SCIENTIA AGROPECUARIA

Scientia Agropecuaria

Web page: http://revistas.unitru.edu.pe/index.php/scientiaagrop

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Universidad Nacional de Trujillo

RESEARCH ARTICLE

Strains of *Akanthomyces uredinophilum*, *Simplicillium lanosoniveum*, and *Trichoderma* spp. exhibit high endophytic activity and induce improved growth of coffee plants

Cepas de *Akanthomyces uredinophilum*, *Simplicillium lanosoniveum* y *Trichoderma* spp. presentan alta actividad endófita e inducen un mejor crecimiento de plantas de café

Juana Margarita Martínez-de-Jesús[1]; Roberto Montesinos-Matias[3]; Edgar Martínez-Fernandez[2] Oscar Gabriel Villegas-Torres[2]; Guadalupe Peña-Chora[2]; María Andrade-Rodríguez[2] *

[1] Posgrado en Ciencias Agropecuarias y Desarrollo Rural, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Av. Universidad 1001, Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, C.P. 62209. México.

[2] Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Facultad de Ciencias Agropecuarias. Av. Universidad 1001, Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, C.P. 62209. México.

[3] Departamento de Control Biológico, Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria, DGSV-SENASICA, km 1.5 Carretera Tecomán-Estación FFCC, Col. Tepeyac, C.P. 28110. México.

* Corresponding author: maria.andrade@uaem.mx (M. Andrade-Rodríguez).

Received: 13 December 2024. Accepted: 9 May 2025. Published: 25 May 2025.

Abstract

The cultivation of coffee (*Coffea arabica* L.) is affected by rust (*Hemileia vastatrix*), causing losses of over 70% in production. The use of endophytic fungi is a biological strategy for disease control. The objective of this study was to evaluate the endophytic activity of 14 fungal strains and their effect on the growth of coffee plants var. Caturra. Coffee seeds were inoculated with a concentration of 1×10^6 conidia mL^{-1} of water, planted and organized in a completely randomized experimental design, with three repetitions of eight plants per strain. At 30, 60, and 120 days after seedling emergence, samples of five leaf segments per plant, 5 mm in diameter, were taken to evaluate endophytic activity. The start of fungal growth (days), initial fungal growth (%) and total fungal growth (%) were recorded. To evaluate the effect of fungal strains on the growth of coffee plants, plant height, stem diameter, number of leaves, leaf pairs, number of branches and chlorophyll content index were evaluated. Analysis of Variance and Tukey's mean separation test ($p \leq 0.05$) were performed. Three strains of *A. uredinophilum* (CHE-CNRCB 435, 616, and 988), two of *S. lanosoniveum* (CHE-CNRCB 438 and 544), and three of *Trichoderma* (CHE-CNRCB 398, 1057, and 1062) showed endophytic activity higher than 70%. The three *Trichoderma* spp. strains induced better growth in coffee plants.

Keywords: *Coffea arabica*; endophytic fungi; plant growth; disease.

Resumen

El cultivo de café (*Coffea arabica* L.) es afectado por la roya (*Hemileia vastatrix*) que causa pérdidas de más del 70% en la producción, el uso de hongos endófitos es una estrategia biológica para el control de enfermedades. El objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad endófita de 14 cepas de hongos y su efecto en el crecimiento de plantas de café var. Caturra. Se inocularon semillas de café con una concentración de 1×10^6 conidios mL^{-1} de agua, se sembraron y organizaron en diseño experimental completamente al azar, tres repeticiones de ocho plantas por cepa. A los 30, 60 y 120 días después de la emergencia de plántulas, se tomaron muestras de cinco segmentos de hoja por planta, de 5 mm de diámetro y se evaluó la actividad endófita, se registró inicio de crecimiento del hongo (días), crecimiento inicial del hongo (%) y crecimiento total del hongo (%). Para evaluar el efecto de las cepas de hongo en el crecimiento de las plantas de café se evaluaron altura de planta, diámetro de tallo, número de hojas, pares de hojas, número de ramas e índice de contenido de clorofila. Se realizó análisis de varianza y prueba de separación de medias Tukey ($p \leq 0,05$). Tres cepas de *A. uredinophilum* (CHE-CNRCB 435, 616 y 988), dos de *S. lanosoniveum* (CHE-CNRCB 438 y 544) y tres de *Trichoderma* (CHE-CNRCB 398, 1057 y 1062) presentaron actividad endófita mayor al 70%; las tres cepas de *Trichoderma* spp., indujeron mejor crecimiento de plantas de café.

Palabras clave: *Coffea arabica*; hongos endófitos; crecimiento de plantas; enfermedad.

DOI: https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2025.028

Cite this article:
Martínez-de-Jesús, J. M., Montesinos-Matias, R., Martínez-Fernandez, E., Villegas-Torres, O. G., Peña-Chora, G., & Andrade-Rodríguez, M. (2025). Cepas de *Akanthomyces uredinophilum*, *Simplicillium lanosoniveum* y *Trichoderma* spp. presentan alta actividad endófita e inducen un mejor crecimiento de plantas de café. *Scientia Agropecuaria*, *16*(3), 385-395.

1. Introducción

El café (*Coffea arabica* L.) es un cultivo importante desde el punto de vista económico y social, ya que genera empleos (directos e indirectos) y divisas. Los principales productores son Brasil, Vietnam, Colombia, Indonesia, Etiopía y Uganda. La producción mexicana de café cereza fue en promedio de 1,058,862,35 toneladas (t) en 2023; Chiapas fue el principal estado productor, aportó 391,956,99 t, seguido por Veracruz con 253,781,12 t y Puebla 223, 603,15 t (SIACON, 2024).

Al igual que otros cultivos, el café es susceptible a plagas y enfermedades, favorecidas por los cambios de temperatura, humedad relativa y ubicación geográfica en la que se encuentran las zonas de producción. La roya del café (*Hemileia vastatrix*) es una de las enfermedades de mayor importancia económica en el cultivo del café, dado que causa caída prematura de las hojas, así como secado de ramas, lo que causa pérdidas superiores al 50% en la cosecha. (Aristizábal & Jonhson, 2022). Esta enfermedad esta presente en la mayoría de las zonas productoras de café en México (SENASICA, 2022), ocasionando perdidas del 70% de la producción, que se estima en más de 30.000 millones de dólares por año por la caída de los precios, la roya y la falta de inversión (INFOBAE, 2024). Además de la limitación de la producción del café, la actual epidemia de roya en América Latina representa una crisis socioecológica, como ocurre en México, el mayor productor de café orgánico (Libert et al., 2020).

Los hongos endófitos se definen como microorganismos que pasan la mayor parte o todo su ciclo de vida colonizando los tejidos de la planta hospedera, sin causar un daño evidente, incluso en algunos casos son necesarios para la sobrevivencia de las especies vegetales (Collinge et al., 2022; Ortega et al., 2020); son un grupo muy diverso de microorganismos que habitan en varias partes de las plantas, ayudando en sus mecanismos de defensa bioquímica contra enfermedades; producen enzimas proteasa, xilanasa, amilasa y celulasa así como promotores del crecimiento (ácido indol-3-acético) (Suebrasri et al., 2020). En la planta, inducen aumento de la actividad fotosintética y la transpiración, la protegen contra patógenos mediante la inducción de las respuestas de defensa sistémicas y la síntesis de metabolitos con actividad biológica, que repelen o propician la muerte de los organismos plaga (Fontana et al., 2021). Muchos hongos entomopatógenos actúan como endófitos, colonizando tejidos de la planta sin causar un daño aparente, promoviendo el crecimiento vegetal, mejorando la productividad y la vitalidad de la planta (Geisen et al., 2017). La mayoría de los hongos endófitos pertenecen al *phylum* Ascomycota, aunque también se han encontrado en los Basidiomycota, Zygomycota y Oomycota (Rosa et al., 2012).

Dentro de los grupos antes mencionados, existe evidencia que hongos como *Akanthomyces*, *Collecotricum*, *Simplicillium*, *Trichoderma*, entre otros, son controladores de la roya del café (*H. vastatrix*) hongos como *Simplicillium* y *Akanthomyces* reportan del 68% al 89% de efectividad a partir de las 24 h posteriores a la inoculación, ya que pueden permanecer latentes en el suelo hasta por un año (Jackson et al., 2012), lo que asegura la sobrevivencia y el establecimiento de relaciones ecosistémicas entre el hongo endófito y la roya del café (Vandermeer et al., 2009). Los hongos funcionan como promotores del crecimiento vegetal, son microorganismos residentes en la rizósfera de las plantas, y se les conoce por mejorar los mecanismos de defensa y el crecimiento de ellas (Parra, 2023). Mamani-Huayhua et al. (2021) investigaron cinco cepas de *Trichoderma* sp. para el control de la roya del café y reportaron que la cepa TE-1 fue la más eficaz para reducir la incidencia de la enfermedad (35,8%) y también mejoró el crecimiento de las plantas.

En los últimos años se ha implementado el desarrollo de productos con base biotecnológica como biofungicidas, bactericidas y la aplicación de metabolitos naturales, los cuales son inocuos para el ser humano y no presentan efectos ambientales (Castillo et al., 2022). La agricultura involucra consecuencias negativas, principalmente con la disminución de la biodiversidad, aparición de plagas resistentes, desequilibrios en los agroecosistemas y efectos perjudiciales en el medio ambiente. Ante esto, se ha propuesto la aplicación de bioinsumos formulados con técnicas biotecnológicas a partir de microorganismos, plantas, compuestos y extractos de estos; capaces de mejorar el rendimiento y sanidad de los cultivos (Rosales-Castillo et al., 2025). Considerando el grado de afectación que provoca la roya del café en la cafeticultura, tanto nacional como internacional, así como la necesidad de generar una alternativa sustentable de control para esta enfermedad, la presente investigación tuvo como objetivo, inocular semillas de café (*C. arabica*) var. Caturra con cepas de los hongos *Akanthomyces uredinophilum*, *Simplicillium lanosoniveum* y *Trichoderma* spp., para determinar su actividad endófita durante la etapa de plántula, así como evaluar su efecto en el crecimiento de las plantas y para seleccionar algunas cepas con base en la actividad endófita y su efecto benéfico en el crecimiento de la planta.

2. Metodología

El estudio se realizó en laboratorio y en un invernadero tipo túnel en Cuernavaca, Morelos, México; ubicado a una latitud de 18° 98' 27''- 18° 86' 42'' N, longitud de 99° 23' 18''- 99° 94' 15'' O y una elevación de 1540 m, durante los meses de marzo 2023 a septiembre 2024.

Se utilizaron 14 cepas, siete de *Akanthomyces uredinophilum*, tres de *Simplicillium lanosoniveum* y cuatro de *Trichoderma* spp. (Tabla 1), provenientes de la colección de Hongos Entomopatógenos del Centro Nacional de Referencia de Control Biológico (CHE-CNRCB) (https://www.gob.mx/senasica/documentos/coleccion-de-hongos-entomopatogenos), Tecomán, Colima México.

2.1 Preparación del inóculo

Las cepas fueron cultivadas en cajas Petri en medio ADS (Agar Dextrosa Sabouraud, Bioxon®) y se incubaron por 10 días a 25 °C. Transcurrido este tiempo en cada cepa se preparó una suspensión ajustada a 1×10^6 conidios mL^{-1}, con agua destilada estéril. Antes de inocular las semillas, se realizó una prueba de germinación de conidios, para estimar su viabilidad. Para ello, se tomaron 20 µL de una dilución 10^{-4} y se cultivaron en medio ADS por 24 h, a 25 °C. Se eligieron sistemáticamente cuatro puntos en las cajas Petri y se realizó conteo de los conidios (mínimo 100), donde se consideraron aquellos que desarrollaron el tubo germinativo de longitud mayor o igual al doble del grosor del conidio (considerados como conidios germinados) (Sandoval & Noelting, 2011). Finalmente, el porcentaje se calculó a partir de la fórmula 100 × número de conidios germinados/número total de conidios examinados. La inmersión de las semillas, se realizó 4 h después de la preparación del inóculo, se utilizaron las 14 cepas de los tres géneros de hongo (Tabla 1) y el testigo solo se asperjó con agua destilada estéril.

2.2 Obtención e inoculación de las semillas

Las semillas de café utilizadas fueron *Coffea arabica*, var. Caturra (450 semillas), cosechadas de frutos de cafetos de 2 años, localizados en Ocuituco, Morelos, México. Los frutos se desinfectaron con cloro comercial al 3% durante 30 min en una charola, se escurrieron y se secaron con toallas de papel a temperatura ambiente y se les retiró la pulpa. Después, las semillas se dejaron secar en una charola durante ocho días y se les retiró el endocarpo. Para la inoculación, las semillas se pusieron en imbibición con agua durante 48 h, en tubos Falcón de 50 mL (30 semillas por tubo) se retiró el agua de imbibición y se agregaron 10 mL de la suspensión con 1×10^6 conidios mL^{-1}, de cada una de las cepas, se dejaron en incubación durante 30 min y posteriormente se procedió a sembrar.

Tabla 1
Origen de las cepas *A. uredinophilum*, *S. lanosoniveum* y *Trichoderma* spp., utilizadas en la investigación

Acrónimo CHE-CNRCB	Cepa	Huésped/Hospedero	Origen Geográfico
435	*Akanthomyces uredinophilum*	*H. vastatrix*/Cafeto	Pico de Loro, Unión de Juárez, Chiapas. 15° 03' 596" N, 092° 05' 720" W
581	*Akanthomyces uredinophilum*	*H. vastatrix*/Cafeto	Cumbres de Huicicila, Compostela Nayarit 21°18'05.8"N 105°01'20.6"W
584	*Akanthomyces uredinophilum*	*H. vastatrix*/Cafeto	El Cuarenteño, Xalisco, Nayarit, 21° 27.731 N 105° 01.672 W
615	*Akanthomyces uredinophilum*	*H. vastatrix*/Cafeto	Jabalí, Comala, Colima. 19° 26940' N, -103° 41740' W
616	*Akanthomyces uredinophilum*	*H. vastatrix*/Cafeto	Jabalí, Comala, Colima. 19° 26940' N, -103° 41740' W
985	*Akanthomyces uredinophilum*	*H. vastatrix*/Cafeto	Guadalupe Barreal, Córdoba, Veracruz. 18°55'59.1"N 96°57'22.4"W
988	*Akanthomyces uredinophilum*	*H. vastatrix*/Cafeto	Nuevo Naranjal, Villa de Álvarez, Colima. 19°24'00.9"N 103°40'13.6"W
373	*Simplicillium lanosoniveum*	*Diaphorina citri* (ninfa)/Limón	Cualatilla, Armeria, Colima, México. 19°01052'N, 109°0160'W
438	*Simplicillium lanosoniveum*	*H. vastatrix*/Cafeto	San José de Loro, Unión de Juárez. Chiapas. 15°03'596''N, 092°05'720''W
544	*Simplicillium lanosoniveum*	*H. vastatrix*/Cafeto	Canoas, Manzanillo, Colima. México. 19° 22' N -104° 11' W
344	*Trichoderma citrinoviride*	Endófito/Maíz	Tecomán, Colima, México. 18.927191°N, -103.883900°W
398	*Trichoderma longibrachiatum*	Endófito/Maíz	Tecomán, Colima, México. 18.927191°N, -103.883900°W
1057	*Trichoderma brevicompactum*	Suelo/Aguacate	Piedra rajada, Colima. México
1062	*Trichoderma harzianum*	Suelo/Aguacate	Guardián, Colima, México

2.3 Siembra de semillas de café

En la siembra se utilizaron 15 charolas de plástico negro con 50 cavidades, se llenaron con sustrato húmedo Sunshine Mix 3®, se colocó una semilla por cavidad a 2 cm de profundidad, se aplicó riego cada 2 días. Se establecieron 30 semillas por cada tipo de cepa inoculada y el testigo, que consistió en agregar solo agua destilada estéril. Las plántulas se cuidaron y se realizó el seguimiento agronómico correspondiente.

2.4 Actividad endófita

La evaluación de la actividad endófita se realizó a los 30, 60 y 120 días después de la emergencia de plántulas; de las 30 plántulas emergidas se obtuvieron tres repeticiones (de ocho plántulas) por cada una de las 14 cepas y para el testigo (Figura 1).

En la primera evaluación, se cortó una hoja cotiledonar de cada plántula; las hojas se trasladaron al laboratorio y se colocaron en vasos de precipitado de 250 mL, en condiciones de esterilidad. Se aplicó un tren de lavado superficial con agua destilada estéril para eliminar partículas de polvo, tierra y cualquier otro contaminante que pudiese interferir en el procedimiento de desinfección. Después, las hojas se colocaron en otro vaso de precipitado de 250 mL que contenía agua destilada estéril con cloro al 3%, se agitó manualmente por 2 min. Posteriormente, las hojas se pasaron a otro vaso de precipitado de 250 mL con una solución de cloro al 1%, se mantuvo en agitación manual por 2 min. Finalmente, se desechó la solución de cloro y se efectuaron dos lavados más con abundante agua destilada estéril, con agitación manual por un 1 min cada uno. Una vez concluido el proceso de desinfección, las hojas se colocaron sobre papel estéril para eliminar el exceso de agua. La efectividad del proceso de desinfección de las hojas, se evaluó tomando una alícuota de 20 µL del agua del último enjuague y se inoculó en el medio de cultivo ADS en cajas Petri, una vez que se absorbió el agua inoculada, se sellaron las cajas con Parafilm® y se incubaron a 25 °C, éstas se revisaron periódicamente y se comprobó que no hubo crecimiento de microorganismos. De cada hoja desinfectada, se obtuvieron cinco fragmentos de 5 mm de diámetro aproximadamente, los cinco cortes de cada hoja se colocaron en cada caja Petri (90 mm), con medio de cultivo ADS, se sellaron y se incubaron a 25 °C. Las cajas se revisaron diariamente y se re aislaron los hongos endófitos que se desarrollaron (endófitos, epífitos y contaminantes).

Para identificar los hongos presentes en las cajas de cultivo, se realizaron montajes en portaobjetos con una gota de agua destilada y azul de metileno para observar al microscopio óptico (40 ×). Las observaciones para cada hongo se efectuaron durante distintos tiempos de incubación, con la finalidad de determinar la presencia de estructuras reproductivas, características de cada género de hongo en estudio. La identificación final se basó en la comparación de las observaciones realizadas con las descripciones de las claves reportadas por Barnett & Hunter (1972) y Dugan (2017).

Figura 1. Secuencia de obtención de microorganismos endófitos e identificación de hongos aislados.

Se observaron características macroscópicas (color y textura de la colonia) así como estructuras microscópicas (forma de conidios, micelio e hifas), considerando las características morfológicas propias de cada tipo de hongo en estudio. Las plántulas de cafeto fueron re-inoculadas con cada cepa a los 55 días después de la emergencia. La aplicación se realizó primero al sustrato, agregando 10 mL con la suspensión de 1×10^6 conidios mL^{-1} y después se inoculó toda la planta mediante aspersión con un airbrush (Windstorm, AC-101) (Tall & Meyling, 2018).

2.5 Trasplante

Posterior a la inoculación se realizó el trasplante a macetas de 8", el sustrato fue una mezcla de composta y tezontle (3:1), en cada maceta se colocó una plántula con dos hojas verdaderas. Se trasplantaron 24 plántulas por tratamiento. Desde la emergencia de plántulas hasta el trasplante, se aplicó fertilización cada 15 días, ajustándose a las necesidades del cultivo (Ramírez & Cerda, 2021).

La segunda evaluación de la presencia de endófitos en las hojas de los cafetos se realizó 30 días después de re-inocular las plántulas y la tercera se efectuó 120 días después de la segunda; se siguió la misma metodología descrita en la primera evaluación.

2.6 Diseño experimental y variables evaluadas

La investigación se estableció en un diseño experimental completamente al azar para estudiar 14 cepas de hongos: *A. uredinophilum*, *S. lanosoniveum* y *Trichoderma* spp., así como un testigo (sin aplicación de hongo). Se colocaron tres repeticiones por tratamiento (cepa de hongo), con ocho plántulas por repetición. El experimento en invernadero se mantuvo de marzo del 2023 a octubre del 2024. Se evaluó la actividad endófita en tres momentos (30, 60 y 120 días), expresada en tres variables: 1) inicio de crecimiento del hongo (días), 2) crecimiento inicial del hongo (%) y 3) crecimiento total del hongo endófito (%). Un año después de haber re-inoculado las plántulas de cafeto con las cepas de los 14 hongos en el invernadero, se evaluó el crecimiento de las plantas mediante la medición de altura de planta, con cinta métrica; diámetro del tallo, con vernier digital Truper®; y el conteo de número de pares de hojas, número total de hojas, número de ramas y contenido de clorofila (CCI), con medidor de clorofila (Apogee MC-100).

2.7 Análisis estadístico

Los datos obtenidos en todas las variables se estudiaron mediante análisis de varianza (ANOVA) y se realizó la prueba de separación de medias Tukey ($p \leq 0,05$), con el paquete estadístico SAS® v. 9.2 (S.A.S, 1995). De igual forma, se utilizó el método estadístico multivariado de análisis de componentes principales (ACP), para investigar la correlación de las variables de crecimiento de plantas de cafeto, se utilizó el software IBM SPSS Statistics versión 27.

3. Resultados y discusión

3.1 Crecimiento de los hongos endófitos

En las tres fechas de evaluación, el análisis de varianza mostró efecto altamente significativo de las cepas estudiadas ($p \leq 0,01$), sobre las tres variables de crecimiento de los hongos endófitos, razón por la cual se presentan las pruebas de comparación de medias de las diferentes cepas.

Los resultados de la actividad endófita se presentan en la Tabla 2, donde se observa el desarrollo de las cepas. En la primera evaluación, el crecimiento de las cepas en el medio de cultivo se presentó a partir de las 24 h; en la segunda evaluación fue de 1,62 días, en tanto que en la tercera fue a los 1,5 días. La diferencia en inicio de crecimiento fue a nivel de cepa, en la primera evaluación la actividad endófita comenzó primero en la cepa CHE-CNRCB 438 de *S. lanosoniveum*, seguido de la CHE-CNRCB 373, *A. uredinophilum* CHE-CNRCB 435 y por *T. citrinoviride* CHE-CNRCB 344. Por el contrario, las que tardaron en iniciar su crecimiento fueron *A. uredinophilum* CHE-CNRCB 985 y CHE-CNRCB 584. En la segunda evaluación no hubo diferencias entre cepas y a los 120 días hubo diferencia mínima. El efecto de los hongos endófitos para el biocontrol de enfermedades causada por fitopatógenos ha sido ampliamente estudiado (De Silva et al., 2019; Rojas et al., 2020). El enfoque general hasta ahora ha consistido en el uso de los hongos endófitos como inóculo para las plantas, estudiando la posible respuesta simbiótica frente a la presencia del patógeno objetivo. De esta forma, el uso directo del inóculo en las semillas permitió observar variación en el inicio del crecimiento de las cepas establecidas en los segmentos de las hojas. De acuerdo con los resultados, en promedio de las tres evaluaciones, *Simplicillium* fue el que tardó menos tiempo en crecer en el medio de cultivo, con un crecimiento inicial de 31,65%.

En el caso de *Akanthomyces*, el inició de crecimiento ocurrió a los 1,75 días; similar a *Trichoderma* spp. Rodrigo et al. (2017) explican que la aplicación directa de los hongos puede generar efecto de protección sobre las plantas inoculadas y cultivadas en invernadero. El crecimiento inicial del hongo en los segmentos de hoja de café varió de 15,8% a 57,5% en la primera evaluación; siete cepas tuvieron crecimiento inicial en más del 30 % de los

segmentos de hoja, tanto en la primera como en la segunda evaluación (Tabla 2); de éstos, *S. lanosoniveum* (CHE-CNRCB 438) y *T. longibrachiatum* (CHE-CNRCB 398) fueron los que crecieron más en las dos primeras evaluaciones, incluso en la segunda evaluación crecieron 30% más que el promedio de las 14 cepas. *T. longibrachiatum* (CHE-CNRCB 398) mantuvo un crecimiento inicial alto en los segmentos de hoja en las tres evaluaciones. En la tercera evaluación se registró una menor diferencia en el crecimiento inicial de los hongos de las 14 cepas, independientemente del género; solo *T. longibrachiatum* CHE-CNRCB 398 tuvo crecimiento en 55,1% de los segmentos de hoja, el doble del promedio del crecimiento de las 14 cepas (Tabla 2); en esta evaluación, la mayoría de las cepas crecieron menos que a los 60 días.

Suebrasri et al. (2020) indican que los hongos endófitos producen enzimas proteasa, xilanasa, amilasa y celulasa, que pueden contribuir a su interacción con la planta; la protegen contra patógenos mediante la inducción de las respuestas de defensa sistémicas y la síntesis de metabolitos con actividad biológica, que repelen o propician la muerte de los organismos plaga (Fontana et al., 2021).

El crecimiento de los hongos endófitos en las hojas de café se mantuvo constante en la evaluación a los 60 y 120 días después de haber sido inoculados, lo que indica que se pueden mantener en los tejidos. Esta variación permitió seleccionar aquellas cepas que tienen mejor capacidad para establecerse como endófito en los tejidos de las plantas de café, así como la mayor velocidad de crecimiento en el medio de cultivo; lo cual coincide con lo señalado por Coa-Urbaez et al. (2014), que realizaron tres aplicaciones al sustrato y una dirigida al follaje en plántulas de café; la primera aplicación fue al momento del trasplante, la segunda y tercera aplicación cada treinta días, rociadas al sustrato con 200 mL de la suspensión.

En esta investigación, seis cepas presentaron mayor actividad endófita: *S. lanosoniveum* cepas CHE-CNRCB 544, *A. uredinophilum* cepas CHE-CNRCB 435 y 988 así como las cepas de *T. citrinoviride*, *longibrachiatum* y *brevicompactum* CHE-CNRCB 398, 1057 y 1062.

Los hongos de *A. uredinophilum*, *S. lanosoniveum* y *Trichoderma* spp., inoculados en las semillas de café lograron establecerse en las hojas de las plántulas de café (Figura 2). En la primera evaluación, las cepas que tuvieron mayor crecimiento total fueron *T. citrinoviride* y *T. longibrachiatum* (CHE-CNRCB 344 y 398), con 97,5% y 90% respectivamente. Sin embargo, en la segunda evaluación fueron *T. longibrachiatum* y *T. harzianum*, los que tuvieron mayor presencia en los segmentos de hoja de café (90% y 87,5%), seguidas por CHE-CNRCB 544 de *S. lanosoniveum*, CHE-CNRCB 435 de *A. uredinophilum*.

Tabla 2
Crecimiento *in vitro* de 14 cepas de los hongos *A. uredinophilum*, *S. lanosoniveum* y *Trichoderma* spp., evaluados a los 30, 60 y 120 días después de la emergencia de plántulas de café

Cepa / Hongo		Inicio de crecimiento (días)			Crecimiento inicial de la cepa (%)			Crecimiento total del hongo (%)		
		30	60	120	30 d	60 d	120 d	30 d	60 d	120 d
Testigo agua destilada		0,0 f	0,0 b	0,0 b	0,0 h	0,0 e	0,0 c	10 k	12,5 j	14,1 f
435	*A. uredinophilum*	1,29 de	1,62 a	31,6 d	31,6 d	32,5 b	32,5 b	62,5 ef	85,0 abc	82,5 ab
581	*A. uredinophilum*	1,37 bcd	2,04 a	28,3 de	28,3 de	24,1 b	24,1 b	51,6 g	57,5 gh	55,8 de
584	*A. uredinophilum*	1,80 a	2,33 a	17,5 g	17,5 g	24,1 b	24,1 b	25,0 i	57,5 gh	55,8 de
615	*A. uredinophilum*	1,33 cde	2,29 a	28,3 de	28,3 de	25,8 b	25,8 b	52,5 g	65,0 f	64,1 cd
616	*A. uredinophilum*	1,64 ab	1,87 a	24,1 ef	24,1 ef	30,0 b	30,0 b	33,3 h	80,8 cd	71,6 bcd
985	*A. uredinophilum*	1,86 a	2,37 a	20,0 fg	20,0 fg	23,4 b	23,4 b	33,3 h	44,1 i	40,7 e
988	*A. uredinophilum*	1,58 abc	1,87 a	39,1 c	39,1 c	32,5 b	32,5 b	65,8 e	83,3 bcd	76,6 abc
Promedio		1,55	2,05	1,64	33,5	30,2	27,4	46,2	67,6	63,8
373	*S. lanosoniveum*	1,29 de	1,91 a	42,5 bc	42,5 bc	24,1 cd	21,6 b	84,1 c	62,5 fg	60,0 cd
438	*S. lanosoniveum*	1,08 e	2,08 a	57,5 a	57,5 a	60,0 a	21,6 b	89,1 b	72,5 e	70,8 bcd
544	*S. lanosoniveum*	1,66 abc	1,70 a	15,8 g	15,8 g	32,5 bcd	29,1 b	20,0 j	85,8 abc	82,5 ab
Promedio		1,34	1,89	1,58	38,6	38,8	24,1	64,4	69,5	71,1
344	*T. citrinoviride*	1,16 de	2,04 a	43,6 bc	43,6 bc	22,5 d	20,8 b	97,5 a	54,1 h	56,6 de
398	*T. longibrachiatum*	1,33 cde	2,04 a	46,6 b	46,6 b	60,0 a	55,1 a	90,0 a	90,0 a	90,3 a
1057	*T. brevicompactum*	1,33 cde	2,25 a	28,3 de	28,3 de	36,6 bcd	30,1 b	60,0 f	77,5 de	73,9 abc
1062	*T. harzianum*	1,66 a	2,16 a	31,6 d	31,6 d	40,8 b	34,1 b	76,6 d	87,5 ab	84,1 ab
Promedio		1,37	2,12	1,72	37,52	39,97	35,0	81,0	77,2	76,2
Promedio general		1,35	1,90	1,61	30,3	30,1	27,2	56,1	66,8	66,0
DMSH ($p \leq 0,05$)		0,29	0,8	0,61	5,5	15,5	17,3	4,04	5,96	16,77
C.V. (%)		7,1	14,1	12,6	6,1	17,2	21,3	2,4	2,9	8,5

D: Días; DMSH: Diferencia mínima significativa honesta; C.V.: Coeficiente de variación.
Medias con la misma letra son estadísticamente iguales de acuerdo con la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

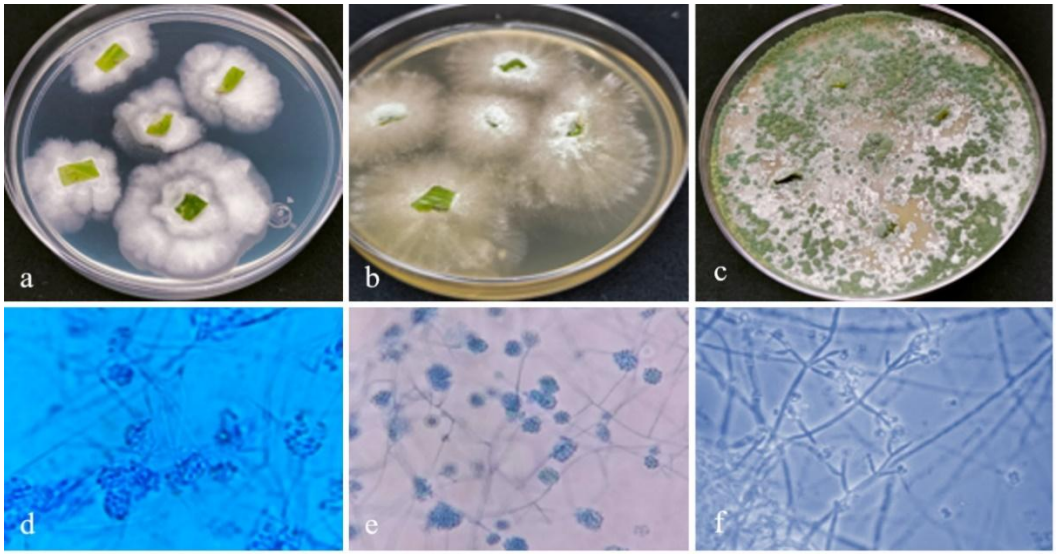

Figura 2. Crecimiento de los endófitos: a) *Simplicillium*, b) *Akanthomyces*, c) *Trichoderma*; Micelio y conidios: d) *Simplicillium*, e) *Akanthomyces*, f) *Trichoderma*.

En la última evaluación los hongos de *Trichoderma* spp., nuevamente fueron los que presentaron los mejores resultados de crecimiento (84,1% a 90,35%), seguidos por *S. lanosoniveum* (CHE-CNRCB 544) y *A. uredinophilum* (CHE-CNRCB 435 y 988), que fueron iguales estadísticamente. Por el contrario, la cepa con menor crecimiento fue *A. uredinophilum* (CHE-CNRCB 985), tanto en la segunda como en la tercera evaluación. En promedio, los hongos de *Trichoderma* spp., presentaron mayor crecimiento en las tres evaluaciones (78,1%), seguidos por *S. lanosoniveum* (66,0%), los de menor crecimiento fueron de *A. uredinophilum* (59,9%).

Ek-Ramos (2020) menciona que los endófitos se han clasificado en tres grupos con base en el tipo de tejido vegetal que colonizan: a) tejidos aéreos y subterráneos, y se transmiten de manera vertical y horizontal; b) los que únicamente colonizan tejidos aéreos, y se transmiten de manera horizontal y c) los que solo colonizan tejidos subterráneos y se transmiten de manera horizontal a partir de tejidos foliares; de manera similar, en esta investigación se observó que al inocular las semillas de café se lograron establecer las cepas en los tejidos de las plantas. Vega et al. (2010) identificaron a *Colletotrichum*, *Fusarium*, *Penicillium* y miembros de la familia *Xylariaceae* en Hawái, México, Puerto Rico y Colombia. Bongiorno et al. (2016) identificaron a *Colletotrichum*, *Trichoderma*, *Schizophyllum*, *Mycosphaerella*, *Cladosporium* y *Cercospora* en Brasil, lo que coincide con el uso de *Trichoderma*, ya que se observó mayor capacidad para establecerse y permanecer en los tejidos foliares.

Una vez establecidos en los tejidos vegetales, los hongos endófitos tienen varios modos de acción, uno de ellos es inducir resistencia sistémica a las plantas y coadyuvar al vigor general de la planta (Herrera-Estrella & Chet, 2004). De igual forma, los hongos endófitos secretan proteínas ricas en cisteína para incrementar su compatibilidad con la planta hospedante, inducir respuestas fisiológicas y de defensa (Ku et al., 2020). Lo anterior podría ser la explicación de que las cepas de *Trichoderma* spp., fueron las que tuvieron mayor porcentaje de crecimiento inicial y porcentaje de crecimiento total en los segmentos de hoja de los cafetos. Abbas et al. (2022), señalan que las plantas tratadas con *Trichoderma* spp. impulsan la actividad de las enzimas relacionadas con la defensa, como peroxidasa, quitinasa, peroxidasa, -1,3-glucanasa, fenilpropanoides, polifenol oxidasa, superóxido dismutasa, quitinasa y fenilalanina amoniaco-liasa.

Este tipo de interacciones se han reportado en agroecosistemas cafetaleros complejos, lo que asegura la sobrevivencia y el establecimiento de relaciones ecosistémicas entre diversas especies, que permiten el control natural de *H. vastatrix* (Vandermeer et al., 2009). Tal es el caso de *Lecanicillium lecanii*, un hongo endofítico entomopatógeno y un conocido depredador micoparásito de *H. vastatrix*, capaz de reducir la gravedad de la enfermedad de la roya (Jackson et al., 2012; Nicoletti & Becchimanzi, 2020).

Cabe resaltar que los endófitos de *Trichoderma* spp., aislados de maíz y aguacate procedentes de Colima presentaron mayor actividad endófita, indicando que, se pueden utilizar hongos aislados de otros cultivos. En el caso de las cepas de *Simplicillium* y *Akanthomyces* provenientes de zonas como Colima, Chiapas y Veracruz, aislados de *H.*

vastatrix de café, presentaron menor actividad que *Trichoderma* spp., lo que sugiere que el origen geográfico no determinó que se establecieran en los tejidos de los cafetos; tampoco el hecho de que hayan sido aislados a partir de pústulas de roya y tejidos de café. Por lo anterior, estos dos factores no fueron determinantes para que los hongos se establecieran como endófitos en las hojas de café. Las tres evaluaciones permitieron determinar la actividad endófita en diferentes momentos del crecimiento de la planta, además de observar la capacidad que tiene cada cepa para prevalecer en la planta; este hecho indica que, las cepas seleccionadas podrían servir como controlador biológico para disminuir el efecto negativo de la roya en las plantas de café.

3.2 Crecimiento de plantas de café por efecto de 14 cepas de hongos endófitos

El análisis de varianza mostró efecto altamente significativo ($p \leq 0,01$) de las cepas de los hongos sobre las variables de crecimiento de las plantas de café. La comparación de medias indicó que las plantas inoculadas con las cepas de *Trichoderma* spp. (CHE-CNRCB 344, 398, 1057 y 1062), presentan mejores resultados, en cuanto a la altura de planta, diámetro de tallo, número de hojas, número de ramas y contenido de clorofila, seguidas de las plantas inoculadas con las cepas de *Akanthomyces* (CHE-CNRCB 584, 615 y 616), donde se observó que el crecimiento fue mayor, comparado con las del testigo en las que solo se aplicó agua destilada (Tabla 3), esto pudo deberse al efecto benéfico de la cepa; de cuerdo a Jaber & Enkerli (2017), los hongos endófitos y entomopatógenos promueven el crecimiento vegetal además de tener otras propiedades como la protección contra insectos y patógenos de plantas.

Suebrasri et al. (2020) indican que este tipo de hongos producen promotores de crecimiento (ácido indol-3-acético). En la planta, inducen aumento de la actividad fotosintética y la transpiración, la protegen contra patógenos mediante la inducción de las respuestas de defensa sistémicas y la síntesis de metabolitos con actividad biológica, que repelen o propician la muerte de los organismos plaga (Fontana et al., 2021). Muchos hongos entomopatógenos actúan como endófitos, colonizando tejidos de la planta sin causar un daño aparente, promoviendo el crecimiento vegetal, mejorando la productividad y la vitalidad de la planta (Geisen et al., 2017).

Existe evidencia que sugiere que la mejor forma de inocular los hongos entomopatógenos y endófitos (HEE) es desde la semilla, lo que aduce a la importancia del método de inoculación, el cual es determinante en el nivel de promoción de crecimiento vegetal y en otras propiedades que confieren en plantas, como la protección contra insectos y patógenos de plantas, aunque no existe un consenso al respecto (Jaber & Enkerli, 2017).

Tabla 3
Variables de crecimiento de plantas de café inoculadas con cepas de los hongos *A. uredinophilum*, *S. lanosoniveum* y *Trichoderma* spp., evaluadas un año despues de la siembra

Cepa/Hongo	Altura de planta (cm)	Diámetro de tallo (mm)	Total de hojas (Núm.)	Pares de hojas (Núm.)	Ramas (Núm.)	Contenido de clorofila
Testigo Agua destilada	25,6 d	8,1 a-d	95 bc	48 ab	9,4 abc	30,4 f
435 *A. uredinophilum*	28,2 bcd	7,4 b-e	90 de	45 b-e	8,5 bcd	85,1 a
581 *A. uredinophilum*	26,3 cd	6,6 c	90 de	44 cde	8,0 bcd	83,5 a
584 *A. uredinophilum*	32,8 a	8,0 a-e	91 cde	46 b-e	9,3 abc	73,8 b
615 *A. uredinophilum*	29,4 b	7,5 b-e	86 abc	43 ef	8,5 bcd	59,4 d
616 *A. uredinophilum*	34,5 a	7,9 a-e	87 ef	43 def	9,4 abc	38,5 e
985 *A. uredinophilum*	25,5 d	6,9 ef	80 g	40 f	8,0 cd	85,2 a
988 *A. uredinophilum*	28,1 bcd	7,2 d-e	81 g	40 f	8,3 cd	76,3 ab
Promedio	29,2	7,3	86,4	43,0	8,5	71,6
373 *S. lanosoniveum*	28,9 bc	7,6 b-e	98 ab	49 abc	9,4 abc	66,2 c
438 *S. lanosoniveum*	29.0 bc	7,3 bc	97 b	48 abc	9,4 abc	39,2 e
544 *S. lanosoniveum*	33,3 ab	8,2 abc	84 fg	42 abc	9,8 a	73,4 b
Promedio	30,4	7,7	93,0	46,3	9,5	59,6
344 *T. citrinoviride*	33,3 a	8,7 a	102 a	51 a	10,2 a	76,4 ab
398 *T. longibrachiatum*	29,9 b	8,0 a-d	92 cd	45 b-e	9,3 abc	76,4 b
1057 *T. brevicompactum*	32,8 a	8,4 ab	88 def	44 def	9,8 a	83,3 a
1062 *T. harzianum*	33,7 a	8,3 abc	98 ab	49 ab	9,5 ab	61,6 cd
Promedio	32,4	8,3	95	47,2	9,7	74,4
Promedio general	30,1	8,1	90	44,5	8,8	68,7
DMSH ($p \leq 0,05$)	2,9	1,0	4,6	4,4	1,1	5,3
C.V. (%)	3,2	4,4	1,7	3,2	4,0	2,6

DMSH: Diferencia mínima significativa honesta, C.V.: Coeficiente de variación.
Medias con la misma letra son estadísticamente iguales de acuerdo con la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

Marro et al. (2022) describen que existen hongos muy eficientes en la función simbiótica entre plantas y hongos, observaron que *Trichoderma*, *Calcariosporium*, *Lecanicillium*, *Metarhizium*, *Simplicillium* proveen mayores beneficios a las plantas a nivel de crecimiento y nutrición con y sin estrés, y su estudio demostró cuales hongos fueron más benéficos para la interacción y el crecimiento de hasta un 42% en plantas como chile, tomate y café, el uso de hongos demostró aumento en el tamaño de planta y en el desarrollo de raíces en un 21%, así como en el porcentaje de colonización en hojas y tallos. Liu et al. (2022) concluyen que la colonización de los hongos *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* en los tejidos de maíz, sugiere que la función endofítica de los hongos es distinta a la función rizosférica y contribuyó más a la promoción del crecimiento de las plantas.

El análisis de componentes principales (PCA) permitió reducir el conjunto de seis características biológicas de crecimiento de plantas de cafeto en dos componentes principales, en respuesta a las 14 cepas de hongos, conservando el 100% de la varianza total (Tabla 4). Los dos primeros componentes (PC1, PC2) fueron suficientes para analizar gráficamente la correlación de las variables (Figura 3); ambos lograron explicar el 81,85% de la varianza total de los datos. Las variables Nr, Dt y Ap estuvieron altamente correlacionadas (Figura 3), asimismo el Nh y Ph, presentan este mismo comportamiento. En contraste el Cc, mostró una correlación negativa con el resto de las variables medidas.

Tabla 4
Coeficientes de correlación entre variables y componentes principales (CP)

Variables	CP1	CP2
Altura de planta (Ap)	0,96	0,14
Diámetro de tallo (Dt)	0,92	0,24
Número de hojas (Nh)	0,18	0,97
Pares de hojas (Ph)	0,22	0,96
Número de ramas (Nr)	0,85	0,43
Índice de contenido de clorofila (Cc)	- 0,24	-0,30

En las cepas de *Akanthomyces*, *Simplicillium* y *Trichoderma*, las variables que contribuyeron al componente PC1 (61,46%) fueron altura de planta (Ap), diámetro de tallo (Dt) y número de ramas (Nr); mientras que para el componente PC2 (20,39%) fue el número y pares de hojas (Ph) y clorofila (Cc).

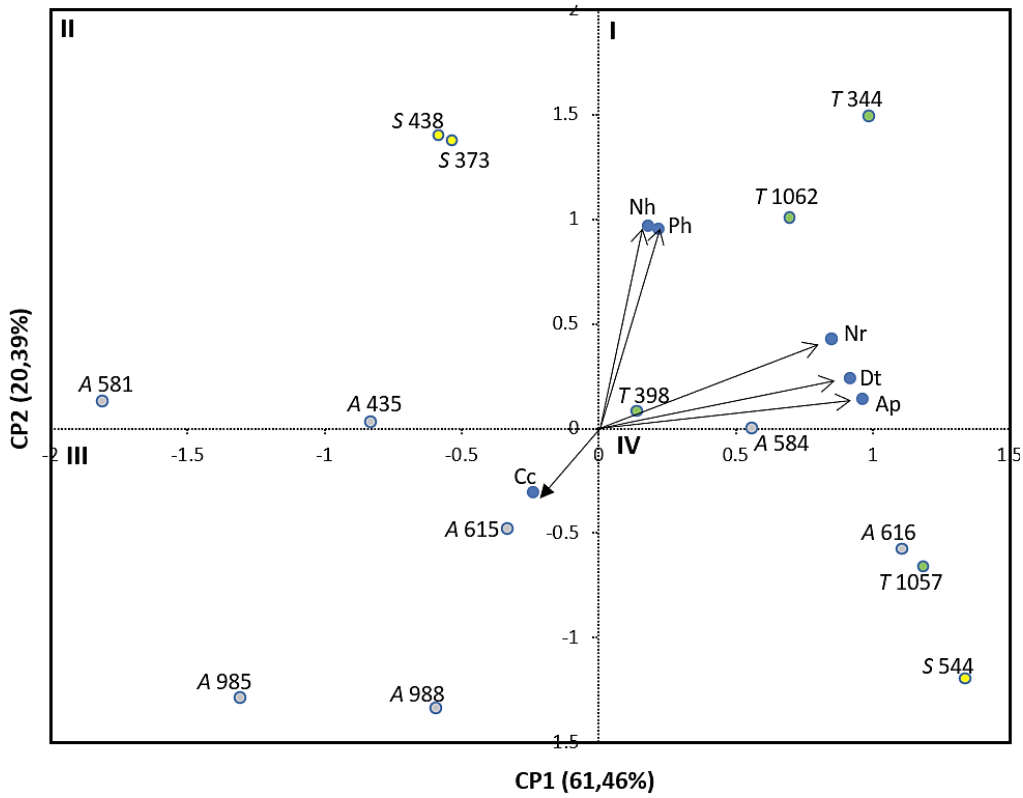

Figura 3. Análisis de componentes principales (CP1 vs. CP2, con 81,85% de varianza acumulada explicada) de las variables altura de planta (Ap), diámetro de tallo (Dt), número de hojas (Nh), pares de hojas (Ph), número de ramas (Nr), índice de contenido de clorofila (Cc) en las cepas de *Akanthomyces*, *Simplicillium* y *Trichoderma* evaluadas.

Las plantas inoculadas con las cepas de *Trichoderma* spp CHE-CNRCB 1057, 344 y 1062 destacan con los mejores resultados en Ap, Dt y Nr; por su parte las plantas tratadas con las cepas de *Akanthomyces* CHE-CNRCB 616 y 584, tuvieron el mismo efecto para estas variables (Figura 3). El impacto del tratamiento de *Trichoderma* sobre las plantas de café, se relacionó con su efecto benéfico en el crecimiento, como se ha reportado en otros estudios previos. El éxito de *Trichoderma* como biocontrolador se basa en su capacidad de sintetizar compuestos antagónicos (proteínas, enzimas y antibióticos), y sustancias promotoras de crecimiento (vitaminas y hormonas), beneficiando así a los cultivos agrícolas como papa, chile, tomate, aguacate, café, entre otras (Navaneetha et al., 2015). Con relación al contenido de clorofila (Cc), las cepas de *Akanthomyces* CHE-CNRCB 985, 435 y presentaron los valores máximos en esta variable.

4. Conclusiones

Las cepas de *T. longibrachiatum*, *T. harzianum* y *T. brevicompactum* (CHE-CNRCB 398, 1062 y 1057), de *S. lanosoniveum* (CHE-CNRCB 544) y de *A. uredinophilum* (CHE-CNRCB 435 y 988) mostraron la mayor actividad endofítica, al colonizar más las hojas del cafeto variedad Caturra. También se determinó que las cepas que promovieron mayor crecimiento vegetal de los cafetos; fueron *Trichoderma* CHE-CNRCB 344, 398 y 1062, así como *Akanthomyces* CHE-CNRCB 584.

Se sugieren más estudios para que las cepas puedan ser consideradas como agentes de control de la roya del cafeto, dado que los endófitos deben seguir utilizándose en diversos cultivos, ya que podrían incrementar la supervivencia y el crecimiento, dado que son capaces de establecerse de manera natural en diversas especies vegetales. Además, las plantas con endófitos mejoran su crecimiento y aumentan la tolerancia a condiciones ambientales como estrés hídrico e incidencia de patógenos.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI, antes CONACYT) por la beca otorgada a JMMJ (# 763357) y al Sistema Nacional de Investigadores (SECIHTI) por al estímulo económico otorgado a RMM (# 174904); al Centro Nacional de Referencia de Control Biológico (CNRF-DGSV-SENASICA) por las cepas de hongos otorgadas para el desarrollo del proyecto y a la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, por su apoyo en la realización de esta investigación.

Contribución de los autores

J. M. Martínez de Jesús: Metodología, Análisis formal, Investigación, Escritura – borrador original, Visualización. **M. Andrade-Rodríguez:** Análisis de datos, preparación, creación y/o presentación del trabajo publicado por parte del grupo de investigación original, específicamente revisión, comentario o revisión crítica – incluyendo etapas previas o posteriores a la publicación. **R. Montesinos-Matías:** Metodología, Investigación, Redacción, revisión y edición, Recursos. **G. Peña-Chora:** Responsabilidad de supervisión y liderazgo para la planificación y ejecución de la actividad de investigación, incluida la tutoría externa al equipo central. **E. Martínez- Fernández:** Responsabilidad de supervisión y liderazgo en la planificación y ejecución de la actividad de investigación, incluida la tutoría externa al equipo central. **O. G. Villegas-Torres:** Metodología, investigación.

ORCID

J. M. Martínez-de-Jesús https://orcid.org/0009-0001-4188-5760
R. Montesinos-Matias https://orcid.org/0000-0002-6687-6078
E. Martínez-Fernandez https://orcid.org/0000-0002-9232-7988
O.G. Villegas-Torres https://orcid.org/0000-0001-9885-3906
G. Peña-Chora https://orcid.org/0000-0001-7682-5584
M. Andrade-Rodríguez https://orcid.org/0000-0003-0757-742X

Referencias bibliográficas

Abbas, A., Mubeen, M., Zheng, H., Sohail, M. A., Shakeel, Q., et al. (2022). *Trichoderma* spp. genes involved in the biocontrol activity against *Rhizoctonia solani*. *Frontiers in Microbiology*, *13*, 884469. https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.884469

Aristizábal, L. F. & Johnson, M. A. (2022). Monitoring coffee leaf rust (*Hemileia vastatrix*) on commercial coffee farms in Hawaii: early insights from the first year of disease incursion. *Agronomy*, *12*(5), 1134-1149. https://doi.org/10.3390/agronomy12051134

Barnett, H. L., & Hunter, B. B. (1972). Illustrated genera of imperfect fungi. Minneapolis: Burges Publ. com., 241 p.

Bongiorno, V. A., Rhoden, S.A., Garcia, A., Polonio, J. C., Azevedo, J. L. Pereira, J. O., & Pamphile, J. A. (2016). Genetic diversity of endophytic fungi from *Coffea arabica* cv. IAPAR-59 in organic crops. *Annals of Microbiology*, *66*, 855-865. https://doi.org/10.1007/s13213-015-1168-0

Castillo, N. E. T., Acosta, Y. A., Parra-Arroyo, L., Martínez-Prado, M. A., Rivas-Galindo, V. M., Iqbal, H. M. N., Bonaccorso, A. D., Melchor-Martínez, E. M., & Parra-Saldívar, R. (2022). Towards an eco-friendly coffee rust control: Compilation of Natural Alternatives from a Nutritional and Antifungal Perspective. *Plants*, *11*, 2745. https://doi.org/10.3390/plants11202745

Coa-Urbaez, M., Mendez N., J. R., Silva A. R., & Mundarain, P. S. (2014). Evaluación de métodos químicos y mecánicos para promover la germinación de semillas y producción de fosforitos en café (*Coffea arabica*) var. Catuaí Rojo. *Idesia (Arica)*, *32*(1), 43-53. http://dx.doi.org/10.4067/S0718-34292014000100006

Collinge, D. B., Jensen, B., & Jorgensen, J. L. H. (2022). Fungal endophytes in plants and their relationship to plant disease. *Current Opinion in Microbiology*, *69*, 102177. https://doi.org/10.1016/j.mib.2022.102177

De Silva, N. I., Brooks, S., Lumyong, S., & Hyde, K. D. (2019). Use of endophytes as biocontrol agents. *Fungal Biology Reviews*, *33*(2), 133-148. https://doi.org/10.1016/j.fbr.2018.10.001

Dugan, F. M. (2017). The identification of fungi: an illustrated introduction with keys, glossary, and guide to literature. *The American Phytopathological Society*, Minnesota, 176 p., https://doi.org/10.1094/9780890545041

Ek-Ramos, M. J. (2020). Endófitos microbianos para el control de plagas y enfermedades agrícolas, Fundamento y práctica del control biológico de plagas y enfermedades. Editorial del Colegio de Postgraduados 1ra ed., Cap. 17, pp.373-405.

Fontana, D. C., de Paula, S., Torres, A. G., de Souza, V. H. M., Pascholati, S. F, Schmidt, D., & Dourado, N. D. (2021). Endophytic fungi: Biological control and induced resistance to phytopathogens and abiotic stresses. *Pathogens*, *10*(5), 570. https://doi.org/10.3390/pathogens10050570

Geisen, S., Kostenko, O., Cnossen, M. C., Ten Hooven, F. C., Vres, B., & Van Der Putten, W. H. (2017). Seed and root endophytic fungi in a range expanding and a related plant species. *Frontiers in microbiology*, *8*, 1645. https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01645

Herrera-Estrella, A., & Chet, I. (2004). The biological control agent *Trichoderma* from fundamentals to applications. *Mycology Series*, *21*, 147-156. https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2012.01.004

INFOBAE. (2024). La incesante crisis de café en Chiapas que ha provocado el éxodo de miles de campesinos. https://www.infobae.com/america/mexico/2019/04/20/la-incesante-crisis-de-cafe-en-chiapas-que-ha-provocado-el-exodo-de-miles-de-campesinos/

Jaber, L. R., & Enkerli, J. (2017). Fungal entomopathogens as endophytes: can they promote plant growth? *Biocontrol Science and Technology*, *27*(1), 28-41. https://doi.org/10.1080/09583157.2016.1243227

Jackson, D., Skillman, J., & Vandermeer, J. (2012). Indirect biological control of the coffee leaf rust, *Hemileia vastatrix*, by the entomogenous fungus *Lecanicillium lecanii* in a complex coffee agroecosystem. *Biological control*, *61*(1), 89-97. https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2012.01.004

Ku, Y. S., Cheng, S. S., Gerhardt, A., Cheung, M. Y., Contador, C. A., Poon, L. Y. W., & Lam, H. M. (2020). Secretory peptides as bullets: effector peptides from pathogens against antimicrobial peptides from soybean. *International Journal of Molecular Sciences*, *21*(23), 9294. https://doi.org/10.3390/ijms21239294

Libert, A., A., Ituarte-Lima, C., & Elmqvist, T. (2020). Learning from social-ecological crisis for legal resilience building: Multi-scale dynamics in the coffee rust epidemic. *Sustainability Science*, *15*, 485-501. https://doi.org/10.1007/s11625-019-00703-x

Liu, Y., Yang, Y., & Wang, B. (2022). Entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* play roles of maize (*Zea mays*) growth promoter. *Scientific reports*, *12*(1), 15706. https://doi.org/10.1038/s41598-022-19899-7

Mamani-Huayhua, G., Leon-Ttacca, B., Palao-Iturregui, L. A., & Borja-Loza, Y. R. (2021). Biocontrol of coffee yellow rust (*Hemileia vastatrix* Berk. & Br.) with *Trichoderma* sp. endophyte strains. *Cultivos Tropicales*, *42*(4), e01.

Marro, N., Grilli, G., Soteras, F., Caccia, M., Longo, S., Cofré, N., & Urcelay, C. (2022). The effects of arbuscular mycorrhizal fungal species and taxonomic groups on stressed and unstressed plants: a global meta-analysis. *New Phytologist*, *235*(1), 320-332. https://doi.org/10.1111/nph.18102

Navaneetha, T., Prasad, R. D., & Rao, L.V. (2015). Liquid formulation of *Trichoderma* species for management of gray mold in castor (*Ricinus communis* L.) and alternaria leaf blight in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Journal of Biofertilizers & Biopesticides*, *6*(1), 149.

Nicoletti, R. & Becchimanzi, A. (2020). Endophytism of *Lecanicillium* and *Akanthomyces*. *Agriculture*, 10, 205. https://www.doi.org/10.3390/agriculture10060205

Ortega, H. E., Torres-Mendoza, D., & Cubilla-Ríos, L. (2020). Patents on endophytic fungi for agriculture and bio- and phytoremediation applications. *Microorganisms*, *8*(8), 1237. https://doi.org/10.3390/microorganisms8081237

Parra, M., S. (2023). Microbiología del vermicompost. Universidad de los Andes. http://hdl.handle. net/1992/64905

Ramírez, R. J., & Cerda, R. (2021). Fertilización del cafeto [Guía], Folleto, Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Proyecto Biodiversidad en Paisajes Productivos, Santo Domingo RD, 16 p. https://bvearmb.do/handle/123456789/3332

Rodrigo, S., Santamaria, O., Halecker, S., Lledó, S., & Stadler, M. (2017). Antagonism between *Byssochlamys spectabilis* (anamorph *Paecilomyces variotii*) and plant pathogens: Involvement of the bioactive compounds produced by the endophyte. *Annals of Applied Biology*, *171*(3), 464-476. https://doi.org/10.1111/aab.12388

Rojas, E. C., Jensen, B., Jorgensen, H. J., Latz, M. A., Esteban, P., Ding, Y., & Collinge, D. B. (2020). Selection of fungal endophytes with biocontrol potential against Fusarium head blight in wheat. *Biological Control*, *144*, 104222. https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2020.104222

Rosa, L. H., Tabanca, N., Techen, N., Pan, Z., Wedge, D. E., & Moraes, R. M. (2012). Antifungal activity of extracts from endophytic fungi associated with *Smallanthus* maintained in vitro as autotrophic cultures and as pot plants in the greenhouse. *Canadian journal of Microbiology*, *58*(10), 1202-1211. https://doi.org/10.1139/w2012-088

Rosales-Castillo, R., Velázquez-de Lucio, B. S., Hernández-Domínguez, E. M., & Álvarez-Cervantes, J. (2025). Bioinsumos: una alternativa para lograr una agricultura sostenible. *Terra Latinoamericana*, *43*, 1-15. https://doi.org/10.28940/terra.v43i.2045

Sandoval, V., M. C. & Noelting, Z. M. C. I. (2011). Producción de conidios de *Trichoderma harzianum* Rifai en dos medios de multiplicación. *Fitosanidad*, *15*(4), 215-221.

SAS Institute Inc. (1995). SAS/STAT User ś guide, Version 9,2. SAS Institute. Cary, NC.

SENASICA. (2022). Roya del cafeto (*Hemileia vastatrix* Berkeley & Broome). Dirección General de Sanidad Vegetal-Programa de Vigilancia Epidemiologica Fitosanitaria Cd. de México.

SIACON. (2024). Sistema de Información Agroalimentaria de Consulta https://www.gob.mx/agricultura/es/articulos/mexico-onceavo-productor-mundial-de-cafe

Suebrasri, T., Harada, H., Jogloy, S., Ekprasert, J., & Boonlue, S. (2020). Auxin-producing fungal endophytes promote growth of sunchoke. *Rhizosphere*, *16*, 100271. https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2020.100271

Tall, S., & Meyling, N. V. (2018). Probiotics for plants? Growth promotion by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* depends on nutrient availability. *Microbial ecology*, *76*(4), 1002-1008.

Vandermeer, J., Perfecto, I., & Liere, H. (2009). Evidence for hyperparasitism of coffee rust (*Hemileia vastatrix)* by the entomogenous fungus, *Lecanicillium lecanii*, through a complex ecological web. *Plant Pathology*, *58*(4), 636-641. https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2009.02067.x

Vega, F. E., Simpkins, A., Aime, M. C., Posada, F., Peterson, S. W., Rehner, S. A., & Arnold, A. E. (2010). Fungal endophyte diversity in coffee plants from Colombia, Hawai'i, Mexico and Puerto Rico. *Fungal ecology*, *3*(3), 122-138. https://doi.org/10.1016/j.funeco.2009.07.002