

Efecto antifúngico *in vitro* de hongos endófitos de cucurbitáceas criollas de Yucatán

In vitro antifungal effect of endophytic fungi of creole cucurbits of Yucatan

Diego Montañez-De Azcué¹ , Jairo Cristóbal-Alejo^{1*} , Alberto Uc-Vázquez² ,
Felicia Amalia Moo-Koh¹ , José María Tun-Suárez¹ 

¹Tecnológico Nacional de México/Campus Conkal. Avenida Tecnológico s/n, CP. 97345. Conkal, Yucatán, México.

²Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco AC, Unidad Sureste. Km 5.5 Carretera Sierra Papacal-Chuburná Puerto s/n. CP. 97302 Sierra Papacal, Mérida, Yucatán, México.

*Autor de correspondencia: jairo.ca@conkal.tecnm.mx

Artículo científico

Recibido: 29 de enero 2024

Aceptado: 13 de mayo 2024

RESUMEN. Los hongos endófitos son microorganismos simbiotes de plantas, diversos y abundantes en regiones tropicales, con gran potencial como agentes biocontroladores de enfermedades fúngicas agrícolas. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la actividad antifúngica *in vitro* de los hongos endófitos asociados con cultivares criollos de *Cucumis sativus* y *Lagenaria siceraria* de Yucatán. Las cepas endófitas fueron aisladas e identificadas de diferentes órganos de las plantas, para posteriormente ser sometidas a enfrentamientos duales y pruebas de antibiosis. Se identificaron 20 especies de hongos endófitos con efectos antifúngicos contra *Corynespora cassicola*, *Colletotrichum truncatum* y *Fusarium equiseti*, obteniendo rangos de inhibición de 17.72–100%, 16.51–91.55% y 4.64–91.89%, respectivamente. *Aspergillus flavus*, *Lasiodiplodia pseudotheobromae* y *Trichoderma longibrachiatum* exhibieron los mayores porcentajes de inhibición contra los tres fitopatógenos. Así mismo, estas tres especies de endófitos demostraron un efecto antibiótico en sus extractos, al inhibir principalmente el crecimiento de *F. equiseti* hasta en un 46.46%. La cepa de *L. pseudotheobromae* tiene características que le confieren un potencial como agente antifúngico, por lo que se deberán seguir explorando sus aplicaciones y condiciones de crecimiento. Este trabajo representa un primer esfuerzo por conocer la diversidad de hongos endófitos en los cultivos criollos de la región.

Palabras clave: Antibiosis, *Cucumis sativus*, cultivos duales, hongos fitopatógenos, *Lagenaria siceraria*.

ABSTRACT. Endophytic fungi are plant symbiont microorganisms, diverse and abundant in tropical regions, with great potential as biocontrol agents of agricultural fungal diseases. The objective of the present work was to evaluate *in vitro* antifungal activity of endophytic fungi associated with creole cultivars of *Cucumis sativus* and *Lagenaria siceraria* from Yucatán. The endophytic strains were isolated and identified from different organs, to be subjected to dual confrontations and antibiotic tests. Twenty species with antifungal effects against *Corynespora cassicola*, *Colletotrichum truncatum* and *Fusarium equiseti* were identified, obtaining inhibition ranges of 17.72–100%, 16.51–91.55% and 4.64–91.89%, respectively. *Aspergillus flavus*, *Lasiodiplodia pseudotheobromae* and *Trichoderma longibrachiatum* exhibited the highest percentages of inhibition against the three phytopathogens. Likewise, these three species of endophytes demonstrated an antibiotic effect in their extracts, mainly inhibiting the growth of *F. equiseti* by up to 46.46%. The *L. pseudotheobromae* strain has characteristics that give it potential as an antifungal agent, so its applications and growth conditions should continue to be explored. This work represents a first effort to understand the diversity of endophytic fungi in native crops in the region.

Keywords: Antibiosis, *Cucumis sativus*, dual cultivation, *Lagenaria siceraria*, phytopathogenic fungi.

Como citar: Montañez-De Azcué D, Cristóbal-Alejo J, Uc-Vázquez A, Moo-Koh FA, Tun-Suárez JM (2024) Efecto antifúngico *in vitro* de hongos endófitos de cucurbitáceas criollas de Yucatán. Ecosistemas y Recursos Agropecuarios 11(2): e3992. DOI: 10.19136/era.a11n2.3992.

INTRODUCCIÓN

En Mesoamérica, las cucurbitáceas tienen una reconocida importancia alimenticia. En la Península de Yucatán, México, crecen muchos cultivares criollos de cucurbitáceas con relevancia económica, nutricional y cultural (Zizumbo 1986). El pepino blanco o pepino indio (*Cucumis sativus* L.), caracterizado por sus frutos blancos, claviformes o piriformes, es ampliamente comercializado y consumido en la región (Lira-Saade 2004). El calabazo o calabacito (*Lagenaria siceraria* (Molina) Standl.) produce frutos botuliformes, globosos o claviformes, empleados en la manufactura de utensilios de cocina, juguetes o instrumentos musicales (Lira-Saade y Rodríguez-Arévalo 2011). Estos cultivos son parte principal de diversos sistemas de producción agrícolas, gracias a su establecimiento y manejo relativamente sencillos. Entre sus requerimientos, destacan valores elevados de humedad relativa; por lo que es común exceder los límites fisiológicos de la planta, ya sea por una ineficiente administración del riego o la ventilación, el uso de materiales inadecuados o por el hacinamiento de las mismas plantas (Huertas 2008). El exceso de humedad también favorece el establecimiento de condiciones ambientales que, en conjunto con otros componentes, desencadenan la presencia de enfermedades (Silva et al. 2002).

Entre las enfermedades de mayor importancia en la agricultura sobresalen las causadas por hongos fitopatógenos, debido a la velocidad de su diseminación, la frecuencia con la que pueden inducir una reinfección y/o pérdidas de producción (Pemán y Salavert 2014). Estas infecciones no solo desencadenan la muerte de parte de un cultivo, sino que las plantas sobrevivientes tienden a presentar síntomas en distintos órganos como: manchas foliares, clorosis, desfiguraciones o pudriciones en raíces y frutos, depreciándose en el mercado (Trigos et al. 2008, Juárez-Becerra et al. 2010). Dichos impactos económicos se han cuantificado en 5-25% para países desarrollados y 20-50% para países en desarrollo (Rivera 2008). Tan solo *Corynespora cassiicola* disminuye hasta el 40% de los rendimientos de la soya (*Glycine max*) (Edwards-Molina et al. 2019). La antracnosis causada por *Colletotrichum truncatum* ha generado pérdidas de al menos el 80% en chile (*Capsicum annuum*) y papaya (*Carica papaya*) (Torres-Calzada et al. 2018). Por su parte, *Fusarium equiseti* es uno de los responsables de la marchitez y el necrosamiento de chile habanero (*Capsicum chinense*) (Cruz-Cerino et al. 2020), sandía (*Citrullus lanatus*) (Rahman et al. 2022) y tomate (*Solanum lycopersicum*) (Beltrán et al. 2023) en diferentes regiones.

Para reducir el uso de fungicidas de síntesis química en el tratamiento de enfermedades fungosas en la agricultura, se incorporan microorganismos antagónicos como parte de un sistema integral de manejo, capaces de mantener un control eficiente y sustentable (Alam et al. 2021). Entre los microorganismos empleados para tal fin, destacan los hongos endófitos, microorganismos simbiotes que habitan dentro de tejidos vegetales vivos, durante una etapa o la totalidad de su ciclo de vida (Bacon y White 2016). Las hojas son el órgano en donde se ha encontrado mayor diversidad, aunque los hay también en raíces, tallos, flores, frutos y semillas (Panaccione et al. 2010, Zhang et al. 2010, Verma et al. 2013). La diversidad de hongos endófitos varía según la especie hospedante, la fenología de la planta, el ecosistema, su ubicación geográfica y factores ambientales como la temperatura, la frecuencia de las precipitaciones y la contaminación ambiental (Kim et al. 2013, Nascimento et al. 2015).

Los hongos endófitos son inocuos para la planta hospedante, con efectos benéficos en sus actividades fisiológicas (Khan et al. 2013). Esta relación confiere a las plantas cuatro ventajas

adaptativas principales: tolerancia ante factores abióticos, como elevadas temperaturas, salinidad y sequía (Waqas *et al.* 2012); mejora en cuanto al crecimiento de la planta (Liu *et al.* 2016); prevención de la depredación (Panaccione *et al.* 2010); y tolerancia ante enfermedades (Mousa *et al.* 2015, Yan *et al.* 2018).

Hasta 90 géneros de hongos endófitos se relacionan con especies de cucurbitáceas, con *Fusarium*, *Colletotrichum* y *Alternaria* como los principales registros; aislados de raíces, tallos y hojas de *Benincasa hispida*, *Citrullus lanatus*, *Cucumis melo*, *C. sativus*, *Cucurbita moschata*, *Lagenaria siceraria*, *Luffa cylindrica*, *Momordica charantia* y *Trichosanthes cucumerina* (Mu *et al.* 2010, Xue *et al.* 2015, Su *et al.* 2016, 2017, Su y Niu 2018). De estos aislamientos, 18 mostraron actividad antimicótica significativa en cultivos duales, al inhibir al menos el 80% del crecimiento de los patógenos *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum*, *Rhizoctonia solani* y *Sclerotinia sclerotiorum* (Huang *et al.* 2020). Se han obtenido filtrados de hongos endófitos aislados de cucurbitáceas para evaluar el biocontrol de *Sphaerotheca fuliginea* en pepino verde. Los filtrados de *Epicoccum nigrum*, *E. minitans* y *Trichoderma viride* ejercieron alta efectividad al combinarse con el fungicida penconazole, la cual era menor en los tratamientos en donde solo se utilizó el fungicida (Derbalah y Elkot 2011).

La mayoría de los aislamientos de hongos endófitos de cucurbitáceas se han efectuado en regiones templadas (Mu *et al.* 2010, Derbalah y Elkot 2011, Xue *et al.* 2015, González *et al.* 2020, Tymon *et al.* 2020); seguido de regiones semiáridas (Boughalleb-M'Hamdi). En las zonas tropicales suele haber mayor diversidad y abundancia, así como menor especificidad de hospedero (Gamboa-Gaitán 2006). Más del 90% de las hojas de las plantas tropicales están colonizadas por endófitos, formando comunidades fúngicas en donde interactúan especies abundantes y especies poco comunes (Benítez-Malvido y Gavito 2012). Las cucurbitáceas tropicales representan microhábitats inexplorados y son reservorios de diversidad fúngica desconocida. El objetivo del presente estudio, fue evaluar el potencial antifúngico *in vitro* de los hongos endófitos asociados con cultivares criollos de pepino blanco y calabazo cultivados en Yucatán, México, contra tres hongos fitopatógenos de importancia agrícola: *Corynespora cassiicola*, *Colletotrichum truncatum* y *Fusarium equiseti*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Colecta de material vegetal

Entre junio y agosto de 2022 y 2023 se tomaron 80 muestras de hojas, tallos, flores y raíces provenientes de plantas asintomáticas de tres meses de edad de pepino blanco (*C. sativus*) y calabazo (*L. siceraria*), obtenidas de huertos familiares en la localidad de Caucel, Yucatán (21°01'16.9" LN, 89°42'04.5" LO), sin ningún tipo de tratamiento con fungicida. Durante este mismo periodo, se adquirieron semillas de pepino blanco y calabazo de productores de las localidades de Kancabdzonot (20°30'33" LN, 88°42'38" LO), Muna (20°29'05" LN, 89°42'47" LO) y Sotuta (20°35'45" LN, 89°00'22" LO), Yucatán, México. Los órganos vegetales fueron guardados en bolsas plásticas resellables transparentes y estériles, y transportadas al Laboratorio de Fitopatología del Tecnológico Nacional de México (TecNM)/Campus Conkal, Yucatán, México, para su procesamiento aproximadamente 2 h después de su colecta.

Aislamiento de hongos endófitos

Los órganos vegetales fueron lavados con agua corriente para eliminar residuos de sustrato, seguido de una inmersión en NaClO comercial al 1.5% por 2 min, se enjuagaron con agua destilada estéril y secaron con papel absorbente estéril. Las siembras se hicieron en condiciones asépticas, colocando cuatro fragmentos de tejido vegetal de 1 cm² en cajas Petri estériles de 8 cm de diámetro, utilizando cuatro medios de cultivo: Papa-Dextrosa-Agar (PDA), Harina de Maíz-Agar (HMA), Jugo de V8®-Agar (V8A) y Extracto de Cucurbitáceas-Agar (ECA). El V8A se preparó con jugo de vegetales Campbell's V8 mixto. Para la preparación del medio ECA se hicieron modificaciones a la metodología propuesta por Gilchrist-Saavedra *et al.* (2015), utilizando hojas y tallos frescos de pepino y calabazo. Para las hojas, tallos, raíces y flores se hicieron tres réplicas por cada muestra y por cada medio de cultivo. En el caso de las semillas, se colocaron cuatro semillas por caja de Petri y se dispusieron cinco réplicas por localidad y medio de cultivo. Las cajas de Petri se sellaron e incubaron a 28±2 °C, y se conservaron durante dos meses, tiempo durante el cual se hicieron reaislamientos cada vez que se observó crecimiento micelial, hasta la obtención de cultivos monospóricos. Para garantizar la efectividad de la desinfección, se tomaron alícuotas del agua del último enjuague de algunas de las muestras, se vertieron en medios de cultivo y se incubaron en las mismas condiciones que las siembras. En ninguno se registró crecimiento de microorganismos.

Identificación de hongos endófitos

Las cepas aisladas fueron estudiadas al microscopio compuesto (Carl Zeiss®, Primo Star, Madrid, España). Muestras de micelio y esporas se colocaron en un portaobjetos con una gota de ácido láctico para su caracterización e identificación a nivel de género, mediante claves morfotaxonomías (Barnett y Hunter 1998). Para la identificación a nivel especie se extrajo ADN de las cepas aisladas mediante el Kit DNeasy de QIAGEN y se llevó a cabo la amplificación por PCR de la región ITS, utilizando los oligonucleótidos universales ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') e ITS5 (5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3') (White *et al.* 1990). Para las cepas en las cuales la región ITS no amplificó, se optó por amplificar por PCR los fragmentos del gen que codifica para la Histona 3 con los oligonucleótidos H3-1b (5'-CGCGGCGAGACTGGATGTCCTT-3') y H3-1a (5'-ACTAAGCAGACCGCCCGCAGG-3') (He *et al.* 2017). Las amplificaciones se realizaron en un termociclador (Thermo Fisher Scientific Inc., Veriti 96-Well, Cleveland, OH, USA), utilizando 1 µL de ADN molde en un volumen final de reacción de 25 µL con las siguientes condiciones: desnaturalización inicial a 94 °C durante 30 seg, seguido de 38 ciclos a 90 °C por 30 seg, 58 °C durante 45 seg y 72 °C por 1 min, finalmente un ciclo de extensión final a 72 °C por 10 min. Los productos de PCR se analizaron mediante electroforesis en gel de agarosa al 1% a 85 V durante 40 min, con una tinción de bromuro de etidio y revelado en un fotodocumentador con luz UV (Bio-Rad, CA, USA). Los fragmentos amplificados fueron enviados al servicio de secuenciación de MACROGEN en Corea del Sur. Los resultados fueron editados con el software BioEdit 7.2.5 y comparados con las secuencias reportadas en la base de datos del National Center for Biotechnology Information (NCBI), con ayuda del algoritmo de BLAST disponible en Internet. El número de accesoión de GenBank de cepas de hongos estrechamente relacionadas, junto con su similitud, se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1. Identificación molecular de hongos endófitos de *C. sativus* y *L. siceraria*.

| Hongo endófito | Cultivo de aislamiento* | Órgano de aislamiento** | Medio de cultivo | Similitud (%) | Accesión |
|---------------------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------|---------------|-------------|
| <i>Aspergillus flavus</i> | P | F | PDA, ECA | 99.6 | OR098606.1 |
| <i>Aspergillus nidulans</i> | P, C | T, R | PDA, V8A, HMA, ECA | 99.4 | OR064351.1 |
| <i>Aspergillus sclerotiorum</i> | C | S | PDA | 98.0 | MN421907.1 |
| <i>Aspergillus stellatus</i> | C | T | HMA, V8A | 99.1 | MT122792.1 |
| <i>Aspergillus tamarii</i> | P, C | F, R, S | PDA | 100.0 | ON507745.1 |
| <i>Chaetomium convolutum</i> | P, C | H, T | HMA, V8A, ECA | 97.2 | MN689672.1 |
| <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> | C | F, T | PDA, ECA | 98.7 | MT460249.1 |
| <i>Colletotrichum truncatum</i> | C | F | HMA, ECA | 100.0 | MK298334.1 |
| <i>Diaporthe phaseolorum</i> | C | T | HMA | 97.8 | MW380831.1 |
| <i>Fusarium solani</i> | P, C | H, F, R | PDA, HMA, ECA | 100.0 | OR815278.1 |
| <i>Gymnascella nodulosa</i> | C | H | ECA | 95.1 | NR_160094.1 |
| <i>Lasiodiplodia pseudotheobromae</i> | P, C | H, F, T, R, S | PDA, V8A, HMA, ECA | 100.0 | OQ974186.1 |
| <i>Microascus gracilis</i> | C | S | V8A, HMA | 99.6 | LN850768.1 |
| <i>Monosporascus caatingaensis</i> | C | R | ECA | 99.6 | MG735227.1 |
| <i>Paecilomyces variotti</i> | P | H | PDA, HMA | 97.4 | MG252049.1 |
| <i>Penicillium citrinum</i> | C | H | PDA, ECA | 100.0 | OQ745811.1 |
| <i>Scolecobasidium musae</i> | C | H | V8A, ECA | 98.5 | MK442605.1 |
| <i>Trichoderma longibrachiatum</i> | C | F | PDA, HMA | 99.8 | KT426901.1 |
| <i>Trichoderma pseudokoningii</i> | P | T | PDA | 90.4 | MK442605.1 |
| <i>Xylaria mesenterica</i> | C | H | APD | 98.6 | OW971925.1 |

*P: pepino blanco (*C. sativus*), C: calabazo (*L. siceraria*), **H: hoja, F: flor, T: tallo, R: raíz, S: semilla.

Efecto antifúngico por competencia

Por cada taxón de hongo endófito identificado se llevaron a cabo tres cultivos duales contra tres especies de hongos fitopatógenos: *Corynespora cassiicola*, *Colletotrichum truncatum* y *Fusarium equiseti*. Estas cepas fueron proporcionadas por el cepario del Laboratorio de Fitopatología del TecNM/Campus Conkal. El medio de cultivo utilizado fue PDA. En los casos en donde el endófito no creció en PDA durante su aislamiento, se optó por utilizar el medio de cultivo en donde sí se había desarrollado. En cada caja Petri se inocularon discos de micelio de 5 mm de diámetro del hongo endófito y del hongo fitopatógeno, con 60 mm de separación. Para este estudio se incluyeron tres réplicas por cada cultivo dual, así como cultivos monospóricos como colonias testigo. Cada cultivo se selló e incubó a 28 ± 2 °C. El radio del crecimiento del hongo fitopatógeno fue medido cada 24 h con un vernier digital (Caliper, Mitotuyo, Kawasaki, Japón) hasta que la colonia testigo alcanzó los 60 mm de radio. Para el cálculo del porcentaje de inhibición se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Inhibición}(\%) = \left(\frac{\text{Radio de la colonia testigo} - \text{Radio de la colonia de prueba}}{\text{Radio de la colonia testigo}} \right) \times 100$$

Con los porcentajes de inhibición se realizó un análisis de conglomerados de variables mediante el software Minitab Statistical.

Efecto antifúngico por antibiosis

Las tres especies que mostraron los mayores porcentajes de inhibición en las pruebas duales fueron cultivadas durante 30 días en 200 mL de medio de cultivo líquido de papa dextrosa. Posteriormente, el líquido fue filtrado mediante gasas y algodón estéril, sometido a dos ciclos de centrifugado de 3 000 rpm durante 15 min y una vez descartado el precipitado, se volvió a filtrar en condiciones asépticas con filtro membrana de 0.45 μm . El filtrado final fue mezclado con un volumen igual de medio de cultivo PDA con 2x de agar esterilizado, transferido a cajas Petri de 8 cm de diámetro y observado 24 h después para verificar su esterilidad. Un disco de 5 mm de diámetro de PDA con micelio de hongo fitopatógeno fue colocado en el centro de las cajas de Petri, considerando cuatro réplicas por cada fitopatógeno. Los fitopatógenos también se sembraron en medio de cultivo PDA sin filtrados como tratamiento testigo. Cada cultivo se selló e incubó a 28 ± 2 °C. El radio de crecimiento del hongo fitopatógeno fue medido cada 24 h con un vernier digital hasta que la colonia testigo cubrió por completo la caja de Petri.

Para el cálculo del porcentaje de inhibición se utilizó la fórmula de inhibición antifúngica por competencia antes mencionada. Con los porcentajes de inhibición se realizó un análisis de varianza con comparaciones de medias con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) mediante el software Minitab Statistical.

RESULTADOS

Identificación de hongos endófitos

Se aislaron y purificaron 20 especies de hongos endófitos de hojas, flores, tallos, raíces y semillas de *C. sativus* y *L. siceraria* (Tabla 1).

Efecto antifúngico por competencia

Las 20 especies de hongos endófitos evaluadas mostraron algún grado de inhibición para los tres hongos fitopatógenos seleccionados, alcanzando el 100% en *C. cassicola* con *L. pseudotheobromae* y *T. longibrachiatum*. Estos endófitos tuvieron inhibiciones mayores del 90% para las otras dos especies de hongos fitopatógenos. Inhibiciones superiores al 90% también fueron registradas para *A. flavus* y *P. citrinum*, mientras que siete cepas inhibieron de 80 a 89% del crecimiento de al menos uno de los hongos fitopatógenos (Tabla 2, Figura 1).

En el análisis de conglomerados, las especies que mostraron inhibiciones del 90 al 100% para una o las tres especies de fitopatógenos se agruparon en un solo clado. Las tres especies de este clado que mostraron las mayores inhibiciones y la mayor similitud entre sí fueron seleccionadas para realizar las pruebas de antibiosis: *A. flavus*, *L. pseudotheobromae* y *T. longibrachiatum* (Figura 2).

Tabla 2. Efecto en la inhibición de hongos fitopatógenos en cultivos duales, causada por hongos endófitos aislados de *C. sativus* y *L. siceraria*.

| Hongo endófito | Inhibición (%) de crecimiento radial | | |
|----------------------------|--------------------------------------|---------------------|--------------------|
| | <i>C. cassiicola</i> | <i>C. truncatum</i> | <i>F. equiseti</i> |
| <i>A. flavus</i> | 90.1 ± 1.1 | 82.7 ± 4.9 | 91.9 ± 2.7 |
| <i>A. nidulans</i> | 43.9 ± 13.4 | 50.2 ± 14.1 | 69.6 ± 15.4 |
| <i>A. sclerotiorum</i> | 78.2 ± 5.5 | 65.9 ± 7.5 | 46.8 ± 2.2 |
| <i>A. stellatus</i> | 56.3 ± 1.6 | 46.0 ± 4.9 | 83.8 ± 2.6 |
| <i>A. tamarii</i> | 84.9 ± 7.5 | 73.8 ± 13.7 | 75.4 ± 11.1 |
| <i>C. convolutum</i> | 39.8 ± 1.9 | 39.8 ± 1.9 | 53.6 ± 4.5 |
| <i>C. gloeosporioides</i> | 73.8 ± 3.2 | 61.6 ± 0.2 | 59.7 ± 7.2 |
| <i>C. truncatum</i> | 47.9 ± 4.6 | 47.8 ± 0.2 | 51.2 ± 0.9 |
| <i>D. phaseolorum</i> | 75.7 ± 6.1 | 80.6 ± 4.6 | 75.6 ± 0.1 |
| <i>F. solani</i> | 71.0 ± 8.7 | 66.7 ± 6.5 | 65.5 ± 4.9 |
| <i>G. nodulosa</i> | 20.0 ± 3.4 | 36.8 ± 2.5 | 40.7 ± 12.6 |
| <i>L. pseudotheobromae</i> | 100.0 ± 0.0 | 91.6 ± 1.6 | 92.3 ± 1.4 |
| <i>M. gracilis</i> | 17.7 ± 7.7 | 29.7 ± 2.5 | 26.9 ± 2.2 |
| <i>M. caatingaensis</i> | 31.4 ± 0.1 | 40.8 ± 5.3 | 35.2 ± 0.2 |
| <i>P. variotti</i> | 86.1 ± 3.8 | 78.3 ± 0.6 | 62.3 ± 2.2 |
| <i>P. citrinum</i> | 93.8 ± 0.1 | 81.6 ± 2.8 | 83.5 ± 4.0 |
| <i>S. musae</i> | 17.9 ± 4.3 | 16.5 ± 0.4 | 4.6 ± 0.1 |
| <i>T. longibrachiatum</i> | 100.0 ± 0.0 | 90.7 ± 2.1 | 91.2 ± 0.3 |
| <i>T. pseudokoningii</i> | 86.0 ± 0.1 | 86.8 ± 3.9 | 89.6 ± 1.1 |
| <i>X. mesenterica</i> | 55.9 ± 3.3 | 53.9 ± 9.5 | 40.0 ± 0.5 |

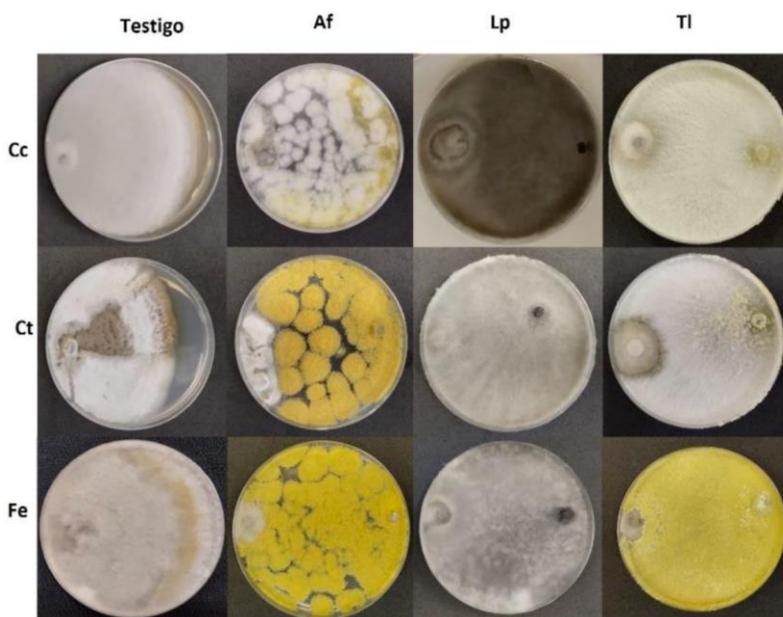


Figura 1. Cultivos duales en medio de cultivo PDA. A la izquierda se sembró el hongo fitopatógeno: *C. cassiicola* (Cc), *C. truncatum* (Ct), *F. equiseti* (Fe); a la derecha se sembró el hongo endófito: *A. flavus* (Af), *L. pseudotheobromae* (Lp), *T. longibrachiatum* (TI). Los testigos son los fitopatógenos sin cultivo dual.

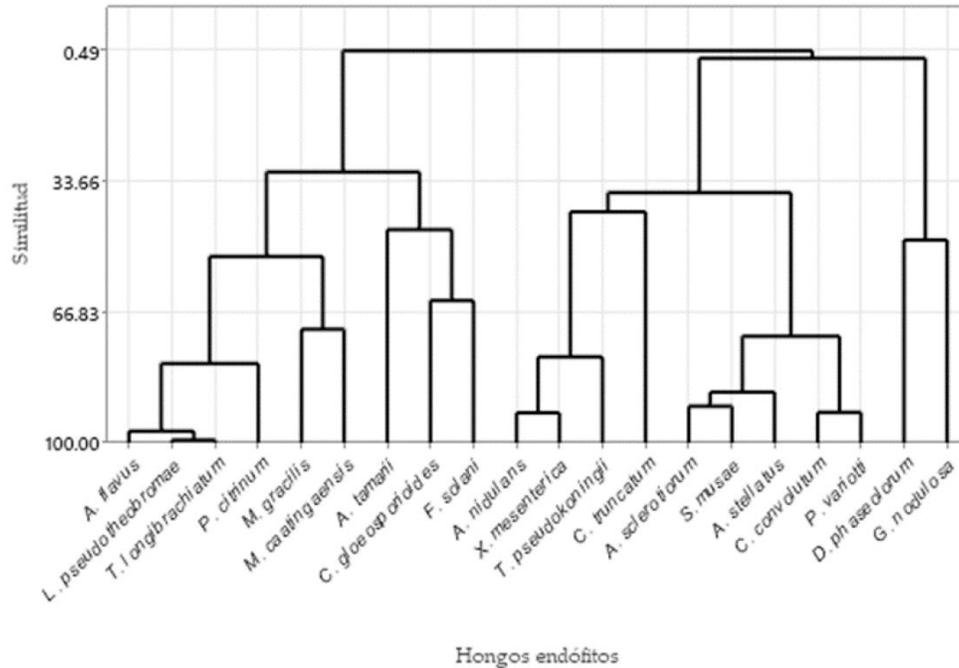


Figura 2. Análisis de conglomerado del efecto antifúngico de hongos endófitos en los cultivos duales (inhibición de crecimiento radial).

Efecto antifúngico por antibiosis

Los filtrados de las tres especies de hongos endófitos que exhibieron las mayores inhibiciones fueron evaluados contra los tres hongos fitopatógenos. Los filtrados fueron obtenidos de *A. flavus*, *L. pseudotheobromae* y *T. longibrachiatum* (Tabla 3).

Tabla 3. Efecto de la antibiosis sobre la inhibición de hongos fitopatógenos con filtrados de hongos endófitos aislados de *C. sativus* y *L. siceraria*.

| Hongo endófito | Inhibición (%) de crecimiento radial | | |
|----------------------------|--------------------------------------|---------------------|--------------------|
| | <i>C. cassicola</i> | <i>C. truncatum</i> | <i>F. equiseti</i> |
| <i>A. flavus</i> | 25.4 ± 3.9 a | 17.4 ± 0.7 a | 46.46 ± 3.32 a |
| <i>L. pseudotheobromae</i> | 25.9 ± 3.6 a | 11.6 ± 3.9 b | 44.9 ± 1.7 a |
| <i>T. longibrachiatum</i> | 25.6 ± 1.0 a | 12.8 ± 2.1 ab | 45.8 ± 2.0 a |
| Testigo | 00.0 ± 0.0 b | 00.0 ± 0.0 c | 00.0 ± 0.0 c |

Las medias dentro de la misma columna que no comparten letras son estadísticamente diferentes (Tukey, $p \leq 0.05$).

Los filtrados de las tres especies exhibieron antibiosis al disminuir el diámetro de crecimiento de los tres fitopatógenos, con diferencias significativas con respecto al cultivo testigo. El efecto más relevante se observó en *F. equiseti*, con inhibiciones superiores al 40% en los tres medios de cultivo. Las colonias de *F. equiseti* expuestas a los filtrados mostraron bordes grises redondeados y dieron al medio de cultivo una tonalidad color café amarillenta; mientras que los testigos presentaron bordes blancos irregulares y cambiaron el medio de cultivo a una tonalidad

rosa. En el caso de *C. cassicola*, las colonias sometidas a los filtrados fueron inhibidas hasta en 25.9%, presentando un micelio aplanado y aterciopelado; en contraste, los testigos mostraron crecimiento irregular, conspicuo y algodonoso. Para *C. truncatum* se reportaron inhibiciones de hasta 17.4% sin diferencias notorias en cuanto a la morfología de las colonias (Figura 3).

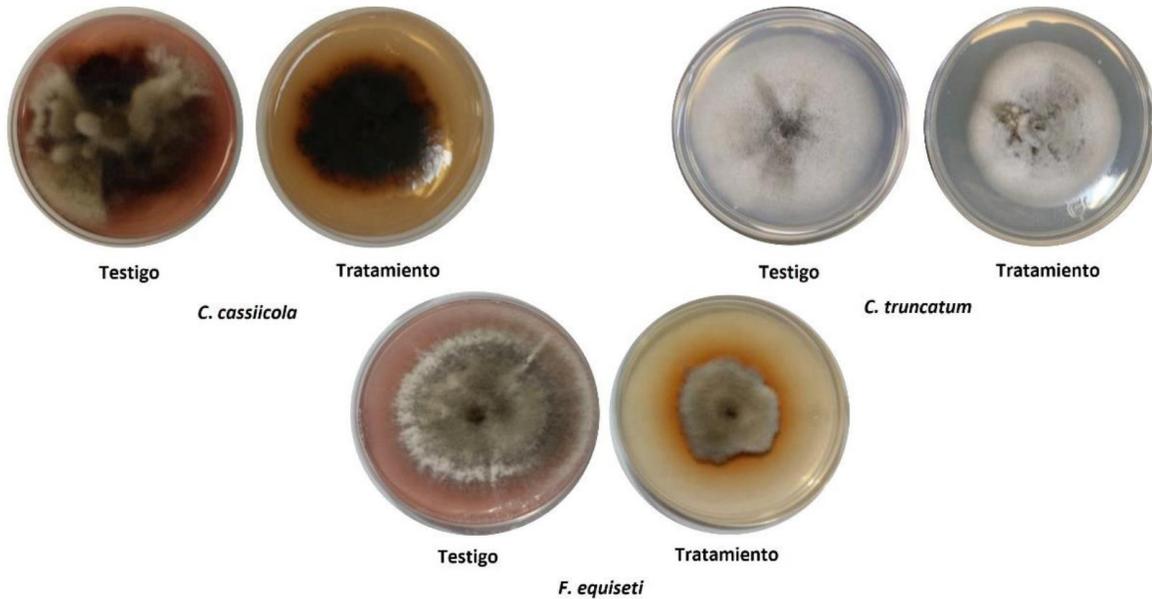


Figura 3. Efecto de la antibiosis del filtrado de *L. pseudotheobromae* en medio PDA contra tres hongos fitopatógenos, a los 14 días de siembra.

DISCUSIÓN

Identificación de hongos endófitos

Los hongos endófitos de cucurbitáceas han sido bien estudiados en regiones templadas y de forma moderada en las zonas semiáridas, incluyendo aquellos relacionados con *C. sativus* y *L. siceraria*. Los trabajos se han enfocado en realizar aislamientos de hojas, tallos y raíces (Huang *et al.* 2020). En el presente estudio, además de los tallos, las flores fueron relevantes para la obtención de aislamientos fúngicos. Por primera vez se registró la presencia de hongos endófitos en semillas de pepino y calabazo. Estas estructuras deben ser contempladas como parte de una bioprospección completa, pues se ha demostrado que la colonización de las semillas de la planta hospedante representa una importante estrategia reproductiva para algunas especies de hongos endófitos (Panaccione *et al.* 2014). De las 20 especies identificadas, cinco pertenecen al género *Aspergillus*, el cual es endófito, junto con *Penicillium*, *Fusarium*, *Colletotrichum* y *Xylaria* (Rashmi *et al.* 2019), los cuales también fueron reportados en este estudio, con dos especies en el caso de *Colletotrichum*.

Efecto antifúngico por competencia

Los hongos endófitos son una alternativa sustentable de biocontrol contra hongos fitopatógenos debido a sus variadas estrategias antagonistas, desencadenadas por un gran arsenal

de compuestos metabólicos con efectos diversos, resultantes de su coevolución con sus plantas hospedantes u otros microorganismos asociados (Alam *et al.* 2021). En condiciones *in vitro*, las especies aisladas demostraron inhibir el crecimiento de los tres hongos fitopatógenos en un amplio rango. La combinación menos efectiva fue la de *S. musae* contra *F. equiseti*, con una inhibición del 4.64%. El evidente cambio de coloración en el medio de cultivo y la forma de crecimiento de los hongos fitopatógenos, formando un halo alrededor del endófito, sugirieron la secreción de antibióticos por parte del endófito (Huang *et al.* 2020). El lento crecimiento de esta especie bajo las condiciones del ensayo fue una desventaja para su competencia contra los patógenos evaluados. Cepas de *S. musae* aisladas de plátano (Crous *et al.* 2021) y mangle (Song *et al.* 2023) crecieron en agar avena y agar extracto de malta a 25 °C, incluso se facilitó su esporulación al ser sometidas a luz ultravioleta. Para la cepa se debe considerar modificar las condiciones del cultivo en futuros estudios.

Los endófitos más efectivos fueron *L. pseudotheobromae* y *T. longibrachiatum*. Ambas cepas inhibieron el 100% del crecimiento micelial de *C. cassicola*. El rápido crecimiento de las colonias fue un factor que favoreció a una eficiente competencia por recursos y espacio por parte de los endófitos, ya que en 72 h cubrieron la totalidad del medio de cultivo y crecieron sobre el micelio del fitopatógeno. En contraste los fitopatógenos testigo, pasaron de 12 a 17 días para cubrir el medio de cultivo. Cepas endófitas de *Trichoderma* y *Lasiodiplodia* fueron descritas como micoparásitas agresivas al colonizar completamente a *Botrytis cinerea* en cultivos duales (Leo-Ttacca *et al.* 2022). Mientras que en especies de *Trichoderma* aisladas de melón y sandía se reporta un comportamiento hiperparasitario hacia fitopatógenos en cultivos duales, desarrollando hifas modificadas que apresan y rompen las hifas del patógeno (González *et al.* 2020).

Los resultados mostraron efecto antifúngico en *T. longibrachiatum* y *T. pseudokoningii*, con más del 85% de inhibición para los tres fitopatógenos evaluados. En estudios previos, *T. longibrachiatum* demostró efectividad en el biocontrol de *Magnaportheopsis maydis* (Degani *et al.* 2021), mientras que *T. pseudokoningii* registró control *in vitro* contra *M. phaseolina* hasta en un 62% (Khan y Javaid 2020). El género *Trichoderma* ha sido ampliamente utilizado en la agricultura por su eficacia contra hongos fitopatógenos que afectan cultivos de importancia agrícolas, a la vez que mantiene la integridad de las plantas y de otros organismos asociados (Baron *et al.* 2019). En general, las especies de este género se caracterizan por presentar crecimientos rápidos y por impedir el crecimiento del fitopatógeno, al producir metabolitos secundarios inhibidores de crecimiento micelial (Khan *et al.* 2020). A su vez, *Trichoderma* sintetiza una gran variedad de enzimas líticas que, al desintegrar la pared celular, facilitan la penetración de los metabolitos con efecto antibiótico, promoviendo un efecto dual y un antagonismo más eficiente (Sood *et al.* 2020).

La especie *Lasiodiplodia pseudotheobromae* se distribuye en regiones tropicales y subtropicales, con una gran variedad de hospederos, a la cual se le atribuyen efectos antifúngicos, antibacterianos y promotores de crecimiento vegetal (Jalil y Ibrahim 2022). El rápido crecimiento de cepas de este endófito también fue reportado en cultivos duales contra *F. oxysporum*, *Rhizoctonia solani* y *Macrophomina phaseolina*, con actividad micoparasitaria e inhibiciones del 70, 66 y 54%, respectivamente (Segaran y Sathivelu 2023).

Mientras que *Aspergillus* tuvo la mayor diversidad en la comunidad de endófitos, este género ha mostrado poca agresividad en contra de hongos fitopatógenos; pero hay reportes de inhibiciones cercanas al 80% contra *B. cinerea* (Leo-Ttacca *et al.* 2022) y *F. solani* (Rashad *et al.*

2022). En este estudio se registraron valores similares para *A. tamaritii* contra *C. cassiicola* y para *A. stellatus* contra *F. equiseti*. Pero destaca el efecto de *A. flavus*, que inhibió más del 90% del crecimiento de *C. cassiicola* y *F. equiseti*, y más del 80% del crecimiento de *C. truncatum*.

Si bien el género *Penicillium* es considerado uno de los principales contaminantes de alimentos y materiales, se ha posicionado como una fuente de metabolitos bioactivos con efectos antioxidantes, antiinflamatorios y antimicrobianos (Draemae et al. 2022). Al respecto, se reporta la presencia de zonas de inhibición en cultivos duales de *P. citrinum* contra cuatro fitopatógenos. Estas zonas de inhibición son indicadores de los componentes antifúngicos producidos por el hongo (Korejo et al. 2014). En el presente estudio el endófito *P. citrinum* también mostró una importante actividad antifúngica, con un 93.77% de inhibición contra *C. cassiicola*.

Efecto antifúngico por antibiosis

Las tres cepas de hongos endófitos que demostraron la mejor actividad antifúngica para los tres hongos fitopatógenos fueron *T. longibrachiatum*, *L. pseudotheobromae* y *A. flavus*, por lo que fueron seleccionadas para las correspondientes pruebas de antibiosis. Extractos de *T. longibrachiatum* demostraron efectos antibióticos contra 11 fitopatógenos, con inhibiciones del 95% contra *Cytospora mali* a los cinco días de incubación; identificando péptidos, policétidos y terpenos como los causantes de malformaciones morfológicas en los fitopatógenos (Zhang et al. 2018). La bisvertinolona es un compuesto antifúngico sintetizado por *T. longibrachiatum* con una fuerte actividad antifúngica, pues está relacionada con la inhibición de la síntesis de β -1,6-glucano, lo que desencadena la lisis de la pared celular del fitopatógeno (Ngo et al. 2021). Aunque *T. longibrachiatum* cuenta con eficientes estrategias antifúngicas, no es recomendable el empleo directo del micelio o las esporas para su uso en el biocontrol de enfermedades, debido a que es una de las especies principalmente identificadas como causal en la mayoría de las micosis reportadas, sobre todo en pacientes inmunocomprometidos e inmunosuprimidos. Pero es factible el uso de sus metabolitos con actividad antibiótica (Wang y Tu 2023).

Compuestos antifúngicos secretados por *L. pseudotheobromae* inhibieron el crecimiento de *R. solani*, *F. oxysporum* y *M. phaseolina*, en 70, 65, 24% a los siete días, respectivamente (Sagaran y Sathivelu 2023). Entre estos compuestos destaca la lasiodiplodina, causante de alteraciones en la morfología del micelio del fitopatógeno y la destrucción de su membrana celular (Luo et al. 2023). Además de su efectividad en cuanto a competencia y micoparasitismo, la facilidad del aislamiento, el rápido crecimiento y la secreción de compuestos como la lasiodiplodina, hacen a *L. pseudotheobromae* una buena candidata para su uso en el biocontrol de una amplia gama de enfermedades en cultivos agrícolas. Pero la eficiencia *in vitro* para biocontrolar fitopatógenos deberá validarse en condiciones de invernadero o campo.

Las formas endófitas de *A. flavus* exhiben una amplia gama de metabolitos secundarios con efecto antifúngico como ácido palmítico, ácido α -linolénico y ácido esteárico. Entre sus efectos destaca la disminución del metabolismo de proteínas y ácidos grasos; la modificación de la permeabilidad de la membrana celular, lo cual conlleva a la pérdida de electrolitos; la supresión de la germinación de las esporas y la interrupción de la división celular. Estos compuestos han causado la inhibición de *F. solani* hasta en 57.8% (Rashad et al. 2022). Si bien *A. flavus* se caracteriza por la producción de aflatoxinas que pueden comprometer la salud humana, se han reportado formas endófitas de esta especie que no producen aflatoxinas (Balbinot et al. 2021, Rashad et al.

2022). Estas cepas pueden considerarse como una alternativa de biocontrol contra hongos que sí las producen e incluso para reducir la presencia de estas micotoxinas en suelo contaminado (Weaver y Abbas 2019, Yan *et al.* 2021). Por lo que es necesario obtener el perfil químico de la cepa endófito aislada del estado de Yucatán para corroborar la presencia de aflatoxinas y considerarla una cepa promisoro para su aprovechamiento biotecnológico.

Los filtrados de las tres cepas seleccionadas mostraron inhibiciones menores a las reportadas por cepas de las mismas especies contra diferentes fitopatógenos, y a la vez, valores mucho menores a los registrados en los cultivos duales en este estudio. Esto puede deberse a que las condiciones del cultivo de los hongos endófitos en el medio líquido no fueron las óptimas para la secreción de una concentración eficiente de compuestos antifúngicos. Por ejemplo, las mejores condiciones para la producción de lasiodiplodina son pH inicial de 7; temperatura de 28 °C, volumen de líquido de 300/500 ml; relación C:N de 1:0 y tiempo de fermentación de 20 días (Luo *et al.* 2023). No obstante, bajo las condiciones de cultivo y fermentación proporcionadas, *F. equiseti* demostró una mayor susceptibilidad contra los filtrados de los tres hongos endófitos seleccionados. Estos aspectos deberán tomarse en consideración para pruebas posteriores con estas o con el resto de las cepas endófitas aisladas.

CONCLUSIONES

En diferentes órganos de cultivares criollos de pepino blanco y calabazo de Yucatán, México, se identificaron 20 especies de hongos endófitos. *Aspergillus* fue el género con mayor número de especies aisladas. *Aspergillus flavus*, *P. citrinum* y *T. pseudokoningii* demostraron inhibiciones de crecimiento micelial mayores al 80% para *C. cassicola*, *C. truncatum* y *F. equiseti*. Mientras que *Lasiodiplodia pseudotheobromae* y *T. longibrachiatum* registraron inhibiciones mayores al 90% para las tres especies de patógenos, llegando a inhibir por completo a *C. cassicola*. Se comprobó el efecto antibiótico de filtrados de *A. flavus*, *L. pseudotheobromae* y *T. longibrachiatum*. El mayor efecto se presentó contra *F. equiseti*, con inhibiciones de al menos 44.9%. Se requieren pruebas en planta de las cepas que no representen daño a la salud humana ni al agrosistema. La cepa de *L. pseudotheobromae* destacó como candidata para nuevas evaluaciones, principalmente por su rápido crecimiento, uso eficiente del espacio y los recursos nutricionales, la agresividad y el micoparasitismo reportado contra varios fitopatógenos y la secreción de metabolitos con propiedades antiparasitarias.

AGRADECIMIENTOS

Tecnológico Nacional de México: Proyecto “Efecto antifúngico de hongos endófitos de *Cucumis sativus* y *Lagenaria siceraria*, cultivares criollos de Yucatán (TecNM 17601.23-P)”, al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) por la beca de posgrado otorgada y a los estudiantes del Laboratorio de Fitopatología del TecNM/ Campus Conkal.

CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores declaran que no tienen intereses en competencia.

LITERATURA CITADA

- Alam B, Li J, Ge Q, Khan MA, Gong J, Mehmood S, Yuán Y, Gong W (2021) Endophytic fungi: from symbiosis to secondary metabolite communications or vice versa? *Frontiers in Plant Science* 12:791033. <http://doi.org/10.3389/fpls.2021.791033>.
- Bacon CW, White JF (2016) Functions, mechanisms and regulation of endophytic and epiphytic microbial communities of plants. *Symbiosis* 68: 87-98. <https://doi.org/10.1007/s13199-015-0350-2>.
- Balbinot RB, De Oliveira JAM, Bernardi DI, Polli AD, Polonio JC, Cabral MRP (2021) *Chromolaena laevigata* (Asteraceae) as a source of endophytic non-aflatoxigenic *Aspergillus favus*: chemical profile in different culture conditions and biological applications. *Brazilian Journal of Microbiology* 52: 1201-1214. <https://doi.org/10.1007/s42770-021-00502-6>.
- Barnett HL, Hunter BB (1998) Illustrated genera of imperfect fungi. 3rd ed. American Phytopathological Society Press. Minnesota, EE.UU. 241p.
- Baron NC, Rigobelo EC, Zied DC (2019) Filamentous fungi in biological control: current status and future perspectives. *Chilean Journal of Agricultural Research* 79: 307-315. <https://doi.org/10.4067/s0718-58392019000200307>.
- Beltrán M, Delgado JC, Valdivia A, Hernández A, García AM (2023) First report of *Fusarium equiseti* causing root and crown rot in tomato in Mexico. *Plant Disease* 107: 2542. <https://doi.org/10.1094/PDIS-10-22-2494-PDN>.
- Benítez-Malvido J, Gavito ME (2012) Interacción entre plantas y hongos. In: Del-Val E, Boege K (eds) *Ecología y evolución de las interacciones bióticas*. Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad de México, México. pp: 140-174.
- Boughalleb-M'Hamdi N, Ben Salem I, M'Hamdi M (2018) Evaluation of the efficiency of *Trichoderma*, *Penicillium*, and *Aspergillus* species as biological control agents against four soil-borne fungi of melon and watermelon. *Egyptian Journal of Biological Pest Control* 28: 1-12. <https://doi.org/10.1186/s41938-017-0010-3>.
- Crous P, Carlier J, Roussel V, Groenewald JZ (2020). *Pseudocercospora* and allied genera associated with leaf spots of banana (*Musa* spp.). *Fungal Systematics and Evolution* 7: 1-19. <http://doi:10.3114/fuse.2021.07.01>.
- Cruz-Cerino P, Cristóbal-Alejo J, Ruiz-Carrera V, Carnevali G, Vera-Ku M, Martín J, Reyes F, Gamboa-Angulo M (2020) Extracts from six native plants of the Yucatán Peninsula hinder mycelial growth of *Fusarium equiseti* and *F. oxysporum*, pathogens of *Capsicum chinense*. *Pathogens* 9(10): 827. <https://doi.org/10.3390/pathogens9100827>.
- Degani O, Rabinovitz O, Becher P, Gordani A, Chen A (2021) *Trichoderma longibrachiatum* and *Trichoderma asperellum* confer growth promotion and protection against late wilt disease in the field. *Journal of Fungi* 7: 444. <https://doi.org/10.3390/jof7060444>
- Derbalah AS, Elkot GA (2011) Cultural filtrates of certain microbial isolates as an alternative to powdery mildew chemical control in cucumbers. *Journal of Pesticide Science* 36:402-406. <https://doi.org/10.1584/jpestics.G11-23>.
- Draeae A, Intaraudom C, Bunbamrung N, Boonyuen N, Auncharoen P, Pittayakhajonwut P (2022) Antimicrobial tanzawaic acid derivatives from the endophytic *Penicillium citrinum* BCC71086. *Tetrahedron* 106-107: 132646. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2022.132645>.
- Edwards-Molina JP, Paul PA, Amorim L, Da Silva LHCPF, Siqueri V, Borges EP, Balardin RS (2019) Effect of target spot on soybean yield and factors affecting this relationship. *Plant Pathology* 68: 107-115. <https://doi.org/10.1111/ppa.12944>.
- Gamboa-Gaitán MA (2006) Hongos endófitos tropicales: conocimiento actual y perspectivas. *Acta Biológica Colombiana* 11(Suppl. 1): 3-20.
- Gilchrist-Saavedra L, Fuentes-Dávila G, Martínez-Cano C, López-Atilano RM, Duveiller E, Singh RP, Henry M, García I (2015) Guía práctica para la identificación de algunas enfermedades de trigo y cebada. CIMMYT. Ciudad de México, México. 68p.

- González V, Armijos E, Garcés-Claver A (2020) Fungal endophytes as biocontrol agents against the main soil-borne diseases of melon and watermelon in Spain. *Agronomy* 10: 820. <https://doi.org/10.3390/agronomy10060820>.
- He MH, Li DL, Zhu W, Wu EJ, Yang LN, Wang YP, Waheed A, Zhan J (2017) Slow and temperature-mediated pathogen adaptation to a nonspecific fungicide in agricultural ecosystem. *Wiley Evolutionary Applications* 11: 182-192. <https://doi.org/10.1111/eva.12526>.
- Huang LQ, Niu YC, Su L, Deng H, Lyu H (2020) The potential of endophytic fungi isolated from cucurbit plants for biocontrol of soilborne fungal diseases of cucumber. *Microbiological Research* 23: 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2019.126369>.
- Huertas L (2008) El control ambiental en invernaderos: humedad relativa. *Horticultura* 205: 52-54.
- Jalil MTM, Ibrahim D (2022) Volatile bioactive compounds from *Lasiodiplodia pseudotheobromae* IBRL OS-64, an endophytic fungus residing in the leaf of *Ocimum sanctum*. *Hayati Journal of Biosciences* 29(5): 570-585. <http://doi.org/10.4308/hjb.29.5.570-585>.
- Juárez-Becerra GP, Sosa-Morales ME, López-Malo A (2010) Hongos fitopatógenos de alta importancia económica: descripción y métodos de control. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos* 4: 14-23.
- Khan AL, Hussain J, Al-Harrasi A (2013) Endophytic fungi: resource for gibberellins and crop abiotic stress resistance. *Critical Reviews in Biotechnology* 35: 62-74. <https://doi.org/10.3109/07388551.2013.800018>.
- Khan IH, Javaid A (2020) *In vitro* biocontrol potential of *Trichoderma pseudokoningii* against *Macrophomina phaseolina*. *International Journal of Agriculture And Biology* 24: 730-73. <https://doi.org/10.17957/IJAB/15.1494>
- Khan RAA, Najeeb S, Hussain S (2020) Bioactive secondary metabolites from *Trichoderma* spp. against phytopathogenic fungi. *Microorganisms* 8: 817. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8060817>
- Kim CK, Eo JK, Eom AH (2013) Diversity and seasonal variation of endophytic fungi isolated from three conifers in Mt. Taehwa, Korea. *Mycobiology* 41: 82-85. <https://doi.org/10.5941/myco.2013.41.2.82>
- Korejo F, Ali SA, Shafique HA, Sultana V, Ara J, Ehteshamul-Haque S (2014) Antifungal and antibacterial activity of endophytic *Penicillium* species isolated from salvadora Species. *Pakistan Journal of Botany* 46: 2313-2318.
- Leon-Ttacca B, Yactayo-Yataco R, Astete-Farfán A, Mattos-Calderón L, Arestegui-Cantoral J (2022) Antibiosis and mycoparasitism of endophytic fungi on the causal agent of blueberry gray mold (*Botrytis cinerea*). *Bioagro* 34: 209-220. <https://doi.org/10.51372/bioagro343.1>
- Lira-Saade R (2004) Cucurbitaceae de la Península de Yucatán. *Etnoflora Yucatanense* 22. Universidad Autónoma de Yucatán. Mérida, México. 312p.
- Lira-Saade R, Rodríguez-Arévalo NI (2011) Angiospermae. Magnoliopsida. Cucurbitaceae Juss. In: García-Mendoza AJ, Meave JA (eds) *Diversidad florística de Oaxaca: de musgos a angiospermas (colecciones y lista de especies)*. Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad de México, México. pp: 215-217.
- Liu X, Dou G, Ma Y (2016) Potential of endophytes from medicinal plants for biocontrol and plant growth promotion. *Journal of General Plant Pathology* 82: 165-173. <https://doi.org/10.1007/s10327-016-0648-9>
- Luo H, Meng S, Deng Y, Deng Z, Shi H (2023) *In vitro* antifungal activity of lasiodiplodin, isolated from endophytic fungus *Lasiodiplodia pseudotheobromae* J-10 associated with *Sarcandra glabra* and optimization of culture conditions for lasiodiplodin production. *Archives of Microbiology* 205: 140. <https://doi.org/10.1007/s00203-023-03440-z>.
- Mousa WK, Schwan A, Davidson J (2015) An endophytic fungus isolated from finger millet (*Eleusine coracana*) produces antifungal natural products. *Frontiers in Microbiology* 6: 1157. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01157>.
- Mu L, Niu Y, Deng H (2010) The endophytic mycobiota in summer growing cucumber in Beijing. *Mycosystema* 29: 214-221. <https://doi.org/10.13346/j.mycosystema.2010.02.021>.
- Nascimento TL, Oki Y, Lima DMM (2015) Biodiversity of endophytic fungi in different leaf ages of *Calotropis procera* and their antimicrobial activity. *Fungal Ecology* 14:79-86. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2014.10.00>.
- Ngo MT, Nguyen MV, Han JW, Park MS, Kim H, Choi GJ (2021) *In Vitro* and *In Vivo* antifungal activity of sorbicillinoids produced by *Trichoderma longibrachiatum*. *Journal of Fungi* 7(6): 428. <https://doi.org/10.3390/jof7060428>.
- Panaccione DG, Beaulieu WT, Cook D (2014) Bioactive alkaloids in vertically transmitted fungal endophytes. *Functional Ecology* 28: 299-314. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12076>.
- Pemán J, Salavert M (2014) Enfermedad fúngica invasora por *Scedosporium*, *Fusarium* y *Mucor*. *Revista Iberoamericana de Micología* 31: 242-248. <https://doi.org/10.1016/j.riam.2014.05.002>

- Rahman MZ, Ahmad K, Siddiqui Y, Saad N, Hun TG, Hata EM, Rashed O, Hossain MI (2022) First report of *Fusarium equiseti* causing fruit rot disease of watermelon in Malaysia. *Plant Disease* 106:326. <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-21-1027-PDN>.
- Rashad YM, Abdalla SA, Shehata AS (2022) *Aspergillus flavus* YRB2 from *Thymelaea hirsuta* (L.) Endl., a non-aflatoxigenic endophyte with ability to overexpress defense-related genes against *Fusarium* root rot of maize. *BMC Microbiology* 22: 229. <https://doi.org/10.1186/s12866-022-02651-6>.
- Rashmi M, Kushveer JS, Sarma VV (2019) A worldwide list of endophytic fungi with notes on ecology and diversity. *Mycosphere* 10: 789-1079. <https://doi.org/10.5943/mycosphere/10/1/19>.
- Rivera JM (2008) Deterioro poscosecha de las frutas y hortalizas frescas por hongos y bacterias. Fundación Hondureña de Investigación Agrícola. http://www.fhia.org.hn/descargas/Departamento_de_Proteccion_Vegetal/hoja_tecnica_proteccion_vegeta101.pdf. Fecha de consulta: 12 de mayo de 2024.
- Segaran G, Sathivelu M (2023) Fungicidal and plant growth promoting traits of *Lasiodiplodia pseudotheobromae*, an endophyte from *Andrographis paniculata*. *Frontiers in Plant Science* 14: 1125630. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1125630>.
- Silva CFB, Michereff SJ, Albuquerque HS, Silva JA, Oliveira SMA, Dantas SAF (2002) Epidemiología de enfermedades fúngicas de postcosecha en frutos de papaya. *Boletín Micológico* 17: 1-7. <https://doi.org/10.22370/bolmicol.2002.17.0.432>
- Song S, Li M, Huang JE, Liu F (2023) Two new species of *Scolecobasidium* (Venturiales, Symptenturiaceae) associated with true mangrove plants and *S. terrestre* comb. nov. *MycKeys* 96: 113-126. <http://doi.org/10.3897/mycokeys.96.100621>.
- Sood M, Kapoor D, Kumar V, Sheteiwy MS, Ramakrishnan M, Landi M, Araniti F, Sharma A (2020) *Trichoderma*: The “secrets” of a multitasking biocontrol agent. *Plants* 9(762). <http://doi.org/10.3390/plants9060762>
- Stirling M, Stirling G (1997) Disease management: Biological control. In: Brown J, Ogle H (eds) *Plant pathogens and plant diseases*. Rockvale Publications. Amidale, Australia. pp. 427-439.
- Su L, Niu Y (2018) Multilocus phylogenetic analysis of *Talaromyces* species isolated from cucurbit plants in China and description of two new species, *T. cucurbitiradicus* and *T. endophyticus*. *Mycologia* 110: 375-386. <https://doi.org/10.1080/00275514.2018.1432221>.
- Su L, Deng H, Niu Y (2016) *Phialemoniopsis endophytica* sp. nov., a new species of endophytic fungi from *Luffa cylindrica* in Henan, China. *Mycological Progress* 15: 48-54. <https://doi.org/10.1007/s11557-016-1189-5>.
- Su L, Deng H, Niu Y (2017) Phylogenetic analysis of *Plectosphaerella* species based on multi-locus DNA sequences and description of *P. sinensis* sp. nov. *Mycological Progress* 16: 823-829. <https://doi.org/10.1007/s11557-017-1319-8>.
- Torres-Calzada C, Tapia-Tussell R, Higuera-Ciapara I, Huchin-Poot E, Martin-Mex R, Nexticapan-Garcez A, Pérez-Brito D (2018) Characterization of *Colletotrichum truncatum* from papaya, pepper and physic nut based on phylogeny, morphology and pathogenicity. *Plant Pathology* 67: 821-830. <https://doi.org/10.1111/ppa.12800>.
- Trigos A, Ramírez K, Salinas A (2008) Presencia de hongos fitopatógenos en frutas y hortalizas y su relación en la seguridad alimentaria. *Revista Mexicana de Micología* 28: 125-129
- Tymon LS, Morgan P, Gundersen B, Inglis DA (2020) Potential of endophytic fungi collected from *Cucurbita pepo* roots grown under three different agricultural mulches as antagonistic endophytes to *Verticillium dahliae* in western Washington. *Microbiological Research* 240. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126535>
- Verma SK, Gond SK, Mishra A (2013) Impact of environmental variables on the isolation, diversity and antibacterial activity of endophytic fungal communities from *Madhuca indica* Gmel. at different locations in India. *Annals of Microbiology* 64: 721-734. <https://doi.org/10.1007/s13213-013-0707-9>.
- Wang S, Tu J (2023) Invasive pulmonary infection caused by *Trichoderma longibrachiatum*. *Thorax* 78: 632-633. <https://doi.org/10.1136/thorax-2022-219855>
- Waqas M, Khan AL, Kamran M (2012) Endophytic fungi produce gibberellins and indoleacetic acid and promotes host-plant growth during stress. *Molecules* 17: 10754-10773. <https://doi.org/10.3390/molecules170910754>
- Weaver MA, Abbas HK (2019) Field displacement of aflatoxigenic *Aspergillus flavus* strains through repeated biological control applications. *Frontiers in Microbiology* 10: 1788. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01788>

- White TJ, Burns TD, Lee SB, Taylor JW (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sinnsky JJ, White TJ (eds) PCR protocols: a guide to methods and applications. Nueva York, EE.UU. Academic Press. pp 315-322.
- Xue Q, Niu Y, Deng H (2015) Diversity of endophytic fungi in common cucurbit plants. *Mycosystema* 34: 196-203. <https://doi.org/10.13346/j.mycosystema.140030>
- Yan L, Song W, Chen Y, Kang Y, Lei Y, Huai D (2021) Effect of non-aflatoxigenic strains of *Aspergillus flavus* on aflatoxin contamination of preharvest peanuts in fields in China. *Oil Crop Science* 6: 81-6. <https://doi.org/10.1016/j.ocsci.2021.04.004>. 48.
- Yan L, Zhao H, Zhao X (2018) Production of bioproducts by endophytic fungi: chemical ecology, biotechnological applications, bottlenecks, and solutions. *Applied Microbiology and Biotechnology* 102:6279-6298. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9101-7>.
- Zhang DX, Nagabhyru P, Blankenship JD (2010) Are loline alkaloid levels regulated in grass endophytes by gene expression or substrate availability?. *Plant Signaling & Behavior* 5: 1419-1422. <https://doi.org/10.4161/psb.5.11.13395>.
- Zhang S, Xu B, Zhang J, Gan Y (2018) Identification of the antifungal activity of *Trichoderma longibrachiatum* T6 and assessment of bioactive substances in controlling phytopathogens. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 147:59-66. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2018.02.006>.
- Zizumbo D (1986) El manejo de alta diversidad en plantas cultivadas: estrategia central de la agricultura mesoamericana. *Boletín de la Escuela de Ciencias Antropológicas de la Universidad de Yucatán* 14: 3-15.