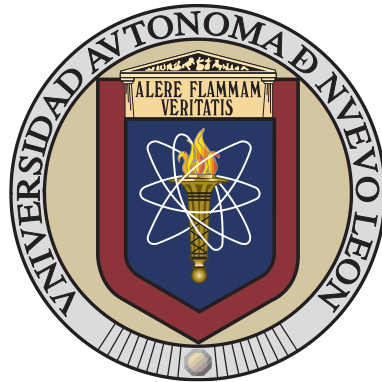


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



“USO DE HONGOS ENDÓFITOS AISLADOS DE TEOCINTLE DEL BALSAS (*Zea mays ssp. parviglumis*) PARA MEJORAR LAS CONDICIONES DE CULTIVO DE VARIETADES COMERCIALES DE MAÍZ (*Zea mays mays*).”

POR

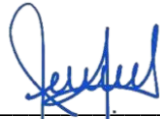
QFB. ALEXIA BANDA GUTIERREZ

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE Maestra en  
Ciencias con Orientación en Microbiología

2024

**“USO DE HONGOS ENDÓFITOS AISLADOS DE TEOCINTLE DEL BALSAS  
(*Zea mays ssp. parviglumis*) PARA MEJORAR LAS CONDICIONES DE  
CULTIVO DE VARIEDADES COMERCIALES DE MAÍZ (*Zea mays mays*).”**

**Comité de tesis**



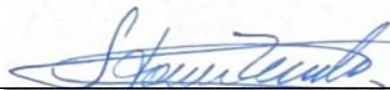
---

**Dra. María Julissa Ek Ramos**  
Director de Tesis



---

**Dr. Hamlet Avilés Arnaut**  
Secretario



---

**Dra. Susana de la Torre Zavala**  
Vocal



---

**Dra. Jose Alberto Valadez Lira**  
Vocal



---

**Dr. Alonso Orozco Flores**  
Vocal



---

**Dra. Katiushka Arévalo Niño**  
Subdirectora de Posgrado



**SUBDIRECCIÓN  
DE POSGRADO**

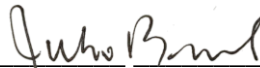
**“USO DE HONGOS ENDÓFITOS AISLADOS DE TEOCINTLE DEL BALSAS  
(*Zea mays ssp. parviglumis*) PARA MEJORAR LAS CONDICIONES DE  
CULTIVO DE VARIEDADES COMERCIALES DE MAÍZ (*Zea mays mays*).”**

**Dirección de tesis**



---

**Dra. María Julissa Ek Ramos**  
Director Interno



---

**Dr. Julio S. Bernal**  
Director Externo

## **DERECHOS RESERVADOS©**

### **PROHIBIDA SU REPRODUCCION TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta Tesis está protegido, el uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material contenido que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde se obtuvo mencionando al autor o autores.

## AGRADECIMIENTOS

Expreso mi gratitud al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnologías (CONAHCYT) por el apoyo económico brindado durante mi programa de maestría (No. De CV. 1188548).

A la Universidad Autónoma de Nuevo León, a la Facultad de Ciencias Biológicas y a la Unidad de Formulación de Biológicos, por brindar sus instalaciones y recursos. A la Dra. Cristina Padilla Rodríguez, por abrir las puertas del departamento de Inmunología y Virología.

A la Texas A&M University, al Departamento de Patología de Plantas y Microbiología, y al Departamento de Entomología, por brindarme la oportunidad de realizar una estancia de investigación dentro de sus instalaciones.

Agradezco profunda e infinitamente a la Dra. Julissa Ek Ramos, por abrirme las puertas de su laboratorio y darme la oportunidad de formar parte de su equipo de trabajo. Por todos sus consejos, interés, apoyo y paciencia hacia mi persona.

Aprovecho la oportunidad para agradecer al Dr. Julio S. Bernal, por aceptar la invitación de ser mi director externo. Por todos sus consejos, revisiones, interés y apoyo brindados durante y después de mi estancia en la Texas A&M. Al Dr. Sanjay Antony Babu, a Ilksen Topcu, a Tristan Gregory y a Vanessa Thomas, por su gran paciencia y por enseñarme todos sus conocimientos mientras estuve en la Texas A&M.

A los miembros del comité por sus recomendaciones durante el trabajo y la revisión de la tesis. A mis compañeros del Laboratorio de Formulación de Biológicos, especialmente a la MSc. Rosa Angela Flores, y al MSc. Servando Cantú, *¿¿y el gel??* A Cristina, Alicia, Mariana, Marcela, Diana, Ana y Angello. Al Dr. Alonso Orozco, al Dr. José Lomeí y a su estudiante, Erika Padilla, por su apoyo técnico.

A los chicos de servicio social de la Dra. Julissa; Andrea, Chuy y Arantza, por todo su apoyo. Así mismo, aprovecho para agradecer profundamente a Susana Orozco, por brindarme su ayuda con el proyecto mientras estaba en Texas. A mis compañeras y amigas de generación de maestría, Amalia, Becky, Diana y Ana; y a Aza, *bendito seas entre las mujeres*.

A Carlos Andrade, por formar parte de mi vida y acompañarme en esta aventura. Por los cafés a medio terminar mientras escribíamos nuestros manuscritos con los audífonos puestos. Cuando nos mirábamos de soslayo, sabiendo que ahí íbamos a estar.

## DEDICATORIA

A Papá, porque siempre me impulsas.

A Mamá, porque siempre me escuchas.

A Abue Celia, porque siempre estas pidiendo que regrese a Saltillo. Planto un beso en tu frente antes de irme, con las maletas rotas y los tuppens con fruta fresca que me echas a la mochila.

A Carlos, eres todo y más. En el metro de Monterrey, tomándome de la mano.

A mis amigas de toda la vida y para toda la vida. Andrea Valeria, Andrea Olvera y Paulina Parga de Saltillo; a Diana Laura de Sonora, Ana Laura de Chihuahua, Becky, Amalia, y Rosa Angela (Oppie Rosa) de Nuevo León; a Anny Melissa de Colombia y a Montse Veloz de Pachuca, Hidalgo; a Maki de Perú. No podría haberlo logrado sin sus historias, sus chistes, el vino, el café, las canciones de Natalia Lafourcade, las películas, los audios tipo Podcast, los fanfics y los tacos de barbacoa por la mañana.

*“Si supiese qué es lo que estoy haciendo, no le llamaría investigación”.*

-Albert Einstein.

# ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN .....	1
2. ANTECEDENTES.....	3
2.1. Microorganismos endófitos .....	3
2.2. Hongos endófitos.....	3
2.2.1. Características de los hongos endófitos .....	3
2.2.2. Hongos endófitos: Clasificación y biodiversidad .....	4
2.2.3. Hongos endófitos transmitidos a través de las semillas.....	5
2.2.4. Interacción planta-hongo endófito: Mecanismos de acción de los hongos endófitos.....	6
2.3. Importancia de los hongos endófitos en la agricultura.....	7
2.3.1. Hongos endófitos en el control biológico de insectos plaga.....	8
2.4. Hongos endófitos de plantas silvestres y su aplicación en una agricultura sostenible .....	10
2.5. Teocintle de Balsas ( <i>Zea mays</i> ssp. <i>parviglumis</i> ) y maíz domesticado ( <i>Zea mays mays</i> ).....	12
2.6. <i>Spodoptera frugiperda</i> (J.E Smith) como plaga catastrófica mundial .....	16
3. JUSTIFICACIÓN .....	18
4. HIPÓTESIS.....	19
5. OBJETIVOS .....	20
5.1. Objetivo general .....	20
5.2. Objetivos particulares.....	20
6. MATERIALES Y MÉTODOS .....	21
6.1. Material biológico utilizado .....	21
6.2. Aislamiento e identificación molecular de endófitos de origen natural presentes en semillas de teocintle de Balsas ( <i>Zea mays</i> ssp. <i>parviglumis</i> ) .....	22

6.3. Desarrollo de un método de inoculación para el establecimiento de hongos endófitos candidatos en la variedad comercial de maíz B73.....	24
6.5. Evaluación sistemática de la eficacia de al menos un endófito candidato contra <i>S. frugiperda</i> .....	26
6.6. Análisis estadístico .....	27
7. RESULTADOS.....	28
7.1. Aislamiento e identificación de endófitos de origen natural presentes en semillas de teocintle de Balsas ( <i>Zea mays</i> ssp. <i>parviglumis</i> ) .....	28
7.2. Desarrollo de un método de inoculación para el establecimiento de hongos endófitos candidatos en la variedad comercial de maíz B73.....	32
7.2.1. Porcentaje del establecimiento del endófito .....	32
7.2.2. Efecto de UANL3 <i>C. globosum</i> en la germinación de <i>Z. mays</i> B73 .....	33
7.3. Evaluación los efectos de al menos un endófito candidato sin y con <i>S. frugiperda</i> en el crecimiento de plantas de maíz B73 .....	34
7.3.1. Evaluación del efecto de UANL3 <i>C. globosum</i> en plántulas de maíz de 21 días de crecimiento previa a la infestación.....	34
7.3.2. Evaluación del efecto de UANL3 <i>C. globosum</i> en plántulas de <i>Z. mays</i> B73 de 28 días de crecimiento con y sin <i>S. frugiperda</i> .....	34
7.4 . Evaluación del efecto de UANL3 <i>C. globosum</i> contra <i>S. frugiperda</i> .....	37
8. DISCUSIÓN .....	39
9. CONCLUSIÓN.....	45
10. PERSPECTIVAS .....	46
11. BIBLIOGRAFÍA.....	47



## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Taxonomía del teocintle de Balsas ( <i>Zea mays</i> ssp. <i>parviglumis</i> ) y del maíz domesticado ( <i>Zea mays mays</i> ).....	16
Tabla 2. Taxonomía de <i>Spodoptera frugiperda</i> (J.E Smith).....	17
Tabla 3. Oligonucleótidos empleados.....	23
Tabla 4. Identificación molecular de los hongos endófitos aislados de semillas de <i>Z. mays</i> ssp. <i>parviglumis</i> .....	28
Tabla 5. Descripciones morfológicas macroscópicas y microscópicas en agar PDA de las cepas aisladas de las semillas de teocintle.....	31

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Efectos de la inoculación de hongos endófitos en plantas.....	6
Figura 2. Masa de huevecillos de <i>S. frugiperda</i> a punto de eclosionar.....	21
Figura 3. Primer instar larvario de <i>S. frugiperda</i> en dieta artificial.....	22
Figura 4. Filtración de esporas de la cepa UANL3-LN <i>Chaetomium globosum</i> 24	
Figura 5. Prueba de pregerminación en semillas de maíz B73 .....	25
Figura 6. Larvas de <i>S. frugiperda</i> en plantas de maíz .....	27
Figura 7. Morfología macroscópica y microscópica de los hongos endófitos aislados de las semillas de teocintle de Los Naranjos de Abajo.....	29
Figura 8. Morfología macroscópica y microscópica de los hongos aislados de las semillas de teocintle de Las Raíces .....	30
Figura 9. Porcentaje de establecimiento del endófito.....	32
Figura 10. Presencia de UANL3 <i>C. globosum</i> en plantas de 14 días.....	32
Figura 11. Cepa UANL3 <i>C. globosum</i> recuperada de plantas de 14 días.....	33
Figura 12. Porcentaje de germinación.....	33
Figura 13. Longitud total de la planta y Diámetro del tallo a los 21 días.....	34
Figura 14. Longitud total de la planta a los 28 días.....	35
Figura 15. Diámetro del tallo a los 28 días de crecimiento a nivel de tratamiento y sin/con <i>S. frugiperda</i> 35	
Figura 16. Peso seco de la parte aérea de la planta a los 28 días .....	36
Figura 17. Peso seco de la parte subterránea de la planta a nivel de tratamiento .....	36
Figura 18. Peso total de la planta a nivel de tratamiento .....	37
Figura 19. Peso seco del cuerpo de las larvas recuperadas.....	37
Figura 20. Ancho de cápsula cefalica de las larvas y supervivencia de las larvas.....	38

## LISTA DE SIMBOLOS Y ABREVIATURAS

C-endófitos	Endófitos clavicipitaceos
NC-endófitos	Endófitos no-clavicipitaceos
IAA	Acido indol acético
VOC	Compuestos orgánicos volátiles
DON	Deoxinivalenol
<i>Wip1</i>	Fosfatasa 1 inducida por p53 de tipo silvestre
FAW	Gusano cogollero, por sus siglas en inglés, <i>Fall Armyworm</i>
SENASICA	Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria
GRIN-Global	Red de información sobre Recursos de Germoplasma
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ITS	Espaciador Transcrito Interno
PDA	Agar Papa dextrosa
V8	Agar V8
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
LABSERGEN	Laboratorios de Servicios Genómicos
NCBI	Centro Nacional para la Información Biotecnológica
±	Más/menos
%	Porcentaje
V	Voltios
mL	Mililitros
mg	Miligramos
g	gramos
μL	Microlitros
UANL3	Plantas tratadas con <i>Chaetomium globosum</i> cepa UANL3
CC	Control negativo (Plantas no tratadas con el inoculo)
-	Plantas sin infestar
+	Plantas infestadas

## RESUMEN

Los parientes silvestres de las plantas domesticadas muestran mayor tolerancia a condiciones de estrés que sus contrapartes modernas. Estudios han informado que el pariente silvestre más cercano al maíz, el teocintle del Balsas (*Zea mays* L. ssp. *parviglumis* Iltis & Doebley), alberga hongos endófitos capaces de combatir plagas insectiles de los cultivos modernos del maíz (*Zea mays* L. *mays*), además de conferir efectos positivos para su crecimiento. En el presente estudio se identificaron hongos endófitos y se evaluó un candidato como una alternativa a los insecticidas químicos para el manejo de la plaga del gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda* J.E. Smith). Establecimos un método de inoculación de semillas de maíz y se evaluó el efecto del endófito en el crecimiento de la planta con y sin *S. frugiperda*, así como el efecto sobre las larvas recuperadas. Nuestros resultados destacaron los taxones fúngicos *Aspergillus*, *Daldinia*, *Chaetomium*, *Rhizopus* y *Penicillium*. Géneros y especies, según lo que se ha reportado por otros autores, podrían resultar útiles para el biocontrol. La prueba de colonización endofítica indicó que la cepa del hongo UANL3 identificada como *Chaetomium globosum* colonizó exitosamente la planta. Además incrementó la longitud total de la planta a los 21 días. La longitud total de las plantas continuó incrementándose en las plantas tratadas a los 28 días de crecimiento. Las plantas inoculadas con UANL3 en comparación con las del control y en presencia de *S. frugiperda*, no aumentaron ni disminuyeron su longitud ni su peso seco, indicando un posible mecanismo de tolerancia a la herbivoría. Ni el peso corporal ni el ancho de la cápsula cefálica de las larvas recuperadas difirió entre los tratamientos, por lo que se descarta un efecto directo de UANL3 sobre larvas de gusano cogollero. Nuestro estudio demostró que el teocintle de Balsas es una fuente de hongos benéficos potencialmente útiles, y este es uno de los primeros reportes que emplean hongos endófitos aislados de teocintle de Balsas contra *S. frugiperda*.

## ABSTRACT

Crop wild relatives show greater tolerance to stress conditions than their modern crop counterparts. Studies have reported that Balsas teosinte (*Zea mays* L. ssp. *parviglumis*), maize's closest wild relative harbor fungal endophytes that are able to fight insect pests from modern maize crops (*Zea mays* L. ssp. *mays*), and also bring positive effects for the growth. In this study we identified fungal endophytes and evaluated a candidate as an alternative to chemical insecticides for control of fall armyworm pest (*S. frugiperda* J.E Smith). We established a method for maize seed inoculation and evaluated the effect against *S. frugiperda* larvae. We found that the fungal taxa *Aspergillus*, *Daldinia*, *Chaetomium*, *Rhizopus*, and *Penicillium* were highlighted. The endophytic colonization test indicated that *Chaetomium globosum* strain UANL3 successfully colonized the plant. It also increased leaf length and total plant length at 21 days. Total leaf length increased in treated plants at 28 days of growth. Plants inoculated with UANL3 compared to the control and in the presence of *S. frugiperda* did not increase or decrease in length or dry weight, indicating a possible mechanism of tolerance to herbivory. Neither larva body weight nor head capsule width differed between treatments, indicating that UANL3 did not affect *S. frugiperda* larvae. Our study showed that teosinte is a source of beneficial fungi for biocontrol against the most devastating diseases of modern agriculture, and is one of the first reports that make use of fungal endophytes isolated from Balsas teosinte against *S. frugiperda*.

# 1. INTRODUCCIÓN

El uso descontrolado junto a la aplicación continua de fertilizantes nitrogenados e insecticidas químicos ha resultado en la vulnerabilidad de los cultivos, provocando impactos negativos en los agroecosistemas, tales como la contaminación de recursos hídricos, la lixiviación de nitratos, emisiones gaseosas, resistencia en los insectos plaga y daños a los insectos benéficos; contrario a lo que se propone, se ha promovido la aplicación de fertilizantes e insecticidas con ingredientes activos más potentes, lo que aumenta el costo de producción de un cultivo (Martin-Culma & Arena-Suarez. 2018). A partir de esto, surge la necesidad de una agricultura sustentable que logre reducir o reemplazar el uso excesivo y descontrolado de productos químicos agrícolas (Castillo *et al.* 2020).

Los parientes silvestres de las plantas domesticadas son de gran importancia porque actualmente son explotados por contener genes que proporcionan una mayor resistencia y calidad. Además, tales plantas pueden ser colonizadas por distintos microorganismos endófitos que podrían haberles proporcionado esos rasgos especiales para la adaptabilidad y la supervivencia en condiciones ambientales adversas (Mastretta-Yanes *et al.* 2019).

Existen numerosos casos que demuestran que los microorganismos endófitos aislados de plantas silvestres, introducidos en sus cultivares más cercanos, suprimen los patógenos de las plantas, reducen el estrés abiótico, ayudan a los cultivos a desarrollarse en el suelo con déficit de nutrientes y proporcionan resistencia contra insectos, destacando sus aplicaciones como promotores del crecimiento vegetal y agentes de control biológico contra fitopatógenos y plagas insectiles (Sánchez-Rodríguez *et al.* 2018).

Por lo tanto, se ha planteado la hipótesis de que los endófitos que se pueden recuperar de familiares silvestres de cultivos serían más compatibles con el cultivo relacionado tanto para fines de inoculación como de colonización (Mili *et al.* 2021). Además los endófitos pueden considerarse como un almacén de compuestos bioactivos: alcaloides, benzopiranas, chinonas, flavonoides, ácidos fenólicos, quinonas, esteroides, terpenoides, tetralonas y zanonas (Suman *et al.* 2016; Tidke *et al.* 2017).

El teocintle de Balsas (*Zea mays ssp. parviglumis* Iltis y Doebley) es el pariente silvestre más cercano al maíz (*Zea mays mays*), por lo que es considerado el ancestro a partir del cual se dio el proceso que condujo a su domesticación. Se ha reportado en estudios previos que las plantas de teocintle de Balsas muestran tasas de lesiones más bajas por infestación por gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda* J.E Smith) que las plantas de maíz (Maag *et al.* 2015). Además, se documentó que las hembras adultas de gusano cogollero ponen sus huevos preferentemente en el maíz en comparación del teocintle de Balsas (Bellota *et al.* 2013). Los hallazgos descritos anteriormente sustentan que el aislamiento de hongos endófitos descubiertos en teocintles silvestres podrían tener una amplia relevancia en diversas variedades de maíz moderno (Mousa *et al.* 2015).

En el presente estudio se identificaron hongos endófitos aislados de semillas de teocintle de Balsas recolectadas en dos localizaciones geográficas del Estado de Jalisco, México, y se evaluó un candidato como una alternativa ecológica y sostenible. Nuestro estudio demostró que el teocintle de Balsas es una fuente de hongos benéficos potencialmente útiles, y este es uno de los primeros reportes que emplean hongos endófitos aislados de teocintle de Balsas contra *S. frugiperda*.

## **2. ANTECEDENTES**

### **2.1. Microorganismos endófitos**

Los microorganismos endófitos son aquellos que habitan en los tejidos internos de las plantas durante al menos una parte de sus ciclos de vida y que no causan daños a la planta huésped en ninguna circunstancia (Le Cocq *et al.* 2017)

Todas o la mayoría de las plantas poseen endófitos, entre los que se incluyen hongos, bacterias y actinomicetos (Wu *et al.* 2021; Manganyi *et al.* 2020). La mayoría de las veces, los endófitos se transmiten por las semillas y promueven la salud y el crecimiento de las plantas tan pronto como las semillas germinan. En comparación con los microorganismos del suelo, los endófitos dentro de las plantas pueden tener impactos mayores y directos debido a sus nichos ecológicos especializados (Segaran *et al.* 2017).

### **2.2. Hongos endófitos**

#### **2.2.1. Características de los hongos endófitos**

El término “ hongo endófito” se refiere a todos aquellos hongos que viven en los tejidos internos de las plantas una vez han establecido una relación simbiótica con la planta huésped sin llegar a causar efectos adversos o enfermedades (Hyde *et al.* 2019).

A su vez, son componentes naturales del microecosistema de la planta. Afectan positivamente las actividades fisiológicas de la planta huésped de varias maneras, incluida la producción de hormonas, la biosíntesis y adquisición de nutrientes para el desarrollo de la planta, la secreción de metabolitos adaptadores de estrés para proteger a la planta huésped de la invasión de herbívoros y patógenos, y la mejora de la adaptabilidad del huésped a los factores de estrés abióticos. A cambio, las plantas proporcionan hábitats y nutrientes para los hongos endófitos (Wen *et al.* 2022).

La evidencia de los registros de microorganismos en el tejido vegetal fósil indica que las interacciones planta-hongo endófito han existido durante aproximadamente 400 millones de años, indicando así la importancia de este grupo (Barón y Rigobelo 2022).



### 2.2.2. Hongos endófitos: Clasificación y biodiversidad

Los endófitos fúngicos constituyen una comunidad microbiana sumamente diversa y adaptable. Investigaciones han evidenciado la presencia mayoritaria de hongos endófitos en diversas plantas, abarcando desde aquellas colonizadas en las regiones árticas y antárticas (Bertini 2022) hasta las que prosperan en desiertos (Larraín 2020), océanos (Xing 2011) y selvas tropicales (Loro 2012).

De manera general, los hongos endófitos son reconocidos por dos grandes grupos de acuerdo con los rasgos de historia de vida y su relación evolutiva:

- 1) Los endófitos clavicipitáceos (C-endófitos) que colonizan dentro de algunos pastos; y
- 2) los endófitos no-clavicipitáceos de tejidos de plantas no vasculares, coníferas, helechos y angiospermas (NC-endófitos) (Xia *et al.* 2022), esto basados en su filogenia, taxonomía, plantas hospedadoras, evolución y sus funciones ecológicas (Rodríguez *et al.* 2009).

Según Barón y Rigobelo (2022), los hongos clavicipitáceos y no-clavicipitáceos se han clasificado en 4 clases: la clase 1 contiene los hongos clavicipitáceos que son colonizadores específicos de las gramíneas; se pueden encontrar en la parte aérea y/o en las raíces de sus hospedantes. Además, se transmiten horizontal y verticalmente. Las clases 2,3 y 4 incluyen hongos no-clavicipitáceos.

La clase 2 está formada por endófitos capaces de colonizar la parte aérea y las raíces, y se transmiten horizontal y verticalmente. La clase 3 consiste en endófitos comúnmente asociados con las hojas de especies de árboles tropicales, un grupo muy diverso que solo conlleva transmisión horizontal. Finalmente, la clase 4 incluye los llamados endófitos septados oscuros, hongos que tienen melanina en sus septos y se encuentran exclusivamente en las raíces de sus hospedantes y presentan solo transmisión horizontal (Wang *et al.* 2020).

Se ha sugerido recientemente la inclusión de una clase adicional para los hongos entomopatógenos endófitos, porque pueden crecer como endófitos asintomáticos de varias especies de plantas y presentar la capacidad única de infectar y colonizar insectos (Lugtenberg *et al.* 2016).

La comunidad de endófitos dentro de una planta está determinada por los hongos (genotipo, competencia potencial, especificidad del tejido, ubicación de la infección) y el huésped (genotipo, variaciones en las defensas de la planta, localización geográfica). Numerosos estudios indicaron que la riqueza y diversidad de endófitos se encuentran influenciados por factores bióticos y abióticos, incluidos el hábitat y la ubicación geográfica (Rodríguez-Mendoza *et al.* 2022).

Se han aislado y cultivado de las raíces y partes aéreas de varias plantas, así como de algas (Deutsch *et al.* 2021), musgos (Melo *et al.* 2014), helechos (Lehnert *et al.* 2017), gimnospermas y angiospermas (Siber 2007). Aproximadamente 300 especies conocidas de plantas superiores existen en la Tierra, y cada una de las cuales es huésped de uno o más hongos endófitos obligados (Wen *et al.* 2022).

Algunos endófitos fúngicos pueden colonizar una amplia gama de especies de plantas, mientras que otros son más específicos y ocurren solo dentro de un número restringido de plantas. Además, la especificidad también puede estar presente en relación con la porción de la planta que se coloniza (Bamisile *et al.* 2018).

Aparentemente los hongos de transmisión vertical parecen presentar asociaciones de plantas con un perfil más mutualista que los hongos de transmisión horizontal, que son más probablemente antagonistas (Aly *et al.* 2011).

### **2.2.3. Hongos endófitos transmitidos a través de las semillas**

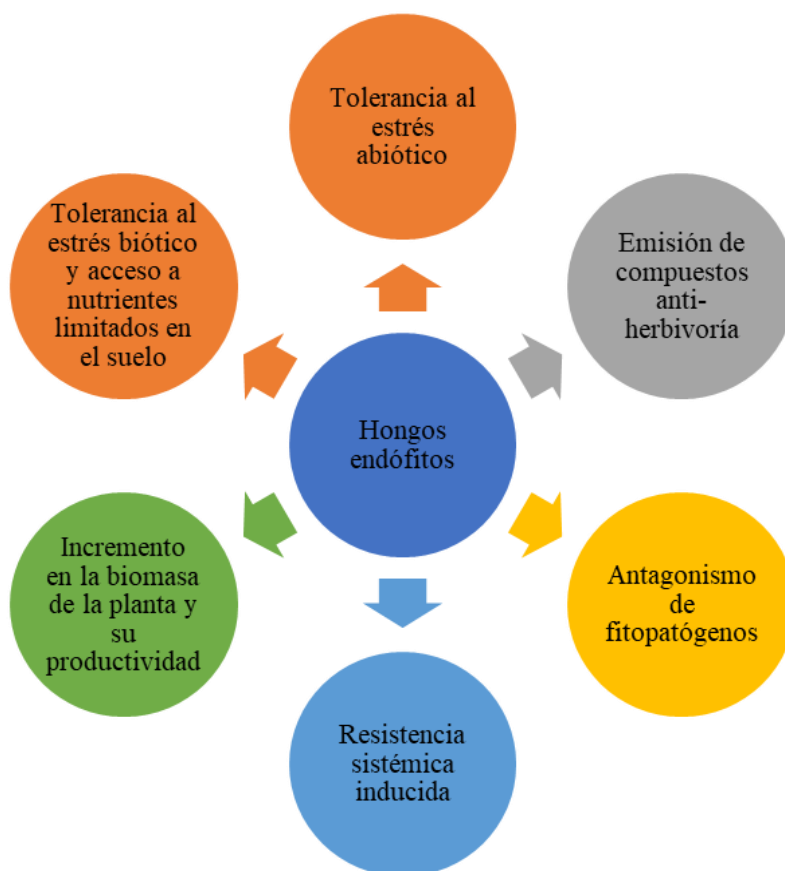
La transmisión vertical de endófitos se puede definir como el paso de un hongo endófito a su descendencia a través de las semillas. Los endófitos clavicipitáceos de las gramíneas se transmiten verticalmente y se ha descrito su mecanismo como un proceso en el cual el micelio invade los óvulos en desarrollo, ocupando finalmente la semilla madura, incluido el escutelo y el endospermo del embrión (Shahzad *et al.* 2018).

La semilla colonizada dará lugar a plantas infectadas para que los endófitos se transmitan por vía materna a la siguiente generación (Vega 2018). Una vez que las semillas germinan, es probable que el ensamblaje del microbioma sea impulsado por la transferencia horizontal, en la que los hongos transmitidos por las semillas se asocian preferentemente con los tejidos vegetales de la superficie (Delgado *et al.* 2021).

De este modo, los endófitos transmitidos por semillas que se encuentran en tejidos vegetales utilizan mecanismos directos o indirectos para mejorar el crecimiento de las plantas, además de impulsar su tolerancia al estrés biótico y abiótico (Santoyo *et al.* 2016).

#### 2.2.4. Interacción planta-hongo endófito: Mecanismos de acción de los hongos endófitos

Existen ciertos mecanismos de acción y aplicaciones de los hongos endófitos descritos en la última década. Algunos de sus beneficios en las plantas hospederas se encuentran resumidos en la figura 1 (Aragón y Beltrán-Acosta 2019).



**Figura 1.** Efectos de la inoculación de hongos endófitos en plantas. Tomado y modificado de Aragón y Beltrán-Acosta (2019).

Los endófitos contribuyen al crecimiento de las plantas mediante la mineralización del suelo, la producción de moléculas bioactivas, la resistencia sistémica inducida, la síntesis de fitohormonas y la resistencia al estrés por sequía. Además, contribuyen a las funciones

bioquímicas y fisiológicas de las plantas al mejorar la producción de cultivos, el ciclo de nutrientes, la biorremediación y el almacenamiento de energía (Dubey *et al.* 2020).

Algunos microorganismos endófitos llevan a cabo la producción de ácido indol acético (IAA, por sus siglas en inglés), que está involucrado en la división celular. La capacidad de los endófitos para producir IAA se considera un factor importante que impulsa la expansión de las células del cotiledón, la mejora del rendimiento, la longitud y el área de la superficie las raíces durante el crecimiento de las plántulas y las plantas (Adeleke *et al.* 2022).

Los hongos endófitos inducen la expresión de genes en las plantas para la producción de metabolitos secundarios que pueden ser extraídos y empleados para diversos propósitos. Tales sustancias pueden interferir con organismos patógenos para la planta hospedera e inducir resistencia a enfermedades y mayor tolerancia a factores abióticos. Ante un insecto plaga o un patógeno específico, los hongos endófitos pueden presentar mecanismos de acción relacionados con su capacidad como agentes de control biológico (Aragón y Beltrán-Acosta 2019).

Entre estos se agrupan mecanismos químicos o indirectos, los cuales se dan por la producción de metabolitos secundarios, enzimas o por compuestos orgánicos volátiles (VOC, por sus siglas en inglés), mismos que limitan e inhiben a un patógeno o insecto en particular u otros hongos endófitos competidores, así como promover la tolerancia al estrés abiótico. Dentro de esta categoría se encuentran tres mecanismos específicos: 1) Competencia, 2) antibiosis, e 3) inducción de resistencia (Card *et al.* 2016).

El segundo grupo son los mecanismos físicos o directos, generados por las interacciones de contacto entre hifas y células, conocido como parasitismo directo o micoparasitismo; entre los mecanismos directos de promoción del crecimiento, los más importantes son: 1) la adquisición de nutrientes, y 2) la producción de fitohormonas (Card *et al.* 2016; Adeleke *et al.* 2022).

### **2.3. Importancia de los hongos endófitos en la agricultura**

La agricultura es el principal sector de crecimiento económico de los países en desarrollo entre los cuales se encuentra México (Nehra *et al.* 2016). La necesidad de una agricultura

más sostenible es uno de los principales incentivos para la búsqueda de hongos endófitos que puedan servir como alternativa a la aplicación descontrolada e inadecuada de fertilizantes y plaguicidas que dañan la salud humana y el medio ambiente (Zikankuba *et al.* 2019).

Los metabolitos sintetizados por endófitos poseen un amplio papel en el manejo de enfermedades de las plantas. La aplicación de estos metabolitos para inducir la resistencia de las plantas es muy prometedora, conduciendo a nuevos avances en el desarrollo de insecticidas y fungicidas más efectivos/amigables con el agroecosistema (Dubey *et al.* 2020).

En este contexto, el conocimiento sobre la relación simbiótica planta-microbiota del suelo ha sido fundamental en la búsqueda de procesos alternativos que podrían utilizarse para reducir o incluso reemplazar la aplicación de pesticidas y fertilizantes (Heimpel y Mills 2017; Jaber y Ownley 2018; Kuzhuppillymyal-Prabhakarankutty *et al.* 2021).

### **2.3.1. Hongos endófitos en el control biológico de insectos plaga**

El control biológico de plagas de insectos implica la utilización de organismos vivos para reducir las poblaciones de plagas. Estos organismos incluyen otros insectos que funcionan como depredadores o parasitoides, así como agentes microbianos entomopatógenos como bacterias, hongos, virus y protozoarios (Heimpel y Mills 2017).

Además de su papel en el control de fitopatógenos, la colonización endofítica es conocida por su capacidad para mejorar la resistencia contra insectos herbívoros. Esto se debe a la modulación que ejerce en el sistema de defensa de las plantas durante el proceso de inoculación. Además, induce cambios en la calidad nutricional de las plantas y en la producción de varios compuestos de defensa de la planta (Thakur, Kaur y Singh 2013).

Según Ownley *et al.* (2010), algunos de los hongos entomopatógenos más estudiados incluyen *Lecanicillium* spp., *Metarhizium* spp., *Isaria* spp., *Hirsutella* spp., *Sporothrix* spp., *Paecilomyces* spp., *Tolypocladium* spp., *Nomuraea* spp., *Aschersonia* spp. y *Beauveria bassiana*. Cada uno de estos hongos produce metabolitos secundarios con una amplia variedad de actividades biológicas que afectan a mamíferos, insectos,

microorganismos y células vegetales. Existe un interés en utilizar hongos entomopatógenos como endófitos para evaluar sus efectos sobre insectos plagas (Rohlf y Churchill 2011).

Se ha demostrado que los hongos entomopatógenos como *B. bassiana*, *M. anisopliae* y *L. lecanii* pueden colonizar tejidos vegetales de algunas especies. La naturaleza de la interacción entre estos hongos y las plantas puede variar dependiendo de la especie de planta y la cepa del hongo, generando beneficios mutuos en algunos casos, interacciones neutras o incluso antagonicas en otros (Vega 2018).

En 2008, Vega informó que, a partir de una colecta de hongos endófitos en plantas de café, el hongo entomopatógeno *B. bassiana* y el antagonista de fitopatógeno *Clonostachys rosea*, aislados de tejidos vegetales, fueron capaces de causar patogenicidad en individuos de la broca del café, *Hypotheneus hampei*.

*B. bassiana* es ampliamente utilizado para el manejo de poblaciones de insectos plagas y desempeña diversas funciones en la naturaleza. Cuando coloniza constantemente una planta como endófito, puede actuar como antagonista de algunos patógenos de plantas, promotor del crecimiento vegetal y colonizar la rizosfera de algunas especies. Para aprovechar su potencial como agente de biocontrol es esencial comprender sus mecanismos de acción (Jaber y Ownley 2018).

La investigación sobre endófitos ha demostrado su capacidad para fortalecer la defensa de las plantas huésped contra herbívoros a través de compuestos con propiedades insecticidas y antialimentarias. Por ejemplo, Sánchez-Rodríguez *et al.* (2017) observaron la mortalidad de larvas de *Spodoptera littoralis* (Boisduval) que se alimentaron de hojas de plantas de trigo blando colonizadas por *B. bassiana* EABb 04/01-Tip. No se observó crecimiento fúngico sobre las larvas infectadas, lo que sugiere que la mortalidad podría estar relacionada con la producción de metabolitos con capacidad insecticida (Bernal-Cabrera *et al.* 2021). Además, Kuzhuppillymyal-Prabhakarankutty *et al.* (2021) informaron la prolongación del estado larvario y la producción de menos polillas macho de *Spodoptera frugiperda* (J.L. Smith) cuando se alimentaron de plántulas de maíz colonizadas por la cepa *B. bassiana* GHA, sin observar crecimiento fúngico en las larvas.

A pesar de los casos en los que la aplicación de hongos entomopatógenos endófitos ha demostrado ser eficaz en el control de poblaciones de insectos plagas, en la mayoría de los casos, el efecto sobre los insectos se debe a la acción indirecta de los productos emitidos por el endófito, que afectan el desarrollo o el comportamiento del insecto. Esto se respalda por la falta de esporulación del hongo en los insectos recuperados después de consumir tejido vegetal colonizado (Jaber y Ownley 2018).

#### **2.4. Hongos endófitos de plantas silvestres y su aplicación en una agricultura sostenible**

Las plantas dentro de comunidades naturales son capaces de mantener asociaciones simbióticas con hongos endófitos que apoyan su crecimiento y les protegen contra el estrés biótico y abiótico. Sin embargo, la comunidad de endófitos fúngicos que existen en las plantas silvestres puede modificarse severamente con su domesticación y muchos representantes estar ausentes en los cultivos (White *et al.* 2019).

Los parientes silvestres de las plantas domesticadas son de gran importancia ya que tales plantas pueden ser colonizadas por distintos microorganismos endófitos, los cuales podrían haber proporcionado rasgos especiales para la supervivencia y adaptabilidad en condiciones ambientales adversas (Frison *et al.* 2011).

Según Santhanam *et al.* (2015), se llevó a cabo un experimento con tabaco silvestre anual (*Nicotiana attenuata*); en dicho experimento se descubrió que 7 años de cultivo continuo resultó en la pérdida de microorganismos simbióticos y niveles crecientes de enfermedades debido a la acumulación de fitopatógenos fúngicos del género *Fusarium* y *Alternaria*. A su vez, las inoculaciones experimentales de semillas con consorcio bacteriano nativo durante la germinación atenuaron significativamente la mortalidad de las plantas; la readquisición de estos microbios de las poblaciones silvestres del tabaco y la aplicación a las plántulas en cultivo resultaron en la resistencia a la enfermedad.

Irizarry y White (2017) documentaron que las semillas de algodón frecuentemente tratadas con ácido para reducir las enfermedades transmitidas por las semillas pierden las bacterias beneficiosas en la superficie de las semillas y deja las plántulas de algodón vulnerables al estrés y enfermedades, por lo que buscaron y aplicaron bacterias

beneficiosas a semillas de plantas no cultivadas de la familia del algodón. Con ello, mejoró enormemente la resistencia al estrés y las enfermedades en las plántulas del algodón.

Cereales como el maíz se han cultivado intensamente y se han modificado hasta el punto de que se han perdido las estructuras externas de las semillas que transmiten microorganismos, como la cascara presentes en el teocintle. Las variedades modernas de maíz híbrido requieren mayores aportes de nitrógeno y pesticidas para producir cultivos que el teocintle, y esto puede ser el resultado de la pérdida de endófitos de las variedades de maíz híbrido (Johnston-Monje *et al.* 2016).

En estudios previos se ha informado que el teocintle de Balsas es menos susceptible a las plagas que el maíz moderno, como resultado del mejoramiento y la domesticación (de Lange *et al.* 2014). Según los últimos estudios reportados por De la Vega-Camarillo *et al.* (2023), quienes se dedicaron a aislar bacterias endófitas de seis especies de teocintles mexicanos, entre los cuales se destacó *Zea mays ssp. parviglumis*, se demostró una rica variedad de géneros bacterianos, tales como *Bacillus*, *Enterobacter*, *Methylobacterium* y *Pantoea*, con características variables de PGP's (*Plant growth-promoting*, por sus siglas en inglés).

Por otro lado, Johnston-Monje y Raizada (2011) reportaron el aislamiento de endófitos microbianos en genotipos diversos de *Zea*, entre los cuales se encontraban los teocintles silvestres (*Zea mays ssp. parviglumis*, *Zea mays ssp. mexicana*, *Zea diploperennis*, y *Zea nicaraguensis*) así como variedades locales mexicanas antiguas y variedades modernas de maíz. En este estudio se reportó la conservación de endófitos de semillas en el género *Zea*, señalando la prevalencia de los endófitos del teocintle en el maíz domesticado. A su vez, reportaron que muchos endófitos de las semillas de *Zea* solubilizaron fosfato, secretaron acetoína y fijaron nitrógeno.

Más adelante, y de esta colección, Mousa *et al.* (2015) demostraron que cuatro ejemplares reducían las concentraciones de micotoxina DON del patógeno fúngico toxigenico *Fusarium graminearum* en el maíz, destacando las cepas de *Zea mays ssp. parviglumis* como las que mejor redujeron las concentraciones de la micotoxina.



En 2022, Domínguez *et al* informaron del aislamiento de hongos endófitos de *Zea mays* ssp. *mexicana*, tales como *Aspergillus niger*, *Gliocladium virens* y *Rhizopus oligosporus*, mismos que demostraron capacidad de promoción de crecimiento en plantas de maíz. Hasta ahora es el único reporte público que se tiene de hongos endófitos aislados de teocintle.

De este modo, se ha determinado que el teocintle puede albergar endófitos que combatan patógenos y plagas insectiles de cultivos modernos. Para remediar las pérdidas de microorganismos endófitos esenciales y reducir la dependencia de agroquímicos en el cultivo, podría ser necesaria la obtención de microorganismos endófitos de parientes silvestres y reintroducirlos en los cultivos (Verma *et al.* 2017).

### **2.5. Teocintle de Balsas (*Zea mays* ssp. *parviglumis*) y maíz domesticado (*Zea mays* *mays*)**

Dentro del género *Zea* se incluyen los taxones silvestres, conocidos como teocintle (*Zea* ssp.) y el maíz domesticado (*Zea mays mays* o *Zea mays* L. ssp. *mays*). Después de la teoría tripartita propuesta por Mangelsdorf y Reeves (1939) en la que proponían que *Tripsacum* se encontraba fuertemente emparentado con el maíz, en 1939, Beadle afirmó que el maíz era una forma domesticada del teocintle, resultado de la selección artificial llevada a cabo por poblaciones antiguas. Sin embargo, esta teoría se enfrentaba a la idea de que la transformación del teocintle al maíz era imposible en los pocos 10.000 años en los que los humanos se habían dedicado a domesticar plantas.

Doebley *et al.* (1987) a través de las filogenias basadas en el cloroplasto heredado por la madre situaban a *Z. mays* ssp. *mays* en un grupo con ssp. *parviglumis* y *mexicana*, junto con *huehuetenangensis*. Buckler y Holtsford (1996) demostraron a través de estudios filogenéticos utilizando las regiones del espaciador transcrito interno (ITS) que las especies de *Zea* han evolucionado muy recientemente en comparación con la divergencia de *Zea* con respecto a *Tripsacum*.

En 1984, los datos de Doebley de isoenzimas implicaron a la ssp. *parviglumis* en el origen del maíz. En el 2002, Matsuoka *et al.* con los resultados obtenidos de los marcadores de

repetición de secuencia simple (SSR), corroboraron los datos de Doebley al nombrar la *ssp. parviglumis* del valle del río Balsas como progenitor del maíz.

Se ha propuesto que unas pocas regiones del genoma del maíz especifican los rasgos que distinguen al maíz del teocintle. Dorweiler *et al.* (1993) identificaron un locus principal, la arquitectura de la gluma del teosintle (*tga1*), mismo que controla el desarrollo de la cubierta protectora que falta en el maíz. Una gluma más blanda fue uno de los motivos de selección por parte de los nativos americanos durante la domesticación. Un segundo locus fue el del teocintle ramificado (*tb1*) que dicta una diferencia en la arquitectura de la planta, dando lugar a ramas laterales largas, terminadas en espigas masculinas contra las ramas laterales cortas con espigas femeninas en maíz (Doebley *et al.* 1995, 1998). También estaban los QTL como los genes responsables de las mazorcas que se rompen versus sólidas, espiguillas simples versus pareadas y condición dística versus polistila

El teocintle de Balsas de la familia de las gramíneas Poaceae (Gramineae), de ese modo, es considerado como el pariente silvestre y el antecesor directo a partir del cual se domesticó el maíz por los antiguos habitantes de Mesoamérica, en un proceso de hace > 9, 000 años (Sanchez 2011).

Son muy similares morfológica y genéticamente al maíz. Producen entre 8 y 11 mazorcas al año, las cuales están conformadas por dos hileras entrelazadas de granos pequeños y acorazados. Sus granos son pequeños pero algunos estudios han evidenciado que su valor nutricional suele ser mayor al del maíz (Tian y Buckler 2005). A su vez, su distribución geográfica se encuentra restringida a zonas de clima tropical y subtropical de México, Guatemala, Honduras y Nicaragua (Sánchez y Ruiz 1996; CONABIO 2022).

Estudios indican que el teocintle, en comparación con el maíz, presenta una mayor defensa ante insectos y fitopatógenos (Musa *et al.* 2015). En el estudio de Moeller y Tiffin (2008), se observó una evidencia de selección geográficamente variable para el gen de inmunidad *Wip1* (*Wild-type p53-induced phosphatase 1*, por sus siglas en inglés) en poblaciones de teocintle. Este gen, que confiere resistencia a los insectos herbívoros al inhibir las quimiotripsinas proteasas en los intestinos de los insectos, fue identificado en cuatro poblaciones en la porción occidental de su área de distribución (estado de Jalisco, México)

y en dos poblaciones en la porción central, específicamente en el valle del río Balsas (estado de México, México).

El maíz ha experimentado un extenso desarrollo de herramientas genéticas a lo largo de su historia, siendo considerado uno de los sistemas de plantas superiores más accesibles. Con su genoma completamente secuenciado, un conjunto completo de herramientas citogenéticas, métodos tanto para la genética directa como inversa, y marcadores fenotípicos caracterizados, el maíz ofrece la posibilidad de abordar cuestiones más allá de la biología de las plantas. Descubrimientos significativos en áreas como los transposones, la impronta genética y la biología cromosómica han surgido a partir de investigaciones en maíz. En la era postgenómica, este sistema modelo clásico continuará desempeñando un papel destacado en la investigación biológica básica, según señalan Nannas y Dawe en 2015.

El maíz (*Zea mays mays*) es una planta monocotiledónea anual de la familia botánica Poaceae (Gramineae). Este cultivo se originó mediante el proceso de domesticación que llevaron a cabo los antiguos habitantes de Mesoamérica a partir del teocintles (*Zea mays* ssp. *parviglumis*), gramíneas muy similares al maíz que crecen de manera natural en México y Centroamérica (CONABIO 2022).

Se trata de uno de los cereales más consumidos del mundo, siendo el tercer cereal más cultivado después del trigo y el arroz. Al ser un cultivo alimentario básico tiene una producción total de 1,09 mil millones de toneladas métricas logradas en 2018/2019 en todo el mundo, siendo una fuente vital de proteína y energía en la dieta de los seres humanos y los animales.

Actualmente se tienen descritas 220 razas de maíz que se han agrupado en 7 grupos raciales de acuerdo con sus características morfológicas, genéticas, ecológicas y de historia de cultivo (Cónico, Sierra de chihuahua, Ocho hileras, Chapalote, Tropicales precoces, Dentados tropicales y Maduración tardía) (Sánchez 2011).

Sin embargo, durante las operaciones de precosecha y postcosecha, las plagas de insectos y los microorganismos fitopatógenos atacan el maíz reduciendo así su valor cuantitativo,

lo cual conduce a pérdidas anuales del 9,4% en todo el mundo (Seyi-Amole y Onilude 2021).

*Zea mays* cv. B73 es una de las líneas endogámicas fundadoras clave en la producción de híbridos comerciales en los Estados Unidos de América, junto con B14, B37 y en menor medida, B84. B73 se encuentra en los pedigríes de la mayoría de las líneas endogámicas de progenitores de semillas comerciales (Bornowski *et al.* 2021).

El primer ensamblaje de genoma de referencia del maíz fue generado a partir de B73. Fue secuenciado mediante pirosecuenciación y se reportó que está conformado por 2 mil 300 millones de pares de bases, con un contenido de más de 32 mil genes y aproximadamente el 83% de su genoma conformado de transposones. En cultivos comerciales de maíz como la variedad B73, que poseen transposones activos, las plantas conservan su apariencia y sus granos poseen las mismas propiedades físicas y químicas. Es importante señalar que el maíz como planta ha sufrido cambios en su genoma. (Schnable *et al.* 2009).

Debido a la importancia cada vez mayor de la línea B73 en la producción de híbridos de maíz, en ciertos estudios se han elegido varias líneas tipo B73 y algunas líneas no relacionadas para cruzarlas. Entre las nuevas líneas puras relacionadas con B73, una de ellas se distinguió por un alto potencial de rendimiento de grano cuando se cruzó con la línea pura Mol7. Otras líneas puras dieron como resultado una mazorca mucho más larga que el valor medio de todas las progenies, mientras que otras, en comparación, tuvieron significativamente más hileras de grano por mazorca (Stojaković y Bekavac 2005).

**Tabla 1.** Taxonomía del teocintle de Balsas (*Zea mays* ssp. *parviglumis*) y del maíz domesticado (*Zea mays mays*). Datos a los que se accedió en <https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt> el 17 de diciembre del 2023.

Reino:	<i>Plantae</i>	<i>Plantae</i>
Subreino:	<i>Viridiplantae</i>	<i>Viridiplantae</i>
Infrareino:	<i>Streptophyta</i>	<i>Streptophyta</i>
Supervisión:	<i>Embryophyta</i>	<i>Embryophyta</i>
División:	<i>Tracheophyta</i>	<i>Tracheophyta</i>
subdivisión:	<i>Spermatophytina</i>	<i>Spermatophytina</i>
Clase:	<i>Magnoliopsida</i>	<i>Magnoliopsida</i>
Superorden:	<i>Liliana</i>	<i>Liliana</i>
Orden:	<i>Poales</i>	<i>Poales</i>
Familia:	<i>Poaceae</i>	<i>Poaceae</i>
Género:	<i>Zea</i> L.	<i>Zea</i> L.
Especies:	<i>Zea mays</i> L.	<i>Zea mays</i> L.
Subespecies:	<i>Zea mays</i> ssp. <i>parviglumis</i>	<i>Zea mays</i> ssp. <i>mays</i> L.

## 2.6. *Spodoptera frugiperda* (J.E Smith) como plaga catastrófica mundial

El gusano cogollero, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) o *Fall armyworm*, por su título en inglés, de las zonas subtropicales y tropicales de América, es un insecto plaga catastrófico de importancia económica mundial que daña cultivos como maíz, algodón, arroz, soja, frijol y otros cultivos de la familia Gramineae (Bhusal & Bhattarai, 2019). Se ha reportado que en América Latina, *S. frugiperda* provoca una disminución del rendimiento de los cultivos que va del 15 al 75% en la producción (Ayil-Gutiérrez *et al.* 2018).

Actualmente *S. frugiperda* se trata como una plaga de insectos crucial del maíz, (Siddhartha, 2019). Las larvas propician pérdidas en la producción que van del 10 al 100% sobre todo si la planta es atacada cuando tiene entre 40 y 60 cm (Banda *et al.* 1981). Causa un daño extenso a las plantas de maíz al alimentarse de verticilos de hojas jóvenes, mazorcas de maíz, espigas y el cogollo (Bhusal y Bhattarai 2019).

Las larvas más jóvenes prefieren el tejido epidérmico de las hojas y les producen agujeros, lo cual es signo de daño típico de estas plagas de insectos. Las larvas más viejas en los

verticilos de las plantas adultas se alimentan de mazorcas o granos, lo que reduce la calidad y cantidad del rendimiento (Sisay *et al.* 2019).

*S. frugiperda* está desarrollando resistencia a las variedades de maíz transgénico en el sur de los Estados Unidos (Niu *et al.* 2013). Esto evidencia la necesidad de controlar esta plaga, para lo cual se utilizan generalmente insecticidas sintéticos. White *et al.* (2014) han estimado que en México se aplican 2,600 toneladas de diferentes principios activos al año, esto favorece el desarrollo de resistencia en las poblaciones de *S. frugiperda*, provocando la eliminación de especies no objetivo, algunas de las cuales son insectos benéficos o polinizadores, y es fuente de contaminación de suelos y aguas (Botías y Sanchez 2018).

**Tabla 2.** Taxonomía de *Spodoptera frugiperda* (J.E Smith). Datos a los que se accedió en <https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt> el 17 de diciembre del 2023.

Reino:	<i>Animalia</i>
Filo:	<i>Arthropoda</i>
Clase:	<i>Insecta</i>
Orden:	<i>Lepidoptera</i>
Familia:	<i>Noctuidae</i>
Genero:	<i>Spodoptera</i>
Especie:	<i>S. frugiperda</i>

A lo largo del año, el gusano cogollero lleva a cabo varias generaciones, de tal manera que su ciclo de biológico consiste en huevo, seis o siete estadios larvarios, pupa y adulto. El ciclo de vida es completado en aproximadamente 30 días durante el verano, de 60 días en primavera y otoño, y de 80 a 90 días durante el invierno. La duración en el estado de huevo oscila entre dos y tres días durante los meses de verano. Una vez que el huevo eclosiona, el número de instares que atraviesa la larva depende de la planta huésped de la que se alimenta, siendo comúnmente seis instares en el caso del maíz. Para entrar en la fase de duración, las larvas se entierran en el suelo, donde crean una cámara pupal en la que permanecen aproximadamente de 10 a 15 días (SENASICA 2021).

### 3. JUSTIFICACIÓN

El maíz es uno de los cultivos más importantes en la economía mexicana, con un valor anual superior a US\$5 mil millones. Los insectos plaga causan importantes pérdidas económicas y su control resulta costoso y basado mayormente en insecticidas químicos. El proyecto aquí propuesto es relevante para la resolución de este problema. Numerosos insectos son plagas del maíz en México y estos ocasionan pérdidas económicas e impactos ambientales significativos. Por ejemplo, solo para México se enumeran >130 especies de insectos plaga (Cervantes-Mayagoitia 2011), y unas 3,000 toneladas de ingrediente activo insecticida se aplican contra una sola plaga insectil: el gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*) (White *et al.* 2014).

Fuera de México se ha empezado a explorar la diversidad de endófitos asociados al maíz y teocintle mexicanos (Johnston-Monje y Raizada 2011). Este proyecto facilitará el inicio de una línea de investigación que documentará la diversidad de organismos poco estudiados en México: los hongos endófitos, los cuales han demostrado un gran potencial de ser aprovechados en la agricultura para el manejo sustentable de plagas agrícolas y para la mejora de los cultivos.

#### **4. HIPÓTESIS**

Las comunidades de hongos endófitos presentes en el teocintle del Balsas (*Zea mays* ssp. *parviglumis*) incluyen especies útiles para el manejo de la plaga del gusano cogollero (*S. frugiperda*), y provocan efectos positivos sobre el crecimiento vegetal de plantas de maíz (*Z. mays mays* cv. B73).



## 5. OBJETIVOS

### 5.1. Objetivo general

Identificar y evaluar hongos endófitos como una alternativa ecológica y sostenible a los insecticidas químicos para el manejo de la plaga del gusano cogollero (*S.frugiperda*).

### 5.2. Objetivos particulares

1. Aislar e identificar hongos endófitos presentes en semillas de teocintle colectadas en dos regiones geográficas de Jalisco, México.
2. Desarrollar un método de inoculación eficaz para el establecimiento de por lo menos un endófito candidato en la variedad comercial de maíz B73.
3. Evaluar los efectos de al menos un endófito candidato en el crecimiento de plantas de maíz B73 y contra *S. frugiperda*

## 6. MATERIALES Y MÉTODOS

### 6.1. Material biológico utilizado

Se contó con una colección de semillas de teocintle de Balsas (*Zea mays* ssp. *parviglumis*), las cuales fueron recolectadas previamente de dos regiones de Jalisco, México: Los Naranjos de Abajo (19° 55' 41", 104° 05' 17", 1030 m snm) y Las Raíces (20° 36' 26", 104° 13' 00", 1120 m snm). Ambas colecciones de semillas de teocintle fueron proporcionadas por el Dr. Julio S. Bernal (Departamento de Entomología, Universidad Texas A&M, College Station, Texas, Estados Unidos de América).

Para los modelos experimentales se emplearon semillas de la línea endogámica de maíz B73 (*Z. mays*. cv B73), brindadas por *La Red de información sobre Recursos de Germoplasma* (GRIN-Global), Estados Unidos de América.

Los huevecillos de *S. frugiperda* fueron donados por el Dr. José Refugio Lomelí-Flores (Posgrado en Fitosanidad, Entomología y Acarología, Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco, Estado de México, México) y cuidadosamente colocados en contenedores de plástico de 700 mL. Estos fueron mantenidos en una habitación bajo condiciones controladas (temperatura de 23°C ± 3, humedad 80 ± 3, fotoperiodo 14 luz: 10 oscuridad) hasta que eclosionaron y luego se transfirieron a tazas de dieta individuales con 5 ml de dieta de germen de trigo como fuente de alimento (McGuire *et al.* 1997). Esta dieta fue reemplazada cuando fue necesario para evitar la desecación. Para realizar los bioensayos, se utilizaron neonatos de *S. frugiperda* (1 día posterior a la eclosión). Se utilizó la segunda generación de laboratorio.



**Figura 2.** Masa de huevecillos de *S. frugiperda* a punto de eclosionar.



**Figura 3.** Primer instar larvario de *S. frugiperda* en dieta artificial.

La extracción de ADN genómico y amplificación de la región ITS de hongos endófitos aislados a partir de las semillas de teocintle junto a los bioensayos en plantas de maíz B73 se realizaron en el Laboratorio de Formulación de Biológicos de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

## **6.2. Aislamiento e identificación molecular de endófitos de origen natural presentes en semillas de teocintle de Balsas (*Zea mays* ssp. *parviglumis*)**

### **6.2.1. Aislamiento de hongos endófitos presentes en semillas de teocintle de Balsas**

Se utilizó una cabina de flujo laminar como área de trabajo estéril. Las semillas recolectadas se esterilizaron en su superficie siguiendo el método descrito en Johnston-Monje y Raizada (2011). Las muestras se secaron usando toallas de papel esterilizadas en autoclave reducidas a 4 piezas.

Cada caja de Petri contuvo dos fragmentos de la gluma (cubierta protectora) y dos de la semilla (el tegumento en contacto con el medio de cultivo). Se emplearon 10 cajas de Petri con agar PDA, agar V8, agar nutritivo, agar caldo nutritivo y agar agua, respectivamente. Para verificar la eficacia del método de esterilización de la superficie de las semillas, se colocaron momentáneamente 5 semillas en una placa de Petri de cada medio de cultivo empleado. Además, se tomó una muestra de 100  $\mu$ L del último lavado de cada tratamiento y se inoculó en una caja de Petri de cada uno de los medios. Estas placas se incubaron en oscuridad a  $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  durante 2 semanas.

Las placas con las semillas se incubaron de igual manera en oscuridad a  $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  durante 2 semanas, hasta que se detectó el crecimiento de las hifas de hongos endófitos de las semillas.

### 6.2.2. Extracción de DNA genómico

Se llevó a cabo la extracción de ADN genómico a partir de un cultivo puro en agar PDA que tenía dos semanas de edad. Se tomó una porción del micelio y se transfirió a un tubo cónico de 1.5 mL de capacidad. Se empleó el método DNazol<sup>®</sup> BD de *Molecular Research Center* (Cat. DN129), siguiendo las especificaciones del fabricante.

### 6.2.3. Amplificación por reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Los endófitos aislados se identificaron en función de sus secuencias de genes marcadores ITS (580 pb). Se utilizó la siguiente mezcla de reacción empleando el kit de PCR MyTaq<sup>™</sup> DNA Polymerase: 1  $\mu\text{L}$  de DNA genómico, 1  $\mu\text{L}$  del oligo forward ITS-1, 1  $\mu\text{L}$  del oligo reverse ITS-4, 1  $\mu\text{L}$  de DNA taq polimerasa, 10  $\mu\text{L}$  5x My Taq Reaction Buffer y 36  $\mu\text{L}$  de agua grado HPLC con el fin de completar un volumen de 50  $\mu\text{L}$ . La mezcla se sometió a las siguientes condiciones en un termociclador MaxyGene Thermal Cycler II (Axygene<sup>®</sup>): Desnaturalización a  $95^{\circ}\text{C}$  por 5 minutos, durante 32 ciclos en el siguiente programa;  $95^{\circ}\text{C}$  por 30 s, 1 min de alineamiento a  $60^{\circ}\text{C}$  y una extensión durante 1 min a  $72^{\circ}\text{C}$ , y finalmente extensión final a  $72^{\circ}\text{C}$  durante 3 minutos.

**Tabla 3.** Oligonucleótidos empleados.

Nombre	Descripción	Secuencia
ITS-1	Primer forward para amplificar un fragmento de la región ITS de 580 pb aproximadamente	TCCGTAGGTGAACCTGCGG
ITS-4	Primer reverse para amplificar un fragmento de la región ITS de 580 pb aproximadamente	TCCTCCGCTTATTGATATGC

### 6.2.4. Purificación de productos de PCR

Como paso anterior a la purificación de los productos de PCR, se verificó el tamaño del producto de PCR a través de electroforesis en gel de agarosa 1% a 100V durante 45 min y observado en un transiluminados Safe Image (Invitrogen). En cuanto se observaron los

productos de PCR, se purificaron usando el Kit comercial de purificación de ácidos nucleicos SureClean Plus (Bioline) siguiendo las instrucciones de fabricante.

### 6.2.5. Secuenciación y análisis de secuencias

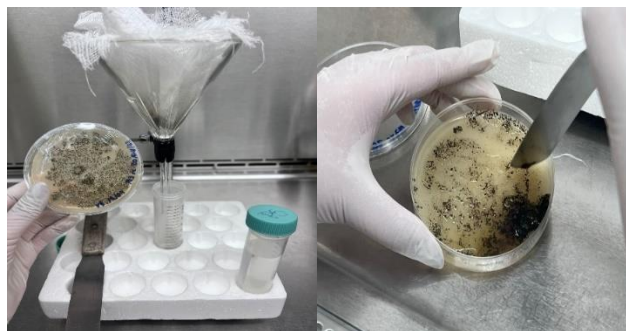
Los productos de reacción fueron enviados para su análisis a la empresa Laboratorios de Servicios Genómicos LABSERGEN LANGEBIO. El análisis de secuencias se realizó mediante la herramienta BLASTn del Centro Nacional para la Información Biotecnológica (NCBI). Previo a ello, las secuencias se curaron con el software FinchTV para la remoción de *primers*.

## 6.3. Desarrollo de un método de inoculación para el establecimiento de hongos endófitos candidatos en la variedad comercial de maíz B73

### 6.3.1. Inoculación fúngica en semillas de maíz B73

Las semillas de maíz de la línea endogámica B73 (sin tratamiento previo) fueron esterilizadas en su superficie con solución Tween-80 al 1% durante 2 min, solución jabonosa al 2% por no más de 5 minutos, etanol al 70% por no más de 1 min (dos veces) y se enjuagaron con agua destilada estéril (dos veces).

Se utilizaron esporas del hongo endófito candidato cepa UANL3 *Chaetomium globosum*. Las esporas se obtuvieron a partir de cultivos en agar V8, medio que induce a la mejor esporulación del hongo *C. globosum* (Andersen y Nissen 2000). El cultivo se inundó con agua estéril, raspando suavemente la superficie para liberar los conidios, y se filtró para producir soluciones stock de esporas.



**Figura 4.** Filtración de esporas de la cepa UANL3-LN *Chaetomium globosum*.

Las semillas esterilizadas se incubaron con una suspensión (1 g de semilla/1 ml de suspensión) identificada como tratamiento de  $1 \times 10^6$  esporas/mL por 12 h y en agitación. Las semillas del control negativo se trataron bajo las mismas condiciones con agua destilada estéril solamente.

### 6.3.2. Prueba de pregerminación

Treinta y cuatro semillas para el tratamiento y el control se incubaron en cajas Petri de vidrio por 7 días en plena oscuridad bajo condiciones controladas ( $28 \text{ }^\circ\text{C} \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$ ). Cada tercer día, las semillas se mantuvieron húmedas con un mililitro de la suspensión de tratamiento y el testigo, respectivamente.

Las semillas germinadas se plantaron en macetas de plástico con fondo perforado (4 cm, 11 cm de alto) en tierra y arena esterilizada por tres días seguidos en una relación 1:1 bajo condiciones de invernadero ( $25 \text{ }^\circ\text{C} \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$ ).



**Figura 5.** Prueba de pregerminación en semillas de maíz B73

### 6.3.3. Colonización endofítica

Para determinar la colonización endofítica de un subconjunto de 20 plantas/tratamiento, se tomaron muestras de las hojas, los tallos y las raíces de plantas de 14 días, y se evaluó la presencia del hongo endófito UANL3 *C. globosum*, aislado de las semillas de teocintle provenientes de Los Naranjos de Abajo, Jalisco.

Las plantas se esterilizaron en su superficie, enjuagándolas primero con agua de grifo durante cinco minutos. En condiciones estériles, se cortaron los segmentos de raíces, tallos

y hojas. Las secciones se sumergieron en etanol al 2% durante dos minutos y finalmente se lavaron en agua destilada estéril durante 5 minutos. Este último paso se repitió dos veces. Se determinó la eficiencia de esterilización colocando 100 uL del último lavado en placas de agar V8.

La eficiencia de la inoculación de UANL3 *C. globosum* se evaluó colocando segmentos de raíz y tallo de 1 cm, así como fragmentos de hojas de  $1\text{ cm}^2$  en agar V8 bajo condiciones estériles. Se aislaron y confirmaron colonias típicas de *C. globosum* bajo un microscopio compuesto (Zeiss Primo Star, Carl Zeiss Microscopy GmbH, Gottingen, Germany). Todas las cajas de Petri se incubaron a  $23\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$ , hasta la aparición de crecimiento de las hifas y posterior identificación del hongo endófito.

#### **6.4. Evaluación de los efectos de al menos un endófito candidato en el crecimiento de plantas de maíz sin y con *S. frugiperda***

Se evaluó el porcentaje de germinación de las semillas a los 7 días. Posterior a esto, las semillas germinadas se plantaron bajo las condiciones previamente establecidas, y a los 21 días de crecimiento se midió el diámetro del tallo y la longitud total de la planta.

Cada repetición experimental incluyó un modelo factorial de 8 plantas para los tratamientos respectivos (solución de esporas y agua destilada estéril), de las cuales, a los 21 días, 4 plantas fueron infestadas con neonatos de *S. frugiperda* mientras que las otras 4 no fueron infestadas. Esto se realizó por triplicado. Todas las plantas se cubrieron con bolsas microperforadas de plástico. Siete días después, se volvieron a medir las variables: diámetro del tallo y longitud total de la planta. Las plantas fueron retiradas de las macetas cónicas y lavadas con agua corriente para eliminar el sustrato de las plantas. Luego se determinó el peso seco. El peso seco se determinó colocando las plantas en un horno a  $80\text{ °C}$  hasta obtener un valor constante.

#### **6.5. Evaluación sistemática de la eficacia de al menos un endófito candidato contra *S. frugiperda***

Para los ensayos se utilizaron plántulas de maíz B73 enteras, colocadas en jaulas preparadas con bolsas microperforadas de plástico, bajo condiciones de invernadero ( $25\text{ °C}$

$\pm 3$  °C, fotoperiodo 10 luz: 8 oscuridad). Las plantas de 21 días se infestaron con 5 neonatos. La supervivencia de las larvas se monitoreó diariamente durante 7 días. Los datos que se colectaron por repetición fueron el tamaño de la cápsula cefálica (a través de uso del software ImageJ); peso seco del cuerpo de las larvas; y la supervivencia.



**Figura 6.** Larvas de *S. frugiperda* en plantas de maíz cubiertas con una bolsa de plástico microperforada.

## **6.6. Análisis estadístico**

Los datos obtenidos se analizaron en el programa JMP® Pro, Version 11.2.0 (SAS Institute Inc., Cary, NC, 1989–2013) con el que se realizó una prueba de *t* de Student y ANOVA de dos vías para comparar las tasas de colonización endofítica. Las tasas obtenidas se transformaron con la función Arcoseno, previo a su análisis. Para el análisis de los bioensayos en plantas de 21 días se realizó una prueba de *t* de Student. A su vez, los bioensayos de 28 días se analizaron a través de prueba de *t* de Student y ANOVA de dos vías. Los resultados se expresaron como media  $\pm$  SEM. Se tomó  $P < 0.05$  como estadísticamente significativo. Para las mediciones de las larvas se llevó a cabo una prueba de Kruskal-Wallis y prueba de Z.



## 7. RESULTADOS

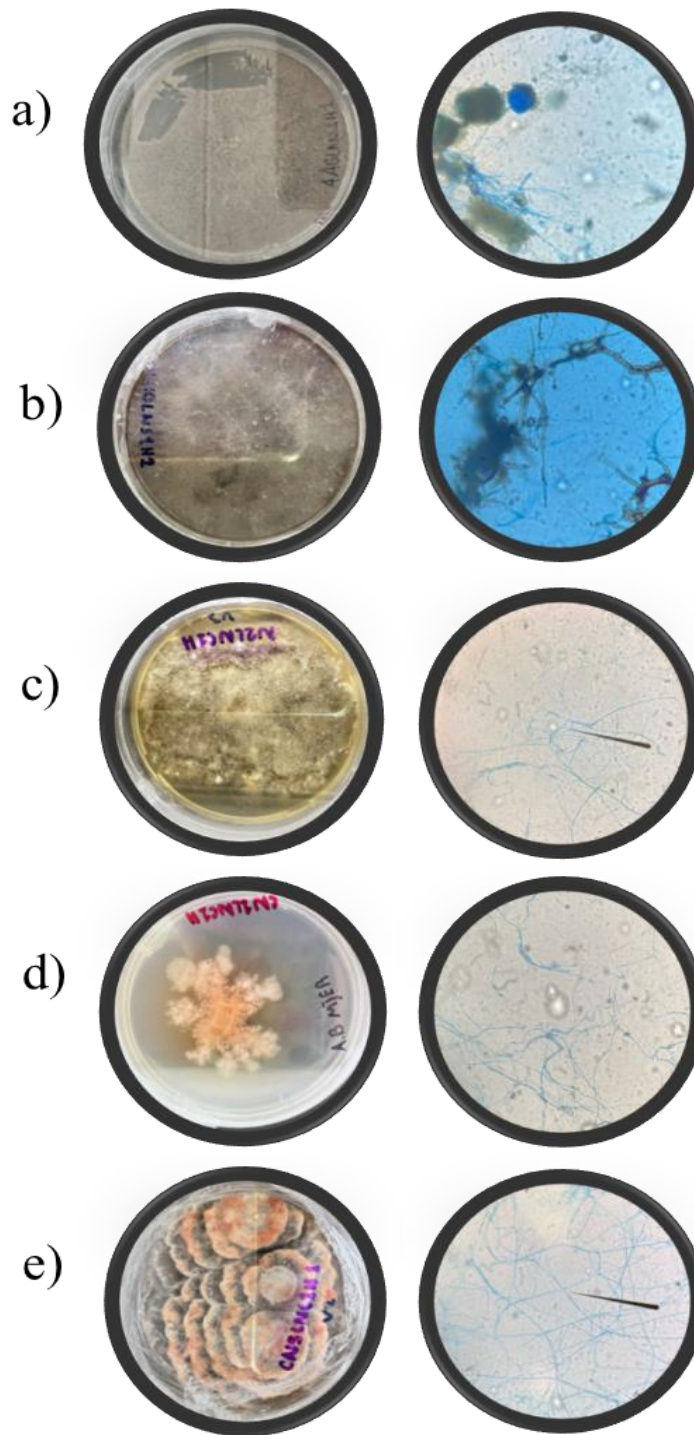
### 7.1. Aislamiento e identificación de endófitos de origen natural presentes en semillas de teocintle de Balsas (*Zea mays ssp. parviglumis*)

En la tabla 4 se muestra la identificación molecular de los hongos endófitos aislados de semillas de teocintle de Balsas (Los Naranjos de Abajo, Jalisco, México y Las Raíces, Jalisco, México). Las regiones amplificadas ITS1/ITS4 se secuenciaron, revisaron manualmente y analizaron utilizando la herramienta Blast para la identificación. Como el porcentaje de identidad se encontró entre 95-100%, las cepas se clasificaron a nivel de género y especie, partiendo de la información mostrada en la base de datos del NCBI.

**Tabla 4.** Identificación molecular basada en secuencias ITS1/ITS4 de los hongos endófitos aislados de semillas de *Z. mays ssp. parviglumis* de las regiones de Los Naranjos de Abajo (Designación LN) y Las Raíces, Jalisco (Designación LR).

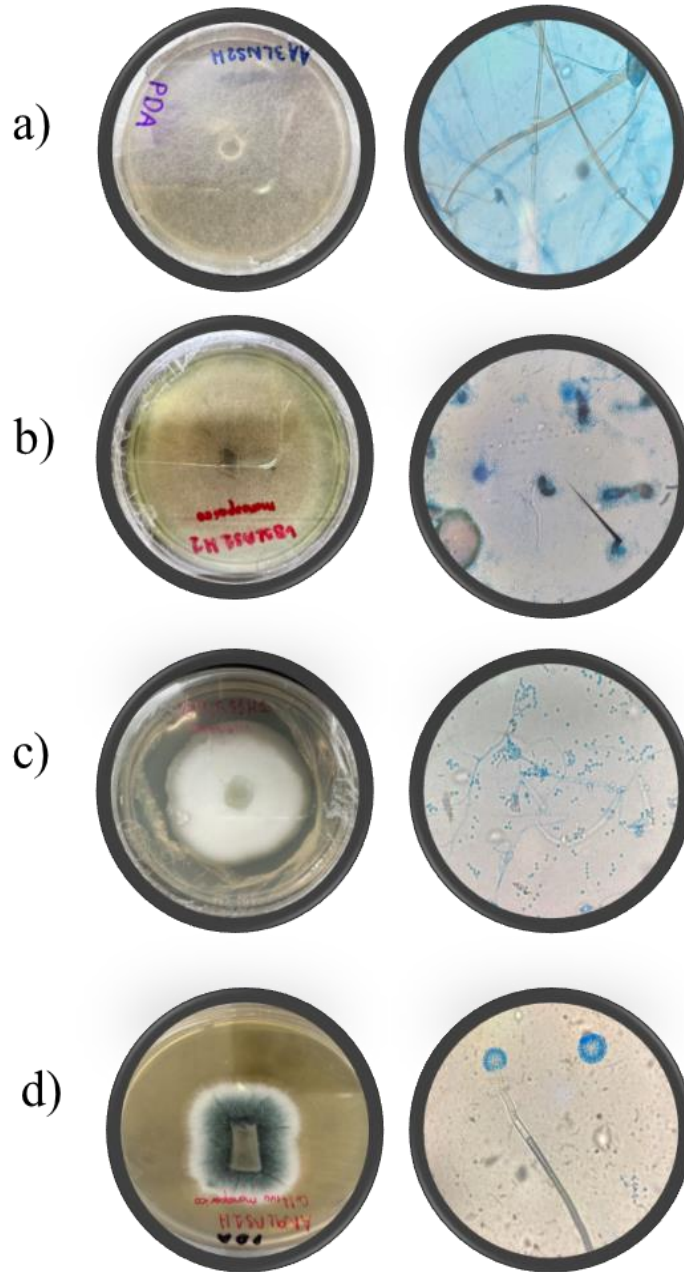
Código del aislado	Parientes más cercanos en NCBI	Cobertura	Valor E	Porcentaje de identidad%	Clasificación
UANL1-LN	MT597427.1 <i>Aspergillus fumigatus</i> cepa MEBP0074	100%	0	100%	<i>Aspergillus fumigatus</i>
UANL2-LN	KY610388.1 <i>Daldinia theissenii</i> cepa CBS:113044	100%	0	100%	<i>Daldinia theissenii</i>
UANL3-LN	ON989647.1 <i>Chaetomium globosum</i> cepa RBG 7293	100%	0	100%	<i>Chaetomium globosum</i>
UANL4-LN	ON989647.1 <i>Chaetomium globosum</i> cepa RBG 7294	100%	0	100%	<i>Chaetomium globosum</i>
UANL5-LN	KP055593.1 <i>Chaetomium madrasense</i> cepa KNU14-9	100%	0	100%	<i>Chaetomium madrasense</i>
UANL6-LR	MT603963.1 <i>Rhizopus arrhizus</i> cepa CMRC 584	100%	0	100%	<i>Rhizopus arrhizus</i>
UANL7-LR	OR077592.1 <i>Aspergillus fumigatus</i> cepa CITH-Fungus3	100%	0	100%	<i>Aspergillus fumigatus</i>
UANL8-LR	MT601879.1 <i>Penicillium ochrochloron</i> cepa FG27	100%	0	100%	<i>Penicillium ochrochloron</i>
UANL9-LR	OP991939.1 <i>Aspergillus fumigatus</i> cepa nsm37	100%	0	100%	<i>Aspergillus fumigatus</i>

De las semillas de teocintles de Los Naranjos de Abajo, Jalisco se aislaron 4 taxones fúngicos, agrupados en 3 géneros diferentes: *Aspergillus*, *Daldinia* y *Chaetomium* (Figura 7).



**Figura 7.** Morfología macroscópica (a la izquierda) y microscópica (a la derecha) de los hongos endófitos aislados de las semillas de teocintle de Los Naranjos de Abajo. A) UANL1 *Aspergillus fumigatus*, b) UANL2 *Daldinia theissenii*, c) UANL3 *Chaetomium globosum*, d) UANL4 *Chaetomium globosum*, e) UANL5 *Chaetomium madrasense*.

De las semillas de teocintle de Las Raíces, Jalisco se aislaron 3 taxones fúngicos, agrupados en 3 géneros diferentes: *Rhizopus*, *Penicillium* y *Aspergillus*, coincidiendo este último aislado en semillas de ambas localidades (Figura 8).



**Figura 8.** Morfología macroscópica (a la izquierda) y microscópica (a la derecha) de los hongos aislados de las semillas de teocintle de Las Raíces. a) UANL6 *Rhizopus arrhizus*, b) UANL7 *Aspergillus fumigatus*, c) UANL8 *Penicillium ochrochloron* y c) UANL9 *Aspergillus fumigatus*

La tabla 5 describe las características macroscópicas y microscópicas de los cultivos puros después de una semana de incubación en agar PDA.

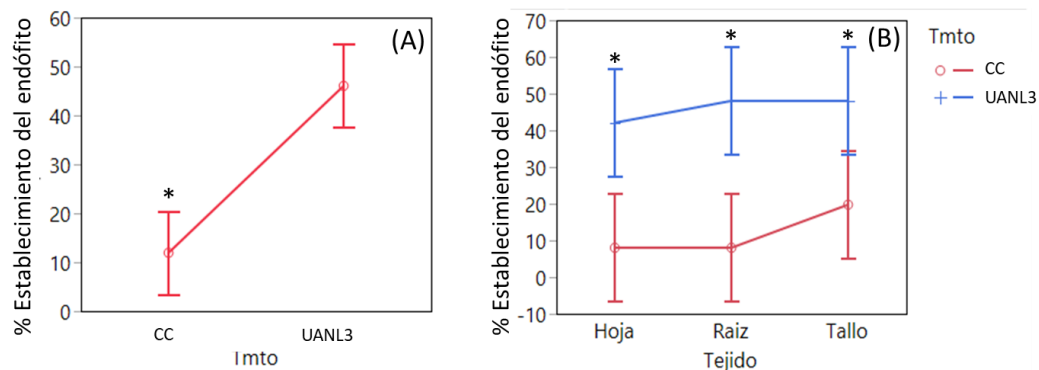
**Tabla 5.** Descripciones morfológicas macroscópicas y microscópicas en agar PDA de las cepas aisladas de las semillas de teocintle de las regiones geográficas de Los Naranjos de Abajo y Las Raíces, Jalisco.

Cepa	Clasificación	Características macroscópicas	Características microscópicas
UANL1-LN	<i>Aspergillus fumigatus</i>	Micelio de coloración verde claro por el frente y blanco cremoso en el reverso, de consistencia polvosa y de crecimiento radial.	Cabezas conidiales columnares y radiadas, conidióforos cortos de pared lisa que forman una sola fila de fiálides uniseriadas. Presenta conidios ovoides e hifas septadas.
UANL2-LN	<i>Daldinia theissenii</i>	Micelio de coloración negro por el frente y gris en el reverso, de consistencia dura y crecimiento disperso.	Peritecios inmersos en estomas globosos, de hifas septadas y conidioforos ramificados.
UANL3-LN	<i>Chaetomium globosum</i>	Micelio de coloración amarilla por el frente y rosacea en el reverso, de consistencia afelpada y crecimiento disperso. Presenta gotas de exudados de color amarillo.	Sistema hifal con hifas cenocíticas.
UANL4-LN	<i>Chaetomium globosum</i>	Micelio de coloración blanco rosáceo por el frente y rosa claro en el reverso, de consistencia afelpada y crecimiento disperso.	Sistema hifal con hifas cenocíticas.
UANL5-LN	<i>Chaetomium madrasense</i>	Micelio de coloración rosado por el frente y de color blanco cremoso en la parte más joven, rosa claro por el reverso, consistencia dura y crecimiento radial.	Sistema hifal con hifas cenocíticas.
UANL6-LR	<i>Rhizopus arrhizus</i>	Micelio de coloración blanco y puntos dispersos oscuros, gris en el reverso, de consistencia algodonosa y crecimiento uniforme.	Presencia de estolones y rizoides, esporangióforo que contiene esporangiosporas. Presenta hifas cenocíticas.
UANL7-LR	<i>Aspergillus fumigatus</i>	Micelio de coloración blanco por el frente y por el derecho. Conforme envejece se torna verde claro, de consistencia algodonosa y crecimiento radial.	Cabezas conidiales columnares y radiadas, conidióforos cortos de pared lisa que forman una sola fila de fiálides uniseriadas. Conidios ovoides e hifas septadas.
UANL8-LR	<i>Penicillium ochrochloron</i>	Micelio de coloración blanco por el frente y por el derecho. Surgimiento de colonias verdes, consistencia aterciopelada y crecimiento radial.	Hifas septadas, conidióforos que poseen ramas secundarias de las cuales surgen cadenas de esporas o conidios con forma de penacho.
UANL9-LR	<i>Aspergillus fumigatus</i>	Micelio de coloración verde oscuro por el frente y de color blanco en el reverso, de apariencia polvosa y crecimiento radial.	Cabezas conidiales columnares y radiadas, conidióforos cortos de pared lisa que forman una sola fila de fiálides uniseriadas. Conidios ovoides e hifas septadas.

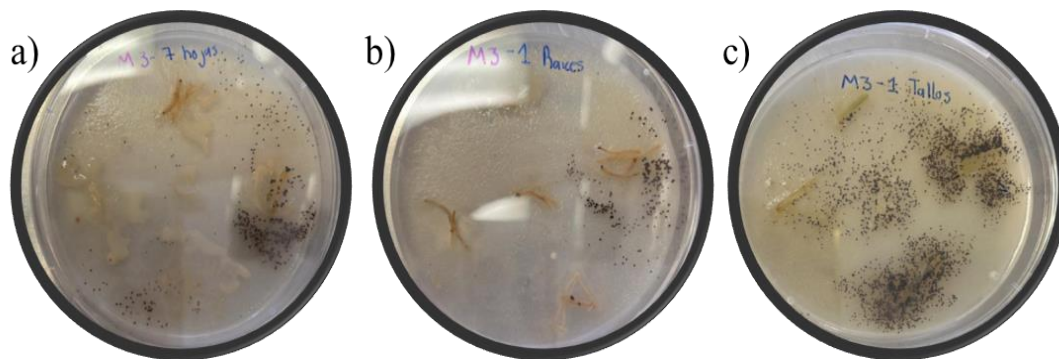
## 7.2. Desarrollo de un método de inoculación para el establecimiento de hongos endófitos candidatos en la variedad comercial de maíz B73

### 7.2.1. Porcentaje del establecimiento del endófito

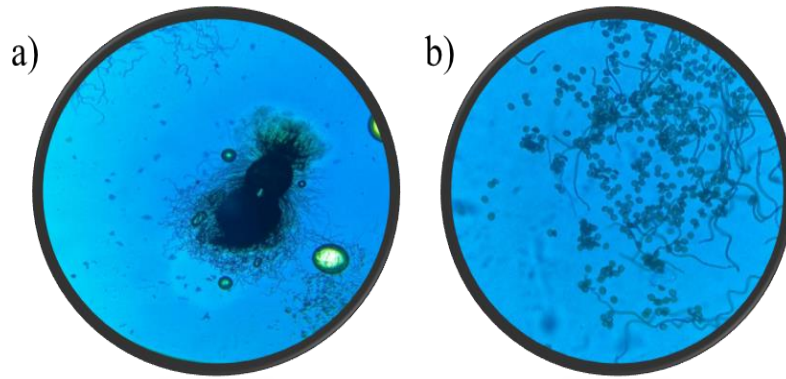
Se detectaron diferencias significativas entre los tratamientos ( $P=0.001$ ). Las hojas, tallos y raíces de las plantas inoculadas con UANL3 *C. globosum* indicaron la presencia significativa del hongo endófito candidato con respecto a las plantas control (Hojas  $P=0.003$ , Tallos  $P=0.001$  y Raíces  $P=0.001$ ). Existió evidencia de recuperación de un hongo endófito de características típicas al género *Chaetomium* en los tejidos vegetales (hojas, tallos y raíces) de los controles negativos. La presencia de esta cepa nativa similar a *Chaetomium* sp. en las plantas control se verificó por microscopía (Figura 9).



**Figura 9.** Porcentaje de establecimiento del endófito. A) Comparación entre los tratamientos ( $t$  de Student  $\alpha < 0.05$ ) y B) Comparación a nivel de tejido (ANOVA de dos vías, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$ , \*\*\*\*  $P < 0.001$ ).



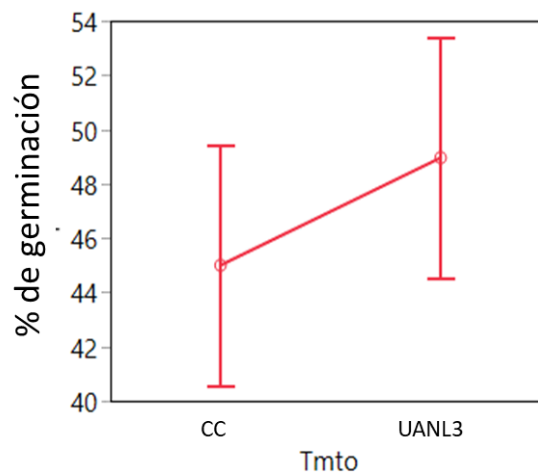
**Figura 10.** Presencia de UANL3 *C. globosum* en plantas de 14 días de crecimiento en a) hojas, b) tallos y c) raíces en agar V8.



**Figura 11.** Cepa UANL3 *C. globosum* recuperada de plantas de 14 días de crecimiento y cultivada en agar V8 al microscopio 40X. a) Ascogonios característicos de *C. globosum* y b) ascosporas planas en forma de limón junto a hifas filamentosas e irregulares.

### 7.2.2. Efecto de UANL3 *C. globosum* en la germinación de *Z. mays* B73

Los efectos del tratamiento con la cepa UANL3 *C. globosum* en el porcentaje de la germinación no indicaron diferencia significativa en comparación con las plantas no tratadas. Sin embargo, se muestra una tendencia en la media en que el uso de *C. globosum* tiene un efecto positivo sobre el porcentaje de germinación (Figura 12).

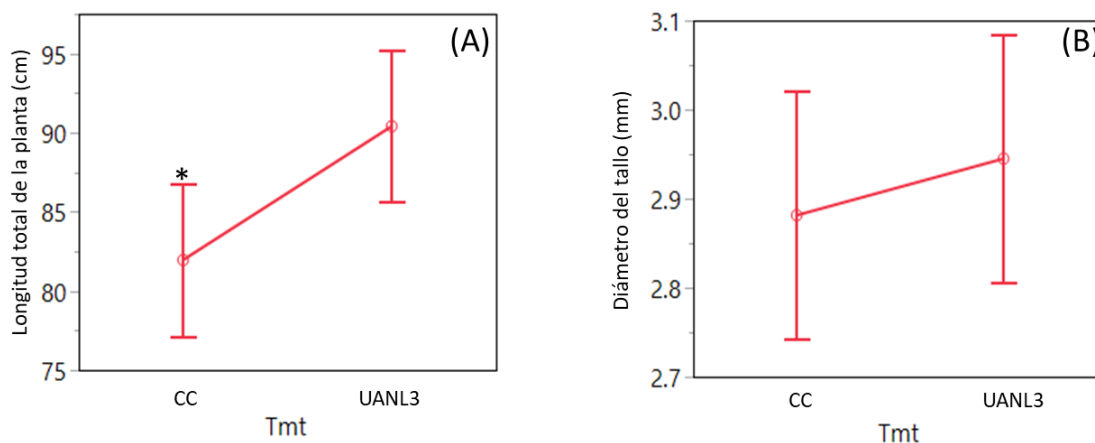


**Figura 12.** Porcentaje de germinación de *Zea mays* cv. B73 tratadas con el control y con UANL3 *C. globosum* 7 días después de la inoculación ( $t$  de Student  $\alpha < 0.05$ ).

### 7.3. Evaluación los efectos de al menos un endófito candidato sin y con *S. frugiperda* en el crecimiento de plantas de maíz B73

#### 7.3.1. Evaluación del efecto de UANL3 *C. globosum* en plántulas de maíz de 21 días de crecimiento previa a la infestación

El análisis estadístico indicó que existe diferencia significativa entre el tratamiento con UANL3 *C. globosum* en comparación con el control en la longitud total de las plantas ( $P=0.02$ ). El diámetro del tallo no mostró diferencias significativas (Figura 13).

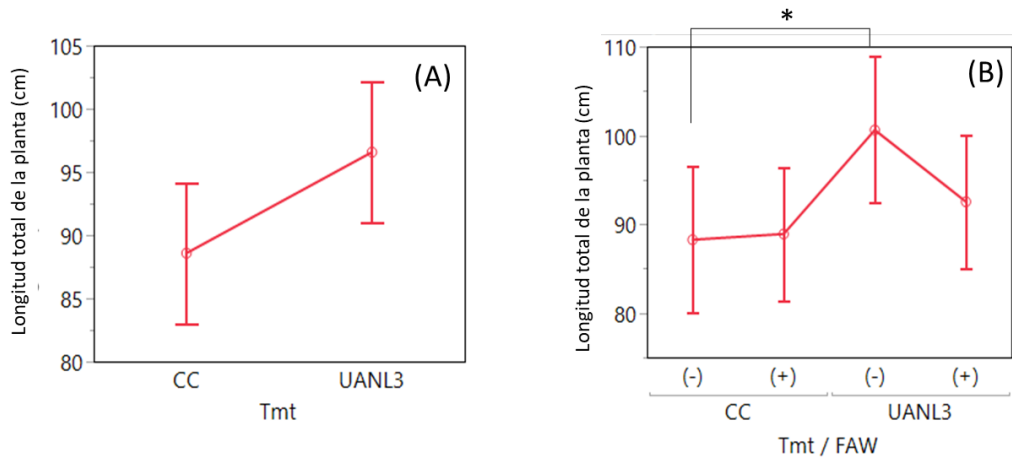


**Figura 13.** A) Longitud total de la planta y B) Diámetro del tallo a los 21 días de crecimiento de las plantas tratadas con el control (CC) y con UANL3 *C. globosum* (UANL3) ( $t$  de Student  $\alpha < 0.05$ ).

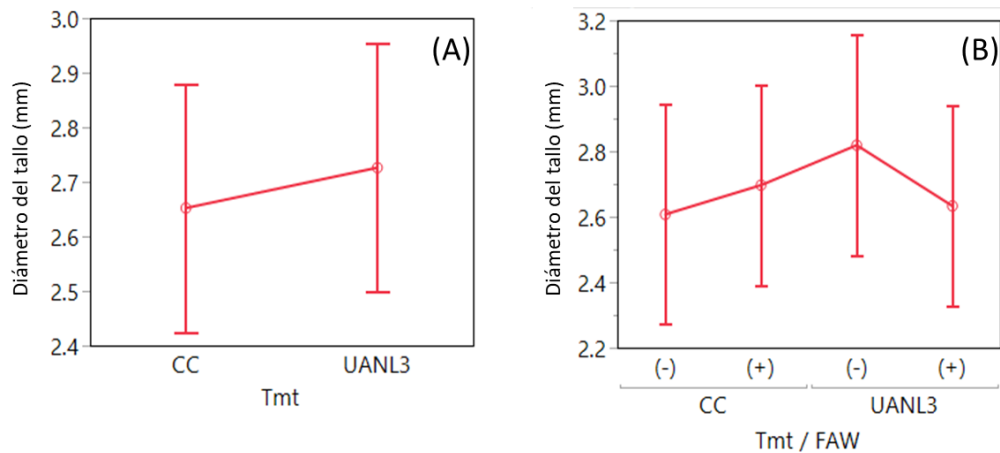
#### 7.3.2. Evaluación del efecto de UANL3 *C. globosum* en plántulas de *Z. mays* B73 de 28 días de crecimiento con y sin *S. frugiperda*

A los 28 días de crecimiento, el tratamiento con la cepa UANL3 *C. globosum* (UANL3) aumento la longitud total de las plantas ( $P=0.04$ ), en comparación con las plantas no tratadas (CC) (Figura 14 A). Además, se reportó diferencia significativa entre las plantas UANL3 sin infestar en comparación con las testigos sin infestar (Figura 14 B).





**Figura 14.** A) Longitud total de la planta a los 28 días de crecimiento a nivel de tratamiento ( $t$  de Student  $\alpha < 0.05$ ). y B) Sin y con *S. frugiperda*. (ANOVA de dos vías, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$ , \*\*\*\*  $P < 0.0001$ ). CC: Control negativo, UANL3: plantas tratadas con UANL3 *C. globosum*, -: con cogollero, +: sin cogollero.

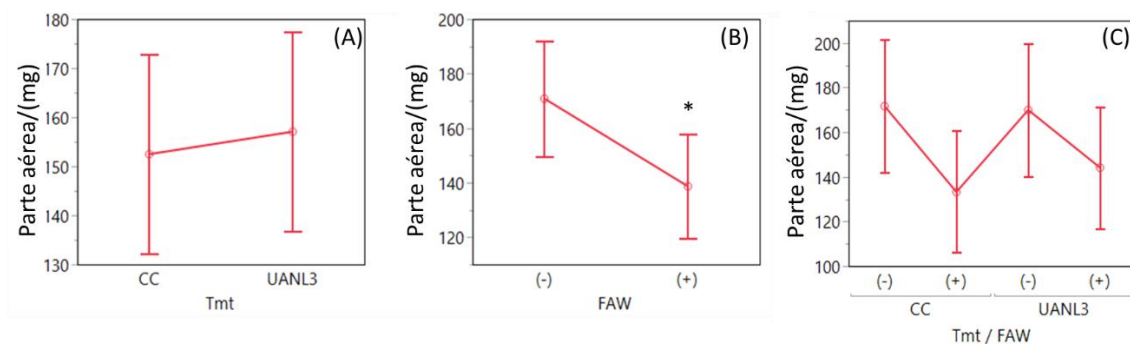


**Figura 15.** A) Diámetro del tallo a los 28 días de crecimiento a nivel de tratamiento ( $t$  de Student  $\alpha < 0.05$ ) y B) Sin y con *S. frugiperda*. (ANOVA de dos vías, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$ , \*\*\*\*  $P < 0.0001$ ). CC: Control negativo, UANL3: plantas tratadas con UANL3 *C. globosum*, -: con cogollero, +: sin cogollero.

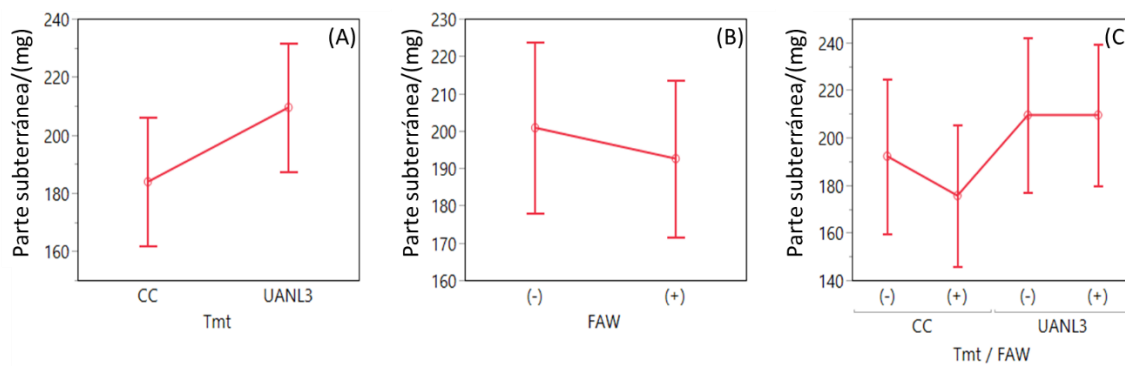
Las plantas inoculadas con la cepa UANL3 *C. globosum*, con larvas de *S. frugiperda* no aumentaron ni disminuyeron la longitud total de la planta o el diámetro del tallo, en comparación con las plantas no tratadas con larvas de *S. frugiperda* ( Figura 14B y 15B).



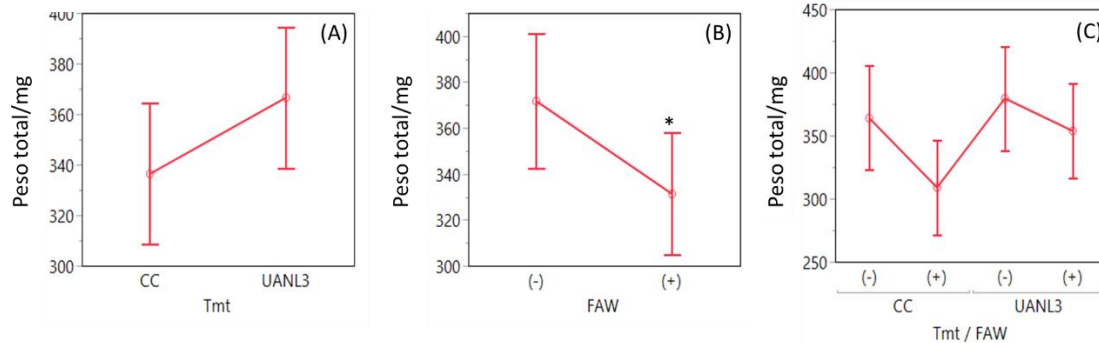
Según los resultados obtenidos del peso seco, el análisis estadístico indicó que no existe diferencia significativa entre los tratamientos con UANL3 *C. globosum* y las plantas control en ausencia o presencia de *S. frugiperda* (Figura 16, 17 y 18).



**Figura 16.** A) Peso seco de la parte aérea de la planta a nivel de tratamiento (t de Student  $\alpha < 0.05$ ), B) Peso seco de la parte aérea a nivel de FAW (t de Student  $\alpha < 0.05$ ) y C) sin y con *S. frugiperda* contra los tratamientos a los 28 días de crecimiento (ANOVA de dos vías, \* P < 0.05, \*\* P < 0.01, \*\*\* P < 0.001, \*\*\*\* P < 0.001).



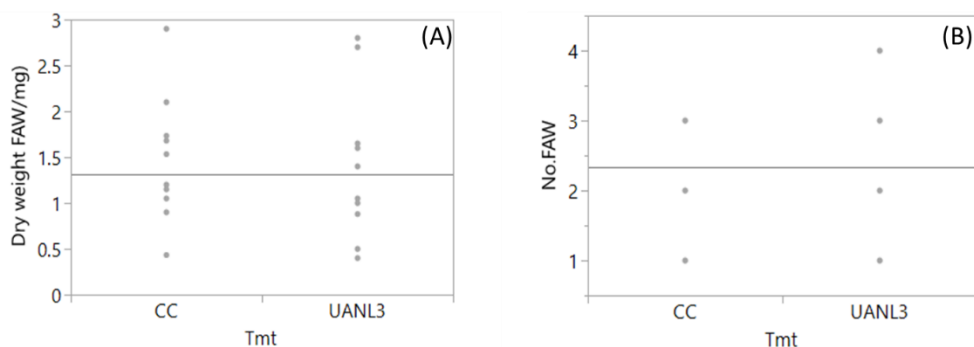
**Figura 17.** A) Peso seco de la parte subterránea de la planta a nivel de tratamiento (t de Student  $\alpha < 0.05$ ), B) Peso seco de la parte subterránea a nivel de FAW (t de Student  $\alpha < 0.05$ ) y C) sin y con *S. frugiperda* contra los tratamientos a los 28 días de crecimiento (ANOVA de dos vías, \* P < 0.05, \*\* P < 0.01, \*\*\* P < 0.001, \*\*\*\* P < 0.001).



**Figura 18.** A) Peso total de la planta a nivel de tratamiento (t de Student  $\alpha < 0.05$ ), B) Peso total a nivel de FAW (t de Student  $\alpha < 0.05$ ) y C) sin y con *S. frugiperda* contra los tratamientos a los 28 días de crecimiento (ANOVA de dos vías, \* P < 0.05, \*\* P < 0.01, \*\*\* P < 0.001, \*\*\*\* P < 0.001).

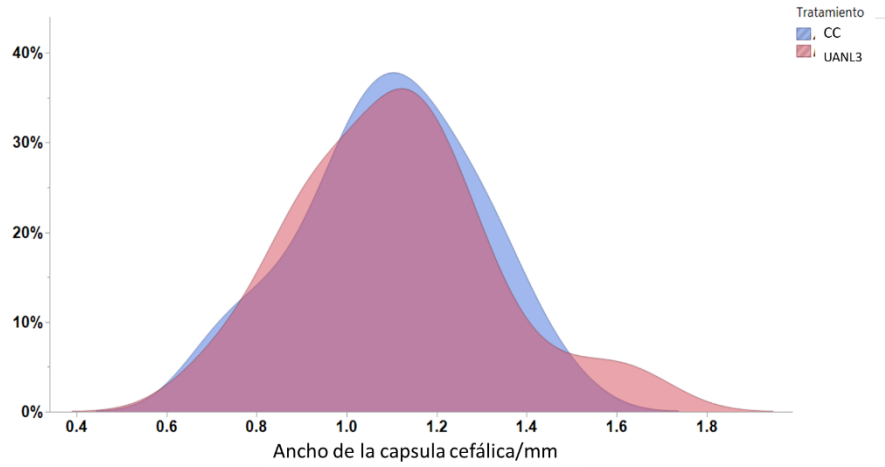
#### 7.4 . Evaluación del efecto de UANL3 *C. globosum* contra *S. frugiperda*

Se colocaron cinco neonatos de *S. frugiperda* en plantas de maíz B73 (las tratadas con *C. globosum* y las no tratadas). Estas se recuperaron siete días después de la infestación y se pesaron. No se reportó diferencia significativa entre los pesos secos corporales de las larvas en comparación con las larvas que se alimentaron de las plantas no tratadas. Tampoco se observaron diferencias significativas en la supervivencia (Figura 19).



**Figura 19.** A) Peso seco del cuerpo de las larvas recuperadas a los 7 días después de la infestación. Y B) Supervivencia (Kruskall-Wallis  $\alpha < 0.05$ ).

Por otro lado, no se observaron diferencias significativas entre los anchos de las capsulas cefalicas de las larvas de las plantas tratadas y las no tratadas (Figura 20). Asi mismo, tampoco se observo diferencia entre la supervivencia de ambos grupos.



**Figura 20.** a) Ancho de cápsula cefalica de las larvas y b) supervivencia de las larvas. CCFaw: Controles negativos infestados con *S. frugiperda*, UANL3FAW: plantas tratadas con UANL3 *C. globosum* infestadas con *S. frugiperda*. ( $P(Z \leq z)$  one-tail 0.4).

## 8. DISCUSIÓN

En el presente estudio se aislaron e identificaron hongos endófitos de semillas de teocintle (*Zea mays* ssp. *parviglumis*) provenientes de dos localizaciones geográficas de Jalisco cercanas a la cuenca de Balsas. Abdelaziz *et al.* (2022) identificaron a *Aspergillus fumigatus* como endófito del maíz (*Zea mays mays*), mientras que Erfandoust *et al.* (2020) y Khan *et al.* (2011) resaltaron sus funciones endofíticas, vinculándolas con la mejora del crecimiento de plántulas de maíz, la biomasa de la planta y los atributos de rendimiento. Esto se le atribuyó a la producción de IAA, flavonoides y giberelinas. En nuestros informes, *Aspergillus fumigatus* fue consistentemente aislado e identificado en semillas de teocintle como endófito en ambas localidades.

Chutulo y Chalannavar *et al.* (2020) han informado que *Daldinia eschscholtzii* actúa como endófito en *Psidium guajava*. Liarzi *et al.* (2016) indican que algunas especies de *Daldinia* pueden producir compuestos orgánicos volátiles con propiedades nematocidas en huevos y etapas tempranas de *Meloidogyne javanica*. Esto aumenta el interés por el potencial biotecnológico del aislado obtenido en este trabajo de *Daldinia thesenii* de las semillas de Los Naranjos, Jalisco.

Se aislaron dos especies diferentes de *Chaetomium* de las semillas de Los Naranjos, Jalisco (*C. globosum* y *C. madrasense*). *C. madrasense* ha sido reportado como endófito del maíz por Lebody *et al.* (2021) mientras que *C. globosum* ha sido reportado como endófito facultativo del algodón por Ek ramos *et al.* (2013) y del maíz por Elshahwy y Khattab (2022). Zhou *et al.* (2016) han destacado que TAMU 520 *Chaetomium globosum* afecta la fecundidad de hembras adultas de *Spodoptera exigua* (Hübner) y causa el desarrollo temprano de las larvas. Además, Elshahawy y Khattab (2022) confirmaron que el alto antagonismo del aislado endófito *C. globosum* Chg-1 logró controlar la marchitez tardía del maíz.

En 2021, Degani *et al* reportaron *Rhizopus arrizus* (también designado como *R. oryzae*) como endófito del maíz. En este estudio se realizaron pruebas de antagonismo y se probó que la cepa era capaz de crecer sobre la superficie de la colonia de *Monographella maydis* y cubrir su superficie por completo en 6-7 días, sin embargo, su uso para contrarrestar la marchitez tardía en el maíz se descartó por su potencial para causar riesgo humano. En

contraste, ha sido reportado por Londoño *et al.* (2017) como seguro en su uso para la producción de algunos alimentos tradicionales orientales y es considerado como un buen productor de ácido láctico. Según nuestros datos, el teocintle mexicano, ancestro directo del maíz, contuvo esta especie como endófito de las semillas. Para determinar si esta cepa y todas las aquí reportadas causan algún riesgo en el ser humano, se realizarán bioensayos en el futuro con el fin de evaluar la bioseguridad de tales agentes biológicos.

*Penicillium ochrocloron* ha sido reportado como endófito de *Lonicera japonica* por Liu *et al.* (2023), quienes evaluaron su citotoxicidad contra diversas líneas celulares *in vitro*, y del que se descubrió un nuevo compuesto el cual poseyó una citotoxicidad considerable contra las líneas celulares MCF-7 y THP-1. En este estudio se aisló *P. ochrocloron* como endófito del teocintle y su potencial abre puertas para explorar su potencial biotecnológico y las posibles aportaciones en una agricultura sustentable.

Según nuestros resultados, la cepa UANL3 *C.globosum* puede ser introducida como endófito dentro del maíz utilizando un tratamiento de semillas con una ratio de colonización óptima en las plantas tratadas. En base a esto Altaf *et al.* (2023) informaron acerca de la colonización endofítica de los hongos entomopatógenos *B. bassiana* y *M. anisopliae* a través de métodos de tratamiento de semillas en plantas de maíz, de tal manera que la tasa de colonización resultó en 72-80% y 50-60% respectivamente, 14 días después de la inoculación. Por otro lado, Kuzhuppillymyal *et al.* (2021) reportaron que la colonización endofítica de *B. bassiana* en plantas de maíz después de la inoculación de semillas fue exitosa en hojas, tallos y raíces. Los resultados mostraron colonización de raíces en todos los tratamientos, seguidos de una colonización de tallos y hojas que oscilaba entre 100% y 25%. En 2017, Sword *et al* informaron que la colonización endofítica de *Phialeomium inflatum* en plantas del algodón después de la inoculación de semillas fue la siguiente: 50-80%, 0-62.5% y 0-10%, en hojas, tallos y raíces respectivamente. En cambio, Zhou *et al.* (2015) demostraron que la colonización endofítica en plantas de algodón de la cepa TAMU 520 *C. globosum* osciló en 60% tanto en tejidos aéreos (hojas y tallos) como subterráneos (raíces) después del tratamiento de las semillas, a las seis semanas. Nuestros hallazgos señalaron de manera evidente que este es el caso de UANL3 *C. globosum*, el cual actúa como endófito facultativo en el maíz,

con una tasa de colonización endofítica del 44.99%, 54.21% y 52.20% en las hojas, tallos y raíces, respectivamente, a los 14 días después de la inoculación. Según Kandel *et al.* (2017), la colonización puede localizarse a nivel de tejido o sistémicamente en todo el cuerpo de la planta. Los resultados evidenciaron la colonización sistémica de los diferentes tejidos de la planta de maíz después de la inoculación de las semillas.

El protocolo de esterilización de semillas de maíz B73 previo a la inoculación artificial resultó lo suficientemente estricto para eliminar los hongos epifitos, pues ni hongos ni bacterias crecieron después de verter una alícuota del último lavado en la superficie de las placas de control de los medios utilizados. Así mismo, el protocolo de esterilización de las plantas previo a la prueba de colonización del endófito se reportó como eficiente, de acuerdo con los parámetros anteriores. La aparición de una especie nativa de *Chaetomium* tanto en hojas, tallos y raíces en las plantas de control, identificada morfológicamente con base a sus características macroscópicas y microscópicas son evidencias que sugieren que *Chaetomium* sp. es un ejemplar endófito natural de plantas de *Zea mays* cv. B73. Lebody *et al.* (2021) informaron acerca de cinco aislados de híbridos de maíz, entre los cuales se encontraba *Chaetomium madrasense*, mientras que Herlinda *et al.* (2021) reportaron *Chaetomium* sp. aislados de tallos de maíz. De acuerdo con Saikkonen (2007) y Bamisile *et al.* (2018) se observó que los endófitos fúngicos tienen la capacidad de colonizar diversas especies de plantas, dependiendo de factores bióticos y abióticos dentro de los límites de su plasticidad fenotípica y genotípica. Así mismo, algunos endófitos muestran efectos más específicos y solo interactúan con un número limitado de plantas y tejidos. Esto sugiere que la cepa de *Chaetomium* aislada en nuestro modelo de estudio de las plantas no tratadas, en baja frecuencia, podría conferir a la planta efectos distintos a los que se observaron en la cepa UANL3, aislada del ancestro silvestre del maíz.

El porcentaje de germinación de las semillas en el tratamiento y el control no mostró diferencia significativa, de tal manera que ni el hongo ni el control afectaron la germinación negativa o positivamente. No obstante, se observó que la media del tratamiento con UANL3 era mayor a la del control. Acorde con lo reportado por Tian *et al.* (2022), se indicó que *Chaetomium globosum* ND35 aumentó el porcentaje de germinación de semillas de pepino, así como la longitud de la radícula, mientras que la

tasa de crecimiento de las semillas exhibió una tasa de crecimiento significativamente mayor después de las primeras 48 horas en comparación con el control. El efecto no significativo demostrado por UANL3 podría explicarse por el estrés que genera la colonización endofítica en la semilla, o a la aparición tardía de metabolitos secundarios.

Según nuestros resultados, el tratamiento con UANL 3 *C. globosum* aumentó la longitud total de la planta, mientras que el diámetro del tallo no mostro diferencia significativa entre las plantas tratadas y las no tratadas a los 21 días de crecimiento. Acorde a esto, Tarafdar y Gharu (2006) describieron que la aplicación de *C. globosum* como tratamiento del suelo mejoró el crecimiento de las plantas de cultivos de trigo y mijo, con efectos positivos atribuidos a la producción de fosfatasas y fitasas por parte del hongo. Vilich *et al.* (1998) también demostraron la mejora en el crecimiento de cultivos de cebada cuando se aplicó *C. globosum* y *C. funicola* en tratamiento de semillas. Tian *et al.* (2022), a su vez, demostraron que *C. globosum* puede promover la altura de las plantas de pepino. Según Schardl *et al.* (2004), la proliferación de los endófitos esta estrictamente sincronizado con el crecimiento de las plantas; a su vez, los endófitos de las gramíneas afectan las relaciones hídricas de las plantas, la adquisición de nutrientes, y la asignación y asimilación fotosintética. Dominguez *et al.* (2022) especularon, basándose en sus resultados obtenidos a partir de hongos endófitos aislados de *Zea mays* ssp. *mexicana* e inoculados en semillas de maíz, que la colonización de las semillas por estos hongos comienza en el primordio radicular, transformando compuestos orgánicos como aminoácidos vegetales en fitohormonas que favorecen el crecimiento óptimo de la planta. Nuestros estudios, en conjunto con estos informes previamente publicados, sugieren que la producción de fitohormonas mediada por las interacciones endófito-planta desempeñan un papel crucial al promover el crecimiento positivo de las plantas, a través del aumento de la asimilación fotosintética, reflejado en la longitud total de las hojas.

Los efectos positivos en la longitud total de la planta se conservaron a los 28 días de crecimiento, tanto en las plantas tratadas con el endófito como en las no tratadas. Este hallazgo sugiere que el hongo continúa estimulando el crecimiento de la planta incluso siete días después de la primera medición, respaldando la noción de que el endófito ejerce efectos a largo plazo en el desarrollo vegetal a través de una colonización sistémica. Hu

*et al.* (2023) probaron la colonización fúngica de especies de *Metarhizium* en raíces y rizosfera de *Cannabis sativa* L., constatando la colonización de todas las especies probadas a los 10, 20 y 20 días. Además observaron un efecto positivo en la longitud de los brotes de cáñamo, el peso del tallo y el peso de las raíces durante la colonización de las raíces por *Metarhizium*. Bamisile *et al.* (2019) evaluaron la colonización de *B. bassiana* a las 4, 8 y 12 semanas post inoculación foliar de plantas de cítricos. Los resultados sugirieron que UANL3 *C. globosum* tiene potencial de moverse a través de los tejidos vasculares interconectados, colonizando así sistémicamente toda la planta. En base a esto, se espera que de realizar la evaluación endofítica, la presencia del hongo se mostraría, aunado a sus efectos.

Al exponer tanto a las plantas tratadas con el endófito como a las no tratadas a la infestación por neonatos de *S. frugiperda*, no se observó un aumento o una disminución en la longitud total de la planta. Con base en esto, se ha buscado explicar el efecto en las plantas y el consumo de insectos al alimentarse de plantas inoculadas. Vianna *et al.* (2018) concluyó que las larvas de *H. gelotopoeon* se alimentaban preferentemente de hojas de tabaco inoculadas con *B. bassiana* en lugar de hojas de tabaco no inoculadas en ensayos de elección, y Lopez y Sword (2015) propusieron que la producción de metabolitos secundarios con propiedades antihervíboras, cambios en el perfil de fitoesterol de las plantas, la producción de superóxidos o la respuesta sistémica indirecta podrían ser los motivos del cambio de comportamiento en los insectos. Autores como Fornoni (2010) y Belsky *et al.* (1993) han propuesto que el rebrote posterior al daño es una respuesta generalizada de las plantas a diversos tipos de daño tisular. INECOL (2021) indicó que las plantas tolerantes a la herbivoría son capaces de crecer rápido y de reutilizar los productos de la fotosíntesis, permitiendo que los herbívoros consuman hojas relativamente pobres en nutrientes. Así, las plantas compensan la pérdida de tejido por el consumo de los herbívoros produciendo nuevos tejidos. Frew *et al.* (2021) indicaron que los hongos micorrícicos pueden incluir una menor asignación de defensas activas y una mayor inversión para mejorar el recrecimiento y la tolerancia a la herbivoría. *Epichloë* puede aumentar la resistencia de las plantas a herbívoros y patógenos, así como mejorar el rendimiento de las plantas bajo estrés abiótico (Clay y Schardl 2002; Malinowski y Belesky (2019). Alternativamente, los endófitos pueden reducir la tolerancia de las plantas



a la herbivoría al reducir el recrecimiento después de la defoliación (Qin *et al.* 2016), particularmente si las plantas tienen menos carbono para el recrecimiento debido a la asignación a la simbiosis. Por otro lado, Partida-Martinez y Heil. (2011) y Gundel *et al.* (2020) indicaron que no se ha podido resolver si los hongos endófitos que confieren resistencia ante los herbívoros limitan o mejoran la capacidad de las plantas hospedantes para volver a crecer después del daño, pues actualmente existen pocos experimentos que los sustenten. Adicionalmente, sugerimos que la medición del área total también es un parámetro certero para evaluar el impacto en la planta ante la herbivoría, como la alimentación de las larvas. En línea con investigaciones previas, Russo *et al* en 2019, cuantificaron el área total consumida (mm<sup>2</sup>) e identificaron diferencias significativas en el área foliar consumida entre las plantas inoculadas de maíz por *B. bassiana* y las no inoculadas en ensayos de elección. Este descubrimiento refuerza la contribución positiva de la colonización endofítica en la capacidad de respuesta de la planta ante el daño ocasionado por las larvas.

El peso seco de las plantas con ambos tratamientos en ausencia o presencia de gusano cogollero no mostraron diferencia significativa. A diferencia de nuestros resultados, Tían *et al.* (2022) informó que el tratamiento de semillas con *C. globosum* incrementó el peso fresco y seco de plántulas de pepino de 15 días.

Según nuestros resultados, el peso seco de los individuos alimentados con plantas tratadas con el endófito no mostró diferencia significativa con aquellos alimentados con plantas de control. Tampoco se observó diferencia en las capsulas cefálicas. Zhou *et al.* (2016) informaron que, a diferencia de nuestros resultados, larvas de *S. exigua* al ser alimentadas con plantas de algodón tratadas con la cepa TAMU 520 *C. globosum*, presentaron capsulas de cabeza más pequeñas, mientras que el peso de las larvas no difirió de los controles. El tamaño umbral en el que se producirá la muda es determinado por el umbral crítico del ancho de la capsula cefálica y el tamaño corporal al comienzo de cada etapa de desarrollo. Estos mecanismos que regulan el desarrollo y el tamaño corporal son bien conocidos en los insectos (Nijhout y Callier 2015).

## 9. CONCLUSIÓN

- El teocintle de Balsas hospeda hongos endófitos con potencial biotecnológico que otorgan características que mejoran el crecimiento de las plantas de maíz B73,
- La cepa UANL3 puede establecerse como endófito a través de la inoculación de semillas.
- La cepa UANL3 promueve el crecimiento de la planta a los 21 y 28 días de crecimiento.
- La cepa UANL3, en comparación con el testigo, no aumento ni disminuyó la longitud total de la planta ni el peso seco en presencia de *S. frugiperda*, lo cual podría ser indicativo de tolerancia a la herbivoría.
- El desarrollo (ancho de la capsula cefálica), crecimiento (peso fresco y seco de la larva), y la supervivencia de las larvas de *S. frugiperda* no mostraron diferencia significativa entre las plantas tratadas y las no tratadas, por lo que se descarta que la cepa UANL3 mejora la resistencia a esta especie en maíz B73.

## 10. PERSPECTIVAS

- Emplear concentraciones diferentes del hongo y evaluar sus efectos en las plantas de maíz.
- Dar seguimiento a las larvas colectadas de las plantas y evaluar los cambios en estadio de pupa y adulto.
- Medir el área foliar de las plantas alimentadas por *S. frugiperda*.
- Realizar bioensayos de elección.
- Ampliar los estudios en base a la evaluación del rebrote después del daño por *S. frugiperda*.
- Identificar molecularmente la cepa aislada de *Chaetomium* sp. de *Zea mays* cv. 73.

## 11. BIBLIOGRAFÍA

- Adeleke, B. S., Fadiji, A. E., Ayilara, M. S., Igiehon, O. N., Nwachukwu, B. C., & Babalola, O. O. (2022). Strategies to Enhance the Use of Endophytes as Bioinoculants in Agriculture. *Horticulturae*, 8(6), 498.
- Altaf, N., Ullah, M. I., Afzal, M., Arshad, M., Ali, S., Rizwan, M., ... & Sayed, S. (2023). Endophytic Colonization by *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in Maize Plants Affects the Fitness of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Microorganisms*, 11(4), 1067.
- Aly, A. H., Debbab, A., & Proksch, P. (2011). Fungal endophytes: unique plant inhabitants with great promises. *Applied microbiology and biotechnology*, 90(6), 1829-1845.
- Andersen, B., & Nissen, A. T. (2000). Evaluation of media for detection of *Stachybotrys* and *Chaetomium* species associated with water-damaged buildings. *International biodeterioration & biodegradation*, 46(2), 111-116.
- Aragón, S., & Beltrán-Acosta, C. (2019). Los hongos endófitos en el control biológico de fitopatógenos e insectos plaga. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (agrosavia). Capítulo, 19, 850-877.
- Ayil-Gutiérrez, B. A., Sánchez-Teyer, L. F., Vazquez-Flota, F., Monforte-González, M., Tamayo-Ordóñez, Y., Tamayo-Ordóñez, M. C., & Rivera, G. (2018). Biological effects of natural products against *Spodoptera* ssp. *Crop Protection*, 114, 195-207.
- Bamisile, B. S., Dash, C. K., Akutse, K. S., Keppanan, R., & Wang, L. (2018). Fungal endophytes: beyond herbivore management. *Frontiers in microbiology*, 9, 544.
- Banda, T. J. F., Enkerlin, S. D., De Alba, F. G., & Garza, B. L. E. (1981). Importancia económica de *Heliothis zea* (Boddie) y determinación del umbral económico, distribución matemática y muestreo secuencial de *Spodoptera frugiperda* [JE Smith] en maíz criollo. *Fitófilo*, 85, 101-118.
- Baron, N. C., & Rigobelo, E. C. (2022). Endophytic fungi: a tool for plant growth promotion and sustainable agriculture. *Mycology*, 13(1), 39-55.
- Beadle, G. W. (1939). Teosinte and the origin of maize. *Journal of Heredity*, 30(6), 245-247.

- Bellota, E., Medina, R. F., & Bernal, J. S. (2013). Physical leaf defenses—altered by *Zea* life-history evolution, domestication, and breeding—mediate oviposition preference of a specialist leafhopper. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 149(2), 185-195
- Belsky, A. J., Carson, W. P., Jensen, C. L., & Fox, G. A. (1993). Overcompensation by plants: herbivore optimization or red herring?. *Evolutionary Ecology*, 7, 109-121.
- Bernal-Cabrera, A., Martínez-Coca, B., Herrera-Isla, L., Ynfante-Martínez, D., Peteira-Delgado, B., Portal, O., ... & de Wit, P. J. (2021). The first report on the occurrence race 9 of the tomato leaf mold pathogen *Cladosporium fulvum* (syn. *Passalora fulva*) in Cuba. *European Journal of Plant Pathology*, 160(3), 731-736.
- Bertini, L., Perazzolli, M., Proietti, S., Capaldi, G., Savatin, D. V., Bigini, V., ... & Caruso, C. (2022). Biodiversity and bioprospecting of fungal endophytes from the antarctic plant *Colobanthus quitensis*. *Journal of Fungi*, 8(9), 979.
- Bertini, L., Perazzolli, M., Proietti, S., Capaldi, G., Savatin, D. V., Bigini, V., Longa, C. M. O., Basaglia, M., Favaro, L., Casella, S., Fongaro, B., Polverino de Laureto, P., & Caruso, C. (2022). Biodiversity and Bioprospecting of Fungal Endophytes from the Antarctic Plant *Colobanthus quitensis*. *Journal of fungi* (Basel, Switzerland), 8(9), 979. <https://doi.org/10.3390/jof8090979>
- Bhusal, S., Bhattarai, U., & Karkee, M. (2019). Improving pest bird detection in a vineyard environment using super-resolution and deep learning. *IFAC-PapersOnLine*, 52(30), 18-23.
- Blanco CA, Pellegaud G, Nava-Camberos, U, Lugo-Barrera D, Vega-Aquino P, Coello J, Terán-Vargas AP and Vargas-Camplis J (2014) Maize Pests in Mexico and Challenges for the Adoption of Integrated Pest Management Programs. *J. Integ. Pest Mngmt.* 5(4): 2014
- Bornowski, N., Michel, K. J., Hamilton, J. P., Ou, S., Seetharam, A. S., Jenkins, J., ... & Buell, C. R. (2021). Genomic variation within the maize stiff-stalk heterotic germplasm pool. *The plant genome*, 14(3), e20114.
- Botías, C., & Sánchez-Bayo, F. (2018). Papel de los plaguicidas en la pérdida de polinizadores. *Ecosistemas*, 27(2), 34-41.
- Buckler 4th, E. S., & Holtsford, T. P. (1996). *Zea* ribosomal repeat evolution and substitution patterns. *Molecular Biology and Evolution*, 13(4), 623-632.

Card, S., Johnson, L., Teasdale, S., & Caradus, J. (2016). Deciphering endophyte behaviour: the link between endophyte biology and efficacious biological control agents. *FEMS microbiology ecology*, 92(8).

Castillo, A. M., Alavez, V., Castro-Porras, L., Martínez, Y., & Cerritos, R. (2020). Analysis of the Current Agricultural Production System, Environmental, and Health Indicators: Necessary the Rediscovering of the Pre-hispanic Mesoamerican Diet?. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 4, 5.

Cervantes Mayagoitia JF (2011) Guía de los ácaros e insectos herbívoros de México. Volumen 1 Ácaros e insectos rizófagos de importancia agrícola y forestal. Serie Académicos CBS Xochimilco, Núm. 101.

Chavéz-Díaz, I. F., Cruz-Cárdenas, C. I., Sandoval-Cancino, G., Calvillo-Aguilar, F. F., Ruíz-Ramírez, S., Blanco-Camarillo, M., ... & Zelaya-Molina, L. X. (2022). Seedling growth promotion and potential biocontrol against phytopathogenic *Fusarium* by native rhizospheric *Pseudomonas* ssp. strains from Amarillo Zamorano maize landrace. *Rhizosphere*, 24, 100601.

Chutulo, E. C., & Chalannavar, R. K. (2020). *Daldinia eschscholtzii*: an endophytic fungus isolated from *Psidium guajava* as an alternative source of bioactive secondary metabolites. *Asian J Mycol*, 3, 376-98.

Clay, K., & Schardl, C. (2002). Evolutionary origins and ecological consequences of endophyte symbiosis with grasses. *the american naturalist*, 160(S4), S99-S127.

CONABIO. (2022). La Milpa. Recuperado de <http://www.biodiversidad.gob.mx/usuarios/alimentacion/milpa.html>

De la Vega-Camarillo, D., Sotelo-Aguilar, J., Rios-Galicia, B., Mercado-Flores, Y., Arteaga-Garibay, R., Villa-Tanaca, L., & Hernández-Rodríguez, C. (2023). Promotion of the growth and yield of *Zea mays* by synthetic microbial communities from Jala maize. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1167839.

de Lange, E. S., Balmer, D., Mauch-Mani, B., & Turlings, T. C. (2014). Insect and pathogen attack and resistance in maize and its wild ancestors, the teosintes.

Degani, O., Regev, D., & Dor, S. (2021). The microflora of maize grains as a biological barrier against the late wilt causal agent, *Magnaportheiopsis maydis*. *Agronomy*, 11(5), 965.

- Delgado, B. P., Ortega, J. A., Martínez, D. Y., & Coca, B. M. (2021). Los hongos endófitos y sus aplicaciones potenciales en la agricultura. *Revista de Protección Vegetal*, 36(3).
- Deutsch, Y., Gur, L., Berman Frank, I., & Ezra, D. (2021). Endophytes from algae, a potential source for new biologically active metabolites for disease management in aquaculture. *Frontiers in Marine Science*, 8, 636636.
- Doebley, J., & Lukens, L. (1998). Transcriptional regulators and the evolution of plant form. *The Plant Cell*, 10(7), 1075-1082.
- Doebley, J., Goodman, M. M., & Stuber, C. W. (1987). Patterns of isozyme variation between maize and Mexican annual teosinte. *Economic Botany*, 41, 234-246.
- Doebley, J., Renfroe, W., & Blanton, A. (1987). Restriction site variation in the *Zea* chloroplast genome. *Genetics*, 117(1), 139-147.
- Doebley, J., Renfroe, W., & Blanton, A. (1987). Restriction site variation in the *Zea* chloroplast genome. *Genetics*, 117(1), 139-147.
- Doebley, J., Stec, A., & Gustus, C. (1995). teosinte branched1 and the origin of maize: evidence for epistasis and the evolution of dominance. *Genetics*, 141(1), 333-346.
- Dominguez, G. M., Cruz, J. L. I., & Villegas, J. (2022). Growth of *Zea mays* with endophytes of *Zea mays* ssp mexicana (teocinte). *Horticult Int J*, 6(2), 84-87.
- Dorweiler, J., Stec, A., Kermicle, J., & Doebley, J. (1993). Teosinte glume architecture 1: a genetic locus controlling a key step in maize evolution. *Science*, 262(5131), 233-235.
- Dubey, A., Malla, M. A., Kumar, A., Dayanandan, S., & Khan, M. L. (2020). Plants endophytes: unveiling hidden agenda for bioprospecting toward sustainable agriculture. *Critical reviews in biotechnology*, 40(8), 1210-1231.
- Ek-Ramos MJ, Zhou W, Valencia CU, Antwi JB, Kalns LL, Morgan GD, Kerns DL and Sword GA (2013) Spatial and temporal variation in fungal endophyte communities isolated from cultivated cotton (*Gossypium hirsutum*). *PLoS ONE* 8(6): e66049. doi:10.1371/journal.pone.0066049.
- Ek-Ramos, M. J., Zhou, W., Valencia, C. U., Antwi, J. B., Kalns, L. L., Morgan, G. D., ... & Sword, G. A. (2013). Spatial and temporal variation in fungal endophyte communities isolated from cultivated cotton (*Gossypium hirsutum*). *PLoS One*, 8(6), e66049.

- EL-Lebody, K., Soliman, M. S., EL-Metwally, E. M., Abd-Elaziz, M., & Moustafa, H. Z. (2021). Isolation and pathogenicity of endophytic fungi associated with some maize hybrids against certain Lepidoptera pests. *Egyptian Journal of Agricultural Research*, 99(1), 49-60.
- EL-Lebody, K., Soliman, M. S., EL-Metwally, E. M., Abd-Elaziz, M., & Moustafa, H. Z. (2021). Isolation and pathogenicity of endophytic fungi associated with some maize hybrids against certain Lepidoptera pests. *Egyptian Journal of Agricultural Research*, 99(1), 49-60.
- Elshahawy, I. E., & Khattab, A. E. N. A. (2022). Endophyte *Chaetomium globosum* improves the growth of maize plants and induces their resistance to late wilt disease. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 129(5), 1125-1144.
- Erfandoust, R., Habibipour, R., & Soltani, J. (2020). Antifungal activity of endophytic fungi from Cupressaceae against human pathogenic *Aspergillus fumigatus* and *Aspergillus niger*. *Journal de Mycologie Médicale*, 30(3), 100987.
- Fleites, C. R. L. (2011). Generalidades del Cultivo del Maíz.
- Fornoni, J. (2011). Ecological and evolutionary implications of plant tolerance to herbivory. *Functional Ecology*, 25(2), 399-407.
- Frew, A., Antunes, P. M., Cameron, D. D., Hartley, S. E., Johnson, S. N., Rillig, M. C., & Bennett, A. E. (2022). Plant herbivore protection by arbuscular mycorrhizas: a role for fungal diversity?. *New Phytologist*, 233(3), 1022-1031.
- Frison EA, Cherfas J, Hodgkin T. (2011) Agricultural biodiversity is essential for a sustainable improvement in food and nutrition security. *Sustainability* 3(1):238–253
- García, J. E. (1997). Consecuencias indeseables del uso de los plaguicidas en el ambiente. *Agronomy Mesoamerican*, 119-135.
- Gundel, P. E., Sun, P., Charlton, N. D., Young, C. A., Miller, T. E., & Rudgers, J. A. (2020). Simulated folivory increases vertical transmission of fungal endophytes that deter herbivores and alter tolerance to herbivory in *Poa autumnalis*. *Annals of Botany*, 125(6), 981-991.
- Heimpel, G. E., & Mills, N. J. (2017). *Biological control*. Cambridge University Press.
- Herlinda, S., Suharjo, R., Sinaga, M. E., Fawwazi, F., & Suwandi, S. (2022). First report of occurrence of corn and rice strains of fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* in South Sumatra,



Indonesia and its damage in maize. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 21(6), 412-419.

Hu, S., Mojahid, M. S., & Bidochka, M. J. (2023). Root colonization of industrial hemp (*Cannabis sativa* L.) by the endophytic fungi *Metarhizium* and *Pochonia* improves growth. *Industrial Crops and Products*, 198, 116716.

Hyde, K. D., Xu, J., Rapior, S., Jeewon, R., Lumyong, S., Niego, A. G. T., ... & Stadler, M. (2019). The amazing potential of fungi: 50 ways we can exploit fungi industrially. *Fungal Diversity*, 97(1), 1-136.

Irizarry, I., & White, J. F. (2017). Application of bacteria from non-cultivated plants to promote growth, alter root architecture and alleviate salt stress of cotton. *Journal of Applied Microbiology*, 122(4), 1110-1120.

Jaber, L. R., & Ownley, B. H. (2018). Can we use entomopathogenic fungi as endophytes for dual biological control of insect pests and plant pathogens? *Biological Control*, 116, 36-45. doi:10.1016/j.biocontrol.2017.01.018.

Jin, L., Yang, L., Li, W., Xu, D., Yang, N., Li, G., & Wan, P. (2021). Diversity and Biocontrol Potential of Culturable Endophytic Fungi in Cotton. *Frontiers in Microbiology*, 12, 698930.

Johnston-Monje D and Raizada MN (2011) Conservation and Diversity of Seed Associated Endophytes in *Zea* across Boundaries of Evolution, Ethnography and Ecology. *PLoS ONE* 6(6): e20396. doi:10.1371/journal.pone.0020396

Johnston-Monje, D., Lundberg, D. S., Lazarovits, G., Reis, V. M., & Raizada, M. N. (2016). Bacterial populations in juvenile maize rhizospheres originate from both seed and soil. *Plant and Soil*, 405, 337-355.

Kato, Y. (1984). Chromosome morphology and the origin of maize and its races. *Evolutionary biology*, 17, 219-253.

Khan, M. S. A., & Ahmad, I. (2011). Antifungal activity of essential oils and their synergy with fluconazole against drug-resistant strains of *Aspergillus fumigatus* and *Trichophyton rubrum*. *Applied microbiology and biotechnology*, 90, 1083-1094.

Kuzhuppillymyal-Prabhakarankutty, L., Ferrara-Rivero, F. H., Tamez-Guerra, P., Gomez-Flores, R., Rodríguez-Padilla, M. C., & Ek-Ramos, M. J. (2021). Effect of *Beauveria bassiana*-seed treatment on *Zea mays* L. response against *Spodoptera frugiperda*. *Applied Sciences*, 11(7), 2887.

- Larraín Pelen, L. F. (2020). Identificación de hongos endófitos de raíz aislados de especies Solanáceas del desierto de Atacama y evaluación de su efecto en la promoción del crecimiento y la tolerancia a estrés salino en tomate (*Solanum lycopersicum* cv. Moneymaker).
- Larraín, J., Alarcón, D., Ardiles, V., & Atala, C. (2019). Hidden in plain sight: how overlooking ephemeral bryophytes can bias biodiversity assessments and conservation actions. *The Bryologist*, 122(2), 260-270.
- Le Cocq, K., Gurr, S. J., Hirsch, P. R., & Mauchline, T. H. (2017). Exploitation of endophytes for sustainable agricultural intensification. *Molecular Plant Pathology*, 18(3), 469-473.
- Lehnert, M., Krug, M., & Kessler, M. (2017). A review of symbiotic fungal endophytes in lycophytes and ferns—a global phylogenetic and ecological perspective. *Symbiosis*, 71, 77-89.
- Liarzi, O., Bucki, P., Braun Miyara, S., & Ezra, D. (2016). Bioactive volatiles from an endophytic *Daldinia* cf. *concentrica* isolate affect the viability of the plant parasitic nematode *Meloidogyne javanica*. *PloS one*, 11(12), e0168437.
- Liu, X., Li, R., & Zhou, X. (2023). Structurally diverse indole alkaloids with cytotoxicity from *Lonicera Japonica*-associated endophytic fungus *Penicillium ochrochloron* YT2022-65. *Natural Product Research*, 1-5.
- Londoño-Hernández, L., Ramírez-Toro, C., Ruiz, H. A., Ascacio-Valdés, J. A., Aguilar-Gonzalez, M. A., Rodríguez-Herrera, R., & Aguilar, C. N. (2017). *Rhizopus oryzae*—Ancient microbial resource with importance in modern food industry. *International journal of food microbiology*, 257, 110-127.
- Lopez, D. C., & Sword, G. A. (2015). The endophytic fungal entomopathogens *Beauveria bassiana* and *Purpureocillium lilacinum* enhance the growth of cultivated cotton (*Gossypium hirsutum*) and negatively affect survival of the cotton bollworm (*Helicoverpa zea*). *Biological Control*, 89, 53-60.
- Loro, M., Valero-Jiménez, C. A., Nozawa, S., & Márquez, L. M. (2012). Diversity and composition of fungal endophytes in semiarid Northwest Venezuela. *Journal of Arid Environments*, 85, 46-55.
- Loro, M., Valero-Jiménez, C. A., Nozawa, S., & Márquez, L. M. (2012). Diversity and composition of fungal endophytes in semiarid Northwest Venezuela. *Journal of Arid Environments*, 85, 46-55.

- Lugtenberg, B. J., Caradus, J. R., & Johnson, L. J. (2016). Fungal endophytes for sustainable crop production. *FEMS microbiology ecology*, 92(12).
- Maag, D., Erb, M., Bernal, J. S., Wolfender, J. L., Turlings, T. C., & Glauser, G. (2015). Maize domestication and anti-herbivore defences: leaf-specific dynamics during early ontogeny of maize and its wild ancestors. *PloS one*, 10(8), e0135722.
- Malinowski, D. P., & Belesky, D. P. (2019). Epichloë (formerly Neotyphodium) fungal endophytes increase adaptation of cool-season perennial grasses to environmental stresses. *Acta Agrobotanica*, 72(2).
- Manganyi, M. C., & Ateba, C. N. (2020). Untapped potentials of endophytic fungi: A review of novel bioactive compounds with biological applications. *Microorganisms*, 8(12), 1934.
- Martin-Culma, N. Y., & Arenas-Suárez, N. E. (2018). Daño colateral en abejas por la exposición a pesticidas de uso agrícola. *Entramado*, 14(1), 232-240.
- Mastretta-Yanes, A., Bellon, M. R., Acevedo, F., Burgeff, C., Piñero, D., & Sarukhán, J. (2019). Un programa para México de conservación y uso de la diversidad genética de las plantas domesticadas y sus parientes silvestres. *Revista fitotecnia mexicana*, 42(4), 321-334.
- Matsuoka, T., Okamoto, H., Nakao, M., Harima, H., & Kurimoto, E. (2002). Optical bandgap energy of wurtzite InN. *Applied Physics Letters*, 81(7), 1246-1248.
- Melo, I. S., Santos, S. N., Rosa, L. H., Parma, M. M., Silva, L. J., Queiroz, S. C., & Pellizari, V. H. (2014). Isolation and biological activities of an endophytic *Mortierella alpina* strain from the Antarctic moss *Schistidium antarctici*. *Extremophiles*, 18, 15-23.
- Mili, C., Roy, S., & Tayung, K. (2021). Endophytic fungi of wild and domesticated crop plants and their prospect for applications in sustainable agriculture. *Endophytes: Potential Source of Compounds of Commercial and Therapeutic Applications*, 21-35.
- Mousa, W. K., Shearer, C. R., Limay-Rios, V., Zhou, T., & Raizada, M. N. (2015). Bacterial endophytes from wild maize suppress *Fusarium graminearum* in modern maize and inhibit mycotoxin accumulation. *Frontiers in plant science*, 6, 805.
- Nannas, N. J., & Dawe, R. K. (2015). Genetic and genomic toolbox of *Zea mays*. *Genetics*, 199(3), 655-669.

- Nehra, V., Saharan, B. S., & Choudhary, M. (2016). Evaluation of *Brevibacillus brevis* as a potential plant growth promoting rhizobacteria for cotton (*Gossypium hirsutum*) crop. *Springerplus*, 5(1), 1-10.
- Nijhout, H. F., & Callier, V. (2015). Developmental mechanisms of body size and wing-body scaling in insects. *Annual Review of Entomology*, 60, 141-156.
- Niu, Y., Meagher, R. L., Yang, F., & Huang, F. (2013). Susceptibility of field populations of the fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) from Florida and Puerto Rico to purified Cry1F protein and corn leaf tissue containing single and pyramided Bt genes. *Florida Entomologist*, 96(3), 701-713.
- Ostos-Ortíz, O. L., Rosas-Arango, S. M., & González-Devia, J. L. (2019). Aplicaciones biotecnológicas de los microorganismos. *Nova*, 17(31), 129-163.
- Ownley, B. H., Gwinn, K. D., & Vega, F. E. (2010). Endophytic fungal entomopathogens with activity against plant pathogens: ecology and evolution. *BioControl*, 55, 113-128.
- Partida-Martínez, L. P., & Heil, M. (2011). The microbe-free plant: fact or artifact?. *Frontiers in plant science*, 2, 100.
- Rodríguez, C. E., Mitter, B., Barret, M., Sessitsch, A., & Compant, S. (2018). Commentary: seed bacterial inhabitants and their routes of colonization. *Plant and soil*, 422(1), 129-134.
- Rodriguez, R. J., White Jr, J. F., Arnold, A. E., & Redman, A. R. A. (2009). Fungal endophytes: diversity and functional roles. *New phytologist*, 182(2), 314-330.
- Rodríguez-Mendoza, C. A., Hernández, L. R., Pérez-Armendáriz, B., & Juárez, Z. N. (2022). Endophytes from the Cactaceae family and its application. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 24(1).
- Rohlf, M., & Churchill, A. C. L. (2011). Fungal secondary metabolites as modulators of interactions with insects and other arthropods. *Fungal Genetics and Biology*, 48(1), 23-34. doi:10.1016/J.FGB.2010.08.008
- Russo, M. L., Scorsetti, A. C., Vianna, M. F., Cabello, M., Ferreri, N., & Pelizza, S. (2019). Endophytic effects of *Beauveria bassiana* on corn (*Zea mays*) and its herbivore, *Rachiplusia nu* (Lepidoptera: Noctuidae). *Insects*, 10(4), 110.
- Saikkonen, K. (2007). Forest structure and fungal endophytes. *Fungal biology reviews*, 21(2-3), 67-74.

Sánchez, B. R., Santoyo, G., Valerio, P. D., & Granados, M. D. C. R. (2022). *Bacillus* spp. Endófitos promueven diferencialmente el crecimiento de tres variedades de zarzamora (*rubus* subgénero *eubatus*). *Bioagro*, 34(2), 99-110.

Sánchez, G. J. J. (2011). Diversidad del Maíz y el Teocintle. *Informe preparado para el proyecto: "Recopilación, generación, actualización y análisis de información acerca de la diversidad genética de maíces y sus parientes silvestres en México"*. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Manuscrito, 2.

Sánchez, G. J. J. (2011). Recopilación, generación, actualización y análisis de información acerca de la diversidad genética de maíces y sus parientes silvestres en México. Ciudad de México: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad.

Sánchez, J. J., & Ruiz, C. J. A. (1996). Distribución del teocintle en México. *Flujo genético entre maíz criollo, maíz mejorado y teocintle: implicaciones para el maíz transgénico*. CIMMYT. México, DF, 20-38.

Sánchez-Fernández, R. E., Sánchez-Ortiz, B. L., Sandoval-Espinosa, Y. K. M., Ulloa-Benítez, Á., Armendáriz-Guillén, B., García-Méndez, M. C., & Macías-Rubalcava, M. L. (2013). Hongos endófitos: fuente potencial de metabolitos secundarios bioactivos con utilidad en agricultura y medicina. *TIP Revista especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 16(2), 132-146.

Sánchez-Rodríguez, A. R., Raya-Díaz, S., Zamarreño, Á. M., García-Mina, J. M., del Campillo, M. C., & Quesada-Moraga, E. (2018). An endophytic *Beauveria bassiana* strain increases spike production in bread and durum wheat plants and effectively controls cotton leafworm (*Spodoptera littoralis*) larvae. *Biological Control*, 116, 90-102.

Santhanam, R., Baldwin, I. T., & Groten, K. (2015). In wild tobacco, *Nicotiana attenuata*, variation among bacterial communities of isogenic plants is mainly shaped by the local soil microbiota independently of the plants' capacity to produce jasmonic acid. *Communicative & integrative biology*, 8(2), e1017160.

Santoyo, G., Moreno-Hagelsieb, G., del Carmen Orozco-Mosqueda, M., & Glick, B. R. (2016). Plant growth-promoting bacterial endophytes. *Microbiological research*, 183, 92-99.

Schnable, P. S., Ware, D., Fulton, R. S., Stein, J. C., Wei, F., Pasternak, S., ... & Presting, G. G. (2009). The B73 maize genome: complexity, diversity, and dynamics. *science*, 326(5956), 1112-1115.

Segaran, G., Sundar, R. D. V., Settu, S., Shankar, S., & Sathiavelu, M. (2017). A review on endophytic actinomycetes and their applications. *J Chem Pharm Res*, 9(10), 152-158.

SENASICA (2021). Ficha técnica. Gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). Dirección General de Sanidad Vegetal-Programa de Vigilancia Epidemiológica Fitosanitaria. Cd. de México. Última actualización: Noviembre, 2023. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA), SAGARPA.

Seyi-Amole, D. O., & Onilude, A. A. (2021). Microbiological Control: A New Age of Maize Production. *Cereal Grains: Volume 2*, 211.

Shahzad, R., Khan, A. L., Bilal, S., Asaf, S., & Lee, I. J. (2018). What is there in seeds? Vertically transmitted endophytic resources for sustainable improvement in plant growth. *Frontiers in Plant Science*, 9, 24.

Siddhartha, K., Chinniah, C., & Shanthi, M. (2019). In vitro bioassay of certain botanical oils for their efficacy against maize fall armyworm (JE Smith) *Spodoptera frugiperda* (Noctuidae: Lepidoptera). *J. Entomol. Zool. Stud*, 7, 606-609.

Sieber, T. N. (2007). Endophytic fungi in forest trees: are they mutualists?. *Fungal biology reviews*, 21(2-3), 75-89.

Sisay, B., Simiyu, J., Mendesil, E., Likhayo, P., Ayalew, G., Mohamed, S., ... & Tefera, T. (2019). Fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* infestations in East Africa: Assessment of damage and parasitism. *Insects*, 10(7), 195.

Stojaković, M., Bekavac, G., & Vasić, N. (2005). B73 and related inbred lines in maize breeding. *Genetika-Belgrade*, 37(3), 245-252.

Suman A, Yadav AN, Verma P. (2016) Endophytic microbes in crops: diversity and beneficial impact for sustainable agriculture. In: *Microbial inoculants in sustainable agricultural productivity*. Springer, New Delhi, pp 117–143

Sword, G. A., Tessnow, A., & Ek-Ramos, M. J. (2017). Endophytic fungi alter sucking bug responses to cotton reproductive structures. *Insect science*, 24(6), 1003-1014.

Tarafdar, J. C., & Gharu, A. (2006). Mobilization of organic and poorly soluble phosphates by *Chaetomium globosum*. *Applied Soil Ecology*, 32(3), 273-283.

- Thakur, A., Kaur, S., Kaur, A., & Singh, V. (2013). Enhanced resistance to *Spodoptera litura* in endophyte infected cauliflower plants. *Environmental Entomology*, 42(2), 240-246.
- Tian, F., Stevens, N. M., & Buckler IV, E. S. (2009). Tracking footprints of maize domestication and evidence for a massive selective sweep on chromosome 10. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(supplement\_1), 9979-9986.
- Tian, Y., Fu, X., Zhang, G., Zhang, R., Kang, Z., Gao, K., & Mendgen, K. (2022). Mechanisms in growth-promoting of cucumber by the endophytic fungus *Chaetomium globosum* strain ND35. *Journal of Fungi*, 8(2), 180.
- Tidke SA, Rakesh Kumar KL, Ramakrishna D, Kiran S, Kosturkova G, Gokare RA. (2017) Current understanding of endophytes: their relevance, importance, and industrial potentials. *J Biotechnol Biochem* 3(3):43–59
- Trivedi, P., Leach, J. E., Tringe, S. G., Sa, T., & Singh, B. K. (2020). Plant–microbiome interactions: from community assembly to plant health. *Nature reviews microbiology*, 18(11), 607-621.
- Vega F. E. (2008). Insect pathology and fungal endophytes. *Journal of invertebrate pathology*, 98(3), 277–279. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2008.01.008>
- Vega, F. E. (2018). The use of fungal entomopathogens as endophytes in biological control: a review. *Mycologia*, 110(1), 4-30.
- Vega, Fernando E. "Insect pathology and fungal endophytes." *Journal of invertebrate pathology* 98.3 (2008): 277-279.
- Verma SK, Kingsley K, Irizarry I, Bergen M, Kharwar RN, White JF (2017) Seed vectored endophytic bacteria modulate development of rice seedlings. *J Appl Microbiol* 22:1680–1691
- Verma, S. K., Kharwar, R. N., & White, J. F. (2019). The role of seed-vectored endophytes in seedling development and establishment. *Symbiosis*, 78(2), 107-113.
- Vianna, F., Pelizza, S., Russo, L., Allegrucci, N., & Scorsetti, A. (2018). Endophytic *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales) alters *Helicoverpa gelotopoeons* (D.)(Lepidoptera: Noctuidae) life cycle and reproductive parameters. *Journal of Plant Protection Research*, 321-327.

Vilich, V., Dolfen, M., & Sikora, R. A. (1998). Chaetomium spp. colonization of barley following seed treatment and its effect on plant growth and Erysiphe graminis f. sp. hordei disease severity/Chaetomium spp. Besiedlung von Gerste nach Samenbehandlung und deren Einfluß auf das Pflanzenwachstum und die Befallsstärke von nachfolgend inokuliertem Mehltau (Erysiphe graminis f. sp. hordei). *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz/Journal of Plant Diseases and Protection*, 130-139.

Walbot V (2009) 10 Reasons to be Tantalized by the B73 Maize Genome. *PLoS Genet* 5(11): e1000723. doi:10.1371/journal.pgen.1000723

Wang, L., Lin, H., Dong, Y., Li, B., & He, Y. (2020). Effects of endophytes inoculation on rhizosphere and endosphere microecology of Indian mustard (*Brassica juncea*) grown in vanadium-contaminated soil and its enhancement on phytoremediation. *Chemosphere*, 240, 124891.

Wellhausen, E. J. (1951). *Razas de maíz en México; origen, características y distribución* (No. 04; SB191. M2, W45.).

Wen, J., Okyere, S. K., Wang, S., Wang, J., Xie, L., Ran, Y., & Hu, Y. (2022). Endophytic fungi: an effective alternative source of plant-derived bioactive compounds for pharmacological studies. *Journal of Fungi*, 8(2), 205.

White, J. F., Kingsley, K. L., Zhang, Q., Verma, R., Obi, N., Dvinskikh, S., ... & Kowalski, K. P. (2019). Endophytic microbes and their potential applications in crop management. *Pest management science*, 75(10), 2558-2565.

Wildner, L. D. P., & Veiga, M. D. (1992). Relación entre erosión y pérdida de fertilidad del suelo. *Taller sobre la Utilización de un Sistema de Información Geográfica (SIG) en la Evaluación de la Erosión Actual de Suelos y la Predicción del Riesgo de Erosión Potencial, Santiago (Chile) 27 Jul-1 Ago 1992*.

Wu, W., Chen, W., Liu, S., Wu, J., Zhu, Y., Qin, L., & Zhu, B. (2021). Beneficial relationships between endophytic bacteria and medicinal plants. *Frontiers in plant science*, 12, 646146.

Xia, Y., Liu, J., Chen, C., Mo, X., Tan, Q., He, Y., ... & Zhou, G. (2022). The Multifunctions and Future Prospects of Endophytes and Their Metabolites in Plant Disease Management. *Microorganisms*, 10(5), 1072.



Xing, X. K., Chen, J., Xu, M. J., Lin, W. H., & Guo, S. X. (2011). Fungal endophytes associated with *Sonneratia* (Sonneratiaceae) mangrove plants on the south coast of China. *Forest Pathology*, 41(4), 334-340.

Xing, X., & Guo, S. (2011). Fungal endophyte communities in four Rhizophoraceae mangrove species on the south coast of China. *Ecological research*, 26, 403-409.

Zahid, M., Abbasi, M. K., Hameed, S. & Rahim, N. (2015). Isolation and identification of indigenous plant growth promoting rhizobacteria from Himalayan region of Kashmir and their effect on improving growth and nutrient contents of maize (*Zea mays* L.). *Front Microbiol*, 6, 207. doi:10.3389/fmicb.2015.00207.

Zhou, W., Starr, J. L., Krumm, J. L., & Sword, G. A. (2016). The fungal endophyte *Chaetomium globosum* negatively affects both above-and belowground herbivores in cotton. *FEMS microbiology ecology*, 92(10), fiw158.

Zikankuba, V. L., Mwanyika, G., Ntwenya, J. E., & James, A. (2019). Pesticide regulations and their malpractice implications on food and environment safety. *Cogent Food & Agriculture*, 5(1), 1601544.