10: 165; doi:[10.3390/insects10060165](https://doi.org/10.3390/insects10060165).
68. Pcurull M, Fullana AM, Ferro M, Valero P, Escudero N, Saus E, *et al.* Commercial formulates of *Trichoderma* induce systemic plant resistance to *Meloidogyne incognita* in tomato and the effect is additive to that of the *Mi-1.2* resistance gene. Front. Microbiol. 2020; 10: 3042. doi: [10.3389/fmicb.2019.03042](https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.03042).
69. Hernández-Ochandía D, Rodríguez MG, Peteira P, Miranda I, Arias Y, Martínez B. Efecto de cepas de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt y Nirenberg sobre el desarrollo del tomate y *Meloidogyne incognita* (Kofoid Y White) Chitwood. Rev. Protección Veg. 2015; 30(2):139-147.
70. Miranda Cabrera I, Hernández-Ochandía D, Hernández del Amo Y, Martínez Coca B, Rodríguez Hernández MG. Modelación de la interacción *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitwood- *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg en garbanzo (*Cicer arietinum* L.). Rev. Protección Veg. 2016; 31(3):194-200.
71. Simon Kiarie, Johnson ON, Gohole LS., Maniania NK, Subramanian S. Impact of fungal endophyte colonization of maize (*Zea mays* L.) on induced resistance to thrips- and aphid-transmitted viruses. Plants. 2020; 9: 416. doi:[10.3390/plants9040416](https://doi.org/10.3390/plants9040416).

72. González-Mas N, Cuenca-Medina M, Gutierrez-Sanchez F, Quesada-Moraga E. Bottom-up effects of endophytic *Beauveria bassiana* on multitrophic interactions between the cotton aphid, *Aphis gossypii*, and its natural enemies in melon. Journal of Pest Science. 2019. <https://doi.org/10.1007/s10340-019-01098-5>.
73. Muvea AM, Subramanian S, Maniania NK, Poehling H-M, Ekesi S, Meyhöfer R Endophytic colonization of onions induces resistance against viruliferous thrips and virus replication. Front. Plant Sci. 2018; 9: 1785. doi: [10.3389/fpls.2018.01785](https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01785).
74. Sikora RA. Management of the antagonistic potential in agricultural ecosystems for biological control of plant parasitic nematodes. Phytopathology. 1992; 30: 245-270.
75. Zum Felde A. Studies on characteristics of the antagonistic relationship between *Radopholus similis* (Cobb) Thorne and the mutualistic endophytic fungi in Nematode Suppressive Banana Plants (Musa AAA). [Tesis en opción al Grado Científico de Doctro en Ciencias]. Alemania Universidad de Bonn. 2008. 93p.
76. Chaves N. Utilización de bacterias y hongos endofíticos para el control biológico del Nematodo Barrenador *Radopholus similis* (Cobb) Thorn. [Tesis en Opción al Grado Científico de Master en Ciencias]. Turrialba, CR. CATIE. 2007. 85p.
77. Pocasangre LE, zum Felde A, Cañizares C, Riveros AS, Rosales FE, Sikora R. Manejo alternativo de fitonematodos en banano y plátano. In Memorias, XVI reunión internacional de ACORBAT, Oaxaca, MX. 2004. 106-112 págs.
78. Waqas Wakil, Tahir M, Al-Sadi AM, Shapiro-Ilan D. Interactions between two invertebrate pathogens: an endophytic fungus and an externally applied bacterium. Microbiol. 2020. doi.org/[10.3389/fmicb.2020.522368](https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.522368).
79. Bamisope SB, Dash CK, Akutse KS, Qasim M, Aguila LCR, Wang F, et al. Endophytic *Beauveria bassiana* in foliar-treated citrus limon plants acting as a growth suppressor to three successive generations of *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae). Insects. 2019; 10 (176): 1-15. doi:[10.3390/insects10060176](https://doi.org/10.3390/insects10060176).
80. Arévalo J, Martínez B, Hernández MA, Alfonso R, Ynfante D, Hidalgo-Díaz L. Efecto de la aplicación conjunta de *P. chlamydosporia* (Goddard) Zare y Gams y *T. asperellum* Samuels, Lieckfeldt y Nirenberg en vitroplantas de banano (*Musa* sp.). Rev. Protección Veg. 2021; 36(1). E-ISSN: 2224-4697
81. Pell JK, Vandenberg JD. Interactions among the aphid *Diuraphis noxia*, the entomopathogenic fungus *Paecilomyces fumosoroseus* and the coccinellid *Hippodamia convergens*. Biocontrol Sci Techn. 2002; 12: 217-224.
82. Roy HE, Brown P, Rothery P, Ware RL, Majerus MEN. Interactions between the fungal pathogen *Beauveria bassiana* and three species of coccinellid: *Harmonia axyridis*, *Coccinella septempunctata* and *Adalia bipunctata*. Biocontrol. 2008; 53:265-276.
83. Portilla M, Snodgrass G, Luttrell R. Lethal and sub-lethal effects of *Beauveria bassiana* (Cordycipitaceae) strain NI8 on *Chrysoperla rufilabris* (Neuroptera: Chrysopidae). Florida Entomologist. 2017;100 (3):627-633.
84. Oreste M, Bubici G, Polisenio M, Tarasco E. Effect of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* on the *Trialeurodes vaporariorum* - *Encarsia formosa* system. J Pest Sci. 2016; 89:153-160. doi:[10.1007/s10340-015-0660-4](https://doi.org/10.1007/s10340-015-0660-4).
85. Shrestha G, Enkegaard A, Reddy GVP, Skovgard H, Steenberg T. Susceptibility of larvae and pupae of the aphid parasitoid *Aphelinus ribisnigri* (Hymenoptera: Aphelinidae) to the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. Annals of the Entomological Society of America. 2017; 110 (1):121-127. doi: [10.1093/aesa/saw066](https://doi.org/10.1093/aesa/saw066).
86. Ríos-Moreno A, Quesada-Moraga E, Garrido-Jurado I. Treatments with *Metarhizium brunneum* BIPESCO5 and EAMa 01/58-Su strains (Ascomycota: Hypocreales) are low risk for the generalist predator *Chrysoperla carnea*. J Pest Sci 2018; 91:385-394.
87. González-Mas N, Cuenca-Medina M, Gutiérrez-Sánchez F, Quesada-Moraga E. Bottom-up effects of endophytic *Beauveria bassiana* on multitrophic interactions between the cotton aphid, *Aphis gossypii*, and its natural enemies in melon. Journal of Pest Science. 2019. doi.org/[10.1007/s10340-019-01098-5](https://doi.org/10.1007/s10340-019-01098-5).
88. Zum Felde A, Pocasangre LE, Cañizares Monteros CA, Sikora RA, Rosales FE, Riveros AS. Effect of combined inoculations of endophytic fungi on the biocontrol of *Radopholus similis*. Info Musa. 2006; 15 (1-2).
89. Castro López MA, Martínez Osorio JW. Compatibility of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* with *Chrysoperla externa* depredator of *Trialeurodes vaporariorum*. Chilean J. Agric. Anim. Sci., ex Agro-Ciencia. 2019; 35 (1): 38-48.
90. Canassa F, Tall S, Moral RA, de Lara IAR, Delalibera Jr.I, Meyling NV. Effects of bean seed treatment by the entomopathogenic fungi *Metarhizium robertsii* and *Beauveria bassiana* on plant growth, spider mite populations and behavior of predatory mites. Biological Control. 2019; 132: 199-208.
91. Scorsetti AC, Pelizza S, Fogel MN, Vianna F, Schneider MI. Interactions between the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* and the Neotropical predator *Eriopis connexa*

- (Coleoptera: Coccinellidae): Implications in biological control of pest. *Journal of Plant Protection Research*. 2017; 57 (4): 389-395. doi: [10.1515/jppr-2017-0053](https://doi.org/10.1515/jppr-2017-0053).
92. Martin Heil. The Microbe-Free Plant: Fact or Artifact. Cap. 114. En: *Biological Nitrogen Fixation, Volume 2*, First Edition. Edited by Frans J. de Bruijn. Published 2015 by John Wiley & Sons, Inc. 2015: 1163-1174.
93. Sinno M, Ranesi M, Gioia L, d'Errico G, Woo SL. Endophytic fungi of tomato and their potential applications for crop improvement. *Agriculture*. 2020; 10(587): 1- 20. doi: [10.3390/agriculture10120587](https://doi.org/10.3390/agriculture10120587).
94. Abello JF, Kelemu S. Hongos endófitos: ventajas adaptativas que habitan en el interior de las plantas. *Revista Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*. 2006; 7 (2):55-57.

**Declaración de conflicto de intereses:** Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

**Contribución de los autores:** **Belkis Peteira Delgado:** generó la idea y elaboró el artículo desde la búsqueda de la bibliografía hasta su versión final. **Jersys Arévalo Ortega:** revisión del documento final y aporte de los datos referentes a los trabajos realizados con *Pochonia chlamydosporia* por el grupo que confeccionó el artículo. **Danay Ynfante Martínez:** revisión del documento final y aporte de los datos referentes a los trabajos realizados con *Trichoderma asperellum* por el grupo que confeccionó el artículo. **Benedicto Martínez Coca:** discutió y enriqueció la idea original y revisó el artículo y aportó conocimientos especializados de Micología Vegetal.

Este artículo se encuentra bajo licencia [Creative Commons Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional \(CC BY-NC 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)