

HONGOS ENDÓFITOS TROPICALES: CONOCIMIENTO ACTUAL Y PERSPECTIVAS

Tropical Endophytic Fungi: Current Knowledge and Perspectives

MIGUEL A. GAMBOA-GAITÁN, M.Sc.

Departamento de Biología, Facultad de Ciencias,
Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá, AA 14490,
Bogotá, Colombia. magamboaga@unal.edu.co

Presentado 29 de septiembre de 2005, aceptado 4 de agosto de 2006, correcciones 24 de octubre de 2006.

RESUMEN

Los organismos endófitos, particularmente los hongos, han recibido una creciente atención en los años recientes. Este grupo de microorganismos vive asintóticamente dentro de tejidos vegetales sanos, y ha mostrado poseer un gran potencial económico en áreas como la agronomía y la medicina. También se han usado como grupo modelo para estudiar aspectos teóricos de la ecología de comunidades y de la interacción planta microorganismo. En la presente revisión se ha recopilado la literatura existente acerca de los hongos endófitos tropicales, y se analiza comparativamente con algunos trabajos de zonas templadas. Se discuten algunos de los aspectos más relevantes y promisorios en este sistema simbiótico y se hacen recomendaciones acerca de tópicos particulares hacia los que debe dirigirse la investigación en este campo.

Palabras clave: hongos endófitos, simbiosis, trópico.

ABSTRACT

Endophytic microorganisms are symptomless inhabitants of plant tissues. This group is receiving a growing attention due to its potential in fields as varied as agronomy and medicine. Some more basic aspects of science, such as ecology of communities and plant-microbe interactions have also been studied in this group. This review emphasizes on current literature about tropical endophytes and work in this theme is compared with those developed in temperate zones when appropriate. The most important ecological aspects of this system are discussed, and recommendations about the future directions of research in this field are done, especially those related to the use of endophytes as a model group in modern biology.

Key words: Endophytic fungi, endophytes, symbiosis, tropics.

INTRODUCCIÓN

El término endófito se conoce desde el siglo XIX y se usó inicialmente para agrupar aquellos organismos fúngicos que viven dentro de las plantas (Léveillé, 1846; de Bary,

1866), pero el significado de este término ha variado acorde con el avance del conocimiento en este campo (Wilson, 1995). En la actualidad existe algún grado de consenso en aceptar a los endófitos como organismos que viven asintóticamente dentro de tejidos aéreos vegetales vivos (Carroll, 1986), e incluso en raíces pero excluyendo los hongos productores de micorrizas (Saikkonen *et al.*, 1998). Sin embargo, el término puede cobijar tanto hongos saprófitos como hongos patógenos latentes (Petrini, 1991). Estos últimos pueden producir síntomas sobre su hospedero cuando el tejido en el que habitan se debilita o empieza a morir.

Recientemente, Wilson (1995) presenta a los organismos endófitos como hongos o bacterias que durante parte o todo su ciclo de vida invaden tejidos vegetales vivos y causan infecciones asintomáticas completamente dentro del tejido vegetal. Dado que algunas asociaciones micorríticas deforman la raíz, permitiendo detectar los síntomas de su infección, ellas quedan excluidas en esta definición. Es claro entonces que los organismos endófitos no son solamente hongos ya que también existen bacterias endófitas (Wilson, 1995; revisado por Chanway, 1996), pero el término podría extenderse para incluir grupos tales como protistas e invertebrados que viven dentro del cuerpo vegetal, siempre y cuando sean asintomáticos. En la actualidad la mayoría de los estudios están dirigidos principalmente a los endosimbiontes fúngicos.

Los hongos endófitos forman con sus hospederos relaciones simbióticas complejas, y en la actualidad existe un gran número de interrogantes acerca del funcionamiento de esta simbiosis. En primera instancia se desea saber qué beneficio recibe cada uno de los participantes por estar involucrado en esta relación simbiótica. En los trópicos no hay ningún ejemplo comprobado de mutualismo entre endófitos y sus hospederos, pero se cree que sí hay casos. Existe un grupo de hongos endófitos en pastos de las zonas templadas que les proveen protección contra herbivoría y depredación de semillas mediante producción de toxinas. A cambio reciben alimento, un lugar donde vivir y, en algunos casos, dispersión a través de la semilla de su hospedero (Johnson *et al.*, 1985; Clay, 1988; Knoch *et al.*, 1993). Este mutualismo se discute en detalle más adelante. El presente ensayo está dirigido a revisar el conocimiento actual sobre los hongos endófitos tropicales y a destacar su posible papel como grupo modelo en diferentes campos de la investigación científica. Ante la escasez de estudios tropicales, es necesario recurrir a algunos trabajos de la zona templada como punto de referencia, para hacer una predicción acerca del rumbo que tomará este campo en los próximos años. Se dividirá el texto en: 1) estudios de diversidad y distribución de endófitos, 2) naturaleza de la interacción de los endófitos con sus hospederos, y 3) endófitos como modelo de investigación: potencial y perspectivas.

DIVERSIDAD Y DISTRIBUCIÓN DE LOS HONGOS ENDÓFITOS TROPICALES

Especificidad. Hay evidencia de la existencia de la simbiosis planta hongo endófito desde hace varias decenas de millones de años (Carroll, 1995). Es probable que durante la evolución biológica esta asociación se haya originado muchas veces independientemente, tanto en los trópicos como en las zonas templadas. Considerando las diferencias climáticas y biológicas entre estas regiones, es viable pensar que las

tendencias de esta simbiosis sean diferentes en cada uno de estos escenarios. Los pocos trabajos realizados en este campo en los trópicos muestran algún tipo de evidencia respaldando el postulado anterior. Se ha visto que la composición de especies endófitas es muy diferente entre la zona templada y el trópico (Rodrigues y Petrini, 1997). Por ejemplo, uno de los taxones endófitos más comunes en los trópicos es la familia *Xylariaceae*, grupo que también es común en las zonas templadas pero como descomponedores de madera y no como endófitos (Rodrigues y Samuels, 1990; Rodrigues, 1994; Petrini *et al.*, 1995). También parece que la especificidad de hospedero es menor en las zonas tropicales que en las templadas, aunque los datos son muy escasos y fraccionarios aún. En un estudio realizado con dos árboles tropicales, Bayman *et al.* (1998) no encontraron especificidad de los hongos por el hospedero. Una posible explicación para este fenómeno es la gran cantidad de especies de plantas y la baja frecuencia y gran espaciamento que existe entre los individuos de una misma especie en los bosques tropicales (Lodge *et al.*, 1996). En este escenario una alta especificidad entre los miembros de la simbiosis no parece viable, pues la probabilidad de encuentro entre ellos sería baja (May, 1990; Hammond, 1992; Lodge y Cantrell, 1995). Cabe mencionar, sin embargo, que en el trópico podrían existir casos de especificidad entre hongos endosimbiontes y su hospedero natural. Se destaca el reporte de algunos géneros de *Coelomycetes* en Ecuador que parecen tener especificidad por su hospedero nativo (Fisher *et al.*, 1995). También se ha postulado a *Phomopsis casuarinae* como específico de *Casuarina* (Bose, 1947), aunque este reporte puede ser erróneo ya que se basa en observaciones de hifas *in vivo* y no en aislamientos en el laboratorio (Bayman *et al.*, 1998).

Un fenómeno que aparece registrado tanto para zonas tropicales como templadas, es el de la especificidad de endosimbiontes por tejidos vegetales particulares. Esto ha sido postulado para hongos xilariáceos en tejidos vegetales aéreos de árboles tropicales (Laessøe y Lodge, 1994; Lodge *et al.*, 1996), aunque en algunos casos la infección aparentemente solo se verifica luego de la caída del órgano al suelo. En un estudio con el árbol tropical *Gynoxis oleifolia* (*Asteraceae*), se observó que algunas especies de endófitos eran exclusivas de la raíz, mientras que otras especies de hongos habitan la corteza y las hojas (Fisher *et al.*, 1995). Aunque en dicho estudio no se encontró preferencia del hongo por sectores específicos de la hoja, en estudios realizados con palmas tropicales se ha observado especificidad de algunos taxones endosimbiontes por tejidos foliares particulares (Rodrigues y Samuels, 1990; Rodrigues, 1994). De otro lado, esta preferencia de endosimbiontes por tejidos vegetales no es universal para las plantas tropicales; en Puerto Rico, en orquídeas epífitas del género *Lepanthes*, no se presentaron diferencias significativas entre los hongos endófitos de raíces y tallos (Bayman *et al.*, 1997).

Una consecuencia de la discriminación fúngica por los tejidos vegetales es que se evita el hacinamiento, ya que las comunidades de hongos endófitos de plantas tropicales se caracterizan por poseer una gran cantidad de especies e individuos y un patrón de distribución altamente agregado a una escala muy fina (Lodge *et al.*, 1996; Gamboa, 1998; Gamboa y Bayman, 2001). La especificidad de tejidos permitiría una mejor repartición del recurso disponible, disminuyendo así la competencia entre los endosimbiontes.

En realidad se sabe muy poco acerca de la distribución de los hongos endófitos en los tejidos de un mismo órgano. Por ejemplo, es posible encontrar diferentes especies en cada uno de los tejidos de una hoja: parénquima, haces vasculares, dermis, etc. Esta preferencia por tejidos vegetales también podría interpretarse como la capacidad de cada especie de usar ciertos sustratos específicos (Rodrigues, 1994). El uso diferencial de sustratos por parte de hongos endófitos ha sido comprobado, siendo tal repartición bioquímica de recursos una estrategia viable para poder coexistir en un mismo órgano (Carroll y Petrini, 1983).

Es poco lo que se puede concluir acerca de la especificidad del hospedero de los hongos endófitos tropicales. La mayoría de los postulados actuales no son más que especulaciones basadas en pocas observaciones. Un problema importante es el hecho que muchos hongos endófitos aislados no pueden ser identificados, bien sea porque no esporulan o no pueden ser indudablemente equiparados con especies descritas (Petrini *et al.*, 1995; Gamboa y Bayman, 2001). En taxones con amplios rangos de distribución y taxonomía compleja, tales como *Colletotrichum* y *Phomopsis*, puede existir numerosas cepas morfológicamente variables o incluso complejos de especies restringidas a un número variable de hospederos (Gamboa, 1998; Gamboa-Gaitán *et al.*, 2005a).

Los hongos endófitos en el ambiente tropical. Otro aspecto que podría ser determinante en la estructuración de las comunidades endófitas tropicales, es el de la heterogeneidad espacial de los bosques en dicha zona. Los bosques tropicales presentan una mayor complejidad estructural que otros ecosistemas, originando abundantes gradientes, microclimas y microhábitats tanto horizontal como verticalmente. Esta compleja arquitectura del bosque puede ser un factor importante para determinar y predecir la abundancia de organismos pequeños, tales como artrópodos y microorganismos (revisado por Lodge y Cantrell, 1995). Es común encontrar que las comunidades de hongos endófitos y epífitos varían con los estratos dentro del dosel, especialmente en la parte más alta. Varios trabajos sugieren que existen diferencias en la composición vertical de las comunidades de endófitos y epífitos en diferentes especies arbóreas del mismo bosque (Cowley, 1970; Lodge *et al.*, 1996; Gamboa, 1998). Concomitante con el aporte que la heterogeneidad espacial da a la diversidad de comunidades endófitas, se espera que también exista un efecto de los factores que propician cambios temporales, es decir, sucesionales en tales comunidades. Este es un aspecto que no se ha reportado en ninguna planta tropical hasta la fecha. Solo cambios temporales en otros gremios de hongos (tales como descomponedores y micorrizas), han sido reportados hasta el momento, siendo evidente su importancia en aspectos como el destino de los nutrientes en el ecosistema (revisado por Lodge y Cantrell, 1995).

Los taxones vegetales tropicales en los que se han estudiado los hongos endosimbiontes son palmas (Rodrigues, 1994; Rodrigues, 1996; Southcott y Johnson, 1997; Mariano *et al.*, 1997), orquídeas y otras epífitas (Bermudes y Benzing, 1989; Richardson *et al.*, 1993; Richardson y Currah, 1995; Bayman *et al.*, 1997; Otero *et al.*, 2002), *Sapotaceae* (Lodge *et al.*, 1996; Bayman *et al.*, 1998), *Fabaceae* (Pereira *et al.*, 1993),

Casuarinaceae (Bose, 1947; Bayman *et al.*, 1998), *Ochnaceae*, *Olacaceae* (Arnold *et al.*, 2000), *Asteraceae* (Fisher *et al.*, 1995), *Anacardiaceae* (Rodrigues y Samuels, 1999), *Meliaceae* (Lassøe y Lodge, 1994; Gamboa y Bayman, 2001), *Rubiaceae* (Santamaría y Bayman, 2005), *Magnoliaceae* y *Sterculiaceae* (Arnold y Lutzoni, 2003; Arnold *et al.*, 2003). Sin embargo, el número de especies vegetales estudiadas en cada familia es bajo, por lo que el trabajo que falta por hacer tan solo en el campo de catalogación e inventario de endosimbiontes tropicales es considerable (Tabla 1). Recientemente se ha intentado esclarecer el misterio de dónde se encuentra la inmensa cantidad de hongos que falta por describir, y se cree que muchos de ellos se encuentran asociados a plantas y líquenes tropicales (Hawksworth y Rossman, 1997).

Endófitos como grupo modelo. Los hongos endófitos podrían constituir un buen modelo para estudiar la ecología de comunidades microbianas. Varios estudios muestran que dichas comunidades presentan un patrón de agrupamiento a una escala muy fina, con gran cantidad de especies e individuos (Lodge *et al.*, 1996; Bayman *et al.*, 1998; Gamboa y Bayman, 2001). Se ha mostrado que las comunidades de hongos, incluidas las de endófitos, siguen una distribución log-normal (pocas especies abundantes y muchas especies raras; Polishook *et al.*, 1996; Lodge *et al.*, 1996; Gamboa, 1998) al igual que sucede con las comunidades de macroorganismos. Estas características, asociadas a lo relativamente fácil que es su muestreo y cultivo en el laboratorio, hacen de este grupo un buen modelo para estudios ecológicos y de biodiversidad, especialmente de microorganismos. La diversidad de organismos fúngicos es un componente muy importante para poder establecer un inventario biológico global. Actualmente existe muy buena evidencia a favor del importante papel de las plantas tropicales como reservorio de numerosas especies de hongos (Hawksworth y Rossman, 1997). Sin embargo, los hongos endófitos tropicales han sido constantemente ignorados, por lo que el número de especies postulado más conocido en la literatura (1.5 millones, Hawksworth, 1991), probablemente subestima el verdadero número de especies (Gamboa, 1998; Fröhlich y Hyde 1999; Arnold *et al.*, 2000; Hawksworth, 2000; Gamboa *et al.*, 2002).

Dispersión y transmisión de endófitos. La transmisión por semilla no ha sido demostrada en especies tropicales, a pesar de haberse encontrado hongos endófitos xilariáceos en semillas de algunas especies (Lassøe y Lodge, 1994; Bayman *et al.*, 1998). Dicha transmisión es uno de los requisitos postulados para que exista un verdadero mutualismo entre la planta y sus endófitos (Carroll, 1988). Sin embargo, este mismo autor plantea como alternativa a la transmisión por semilla, una eficiente dispersión horizontal. Existen posibles vectores horizontales en los bosques tropicales, tanto bióticos (fitófagos por ejemplo), como abióticos (agua, viento), los cuales no han sido estudiados al respecto.

El muestreo de los hongos endófitos. El muestreo tradicional de hongos endófitos se basa en el uso de medios artificiales de agar con diferentes nutrientes y antibióticos. Existen numerosos protocolos para elaborar tales medios que permiten el crecimiento selectivo de hongos endófitos. En general, el procedimiento consiste en esterilizar

superficialmente el material vegetal que se desea examinar y ponerlo en cajas de Petri con el medio escogido. Esta preparación se mantiene en condiciones controladas hasta que los endófitos colonicen el medio.

Planta	Hongos endófitos relevantes	Propiedades reportadas para algunos hongos	Sitio	Referencia
Alga marina	<i>Xylariaceae</i> sp.	Degradación de hidrocarburos	Puerto Rico	Acevedo, comunicación personal
Árbol tropical	<i>Phomopsis phaseoli</i>	Nematicida	Guyana Francesa	Schwarz <i>et al.</i> , 2004
<i>Bracharia arrecta</i> (Poaceae)		Protección contra áfidos	Colombia	CIAT, 1998
<i>Casuarina equisetifolia</i> (Casuarinaceae)	<i>Xylaria</i> sp.		Puerto Rico	Bayman <i>et al.</i> , 1998
<i>Cavendishia pubescens</i> (Ericaceae)	<i>Phomopsis</i> sp.	Tóxico a vertebrados	Colombia	Bills <i>et al.</i> , 1992
<i>Cocos nucifera</i> (Arecaceae)	<i>Cladosporium</i> spp. <i>Alternaria</i> spp. <i>Pestalotiopsis palmarum</i>		Brasil	Mariano <i>et al.</i> , 1997
<i>Coffea arabica</i> (Rubiaceae)	<i>Colletotrichum</i> spp. <i>Xylaria</i> spp.		Puerto Rico	Gamboa y Bayman, (comunicación personal) Santamaría y Bayman, 2005
<i>Beauveria bassiana</i>		Patógeno a insectos	Neotrópico y África	Rehner <i>et al.</i> , 2006
<i>Euterpe oleraceae</i> (Arecaceae)	<i>Xylaria cubensis</i> <i>Letendraeopsis palmarum</i>		Brasil	Rodrigues, 1994
<i>Guarea guidonia</i> (Meliaceae)	<i>Phomopsis</i> spp. <i>Colletotrichum</i>		Puerto Rico	Gamboa y Bayman, 2001
<i>Gynoxis oleifolia</i> (Asteraceae)	<i>Cryptosporiopsis</i> <i>Cylindrocarpon destructans</i> <i>Epiccocum nigrum</i> <i>Phoma exigua</i> <i>Phomopsis</i> sp.		Ecuador	Fisher <i>et al.</i> , 1995
<i>Heisteria concinna</i> (Olacaceae)			Panamá	Arnold <i>et al.</i> , 2000
<i>Hordeum vulgare</i>	<i>Piriformospora indica</i>	Resistencia enfermedad y estrés abiótico	India	Waller <i>et al.</i> , 2005
<i>Lupinus angustifolius</i> (Fabaceae)	<i>Phomopsis leptostromiformis</i>	Tóxico a vertebrados	Australia	Cockrum <i>et al.</i> , 1994
<i>Lepanthes</i> spp. (Orchidaceae)	<i>Xylaria arbuscula</i> <i>Xylaria hypoxylon</i>		Puerto Rico	Bayman <i>et al.</i> , 1997
<i>Lycopersicon esculentum</i> (Solanaceae)	<i>Cladosporium oxysporum</i> <i>Penicillium</i> sp.		Brasil	Ribeiro y Bolkan, 1981a
<i>Manilkara bidentata</i> (Sapotaceae)	<i>Xylaria</i> spp.		Puerto Rico	Lodge <i>et al.</i> , 1996
<i>Musa</i> spp. (Musaceae)	<i>Cladosporium oxysporum</i>		Brasil	Ribeiro y Bolkan, 1981b
<i>Neuwiedia veratrifolia</i> (Orchidaceae)	<i>Tulasnella</i> spp. <i>Thanatephorus</i> spp.		Borneo	Kristiansen <i>et al.</i> , 2004
<i>Nicotiana</i> spp. (Solanaceae)	<i>Alternaria</i> spp.		EE. UU. (plantaciones)	Spurr y Welty 1975
<i>Nicotiana tabacum</i> (Solanaceae)	<i>Colletotrichum capsici</i> <i>Alternaria longipes</i> <i>Alternaria alternata</i>		Malawi	Norse 1972

Planta	Hongos endófitos relevantes	Propiedades reportadas para algunos hongos	Sitio	Referencia
Orchidaceae spp.	<i>Nectria haematococca</i> <i>Hadrotrichum</i> sp. <i>Colletotrichum crassipes</i> <i>Lasiodiplodia theobromae</i>		Costa Rica, Ecuador, Puerto Rico	Bermudes y Benzing, 1989 Richardson y Currah, 1995 Otero <i>et al.</i> , 2002 Bayman <i>et al.</i> , 1997
<i>Ouratea lucens</i> (Ochnaceae)			Panamá	Arnold <i>et al.</i> , 2000
Rosa	<i>Aureobasidium</i> sp. <i>Alternaria alternata</i> <i>Nigrospora oryzae</i> <i>Xylaria</i> sp. <i>Acremonium</i> sp.	Antagonismo a fitopatógenos	Colombia	Salgado, 2005
<i>Sabal bermudana</i> (Arecaceae)	<i>Aspergillus</i> sp. <i>Idriella</i> sp. <i>Phomopsis</i> sp.		Bermuda	Southcott y Johnson, 1997
<i>Solanum</i> sp. (Solanaceae)	<i>Cladosporium</i> sp. <i>Trichoderma viride</i> <i>Penicillium</i> sp.		Brasil	Ribeiro <i>et al.</i> , 1982
<i>Spondias mombin</i> (Anacardiaceae)	<i>Guignardia</i> sp. <i>Phomopsis</i> sp. <i>Colletotrichum gloeosporoides</i>		Brasil	Rodrigues y Samuels, 1999
<i>Stylosanthes guianensis</i> (Fabaceae)	<i>Glomerella cingulata</i> <i>Phomopsis</i> sp. <i>Xylaria</i> sp.		Brasil	Pereira <i>et al.</i> , 1993
<i>Theobroma cacao</i> (Sterculiaceae)			Panamá	Arnold <i>et al.</i> , 2003

Tabla 1. Hongos endófitos aislados de plantas tropicales nativas o cultivadas.

La metodología de muestreo basada en medios de cultivo presenta varios inconvenientes, entre los que se destaca el que no todos los microorganismos crecen en medios artificiales (Fuhrman y Campbell, 1998). Esto hace que la detección de muchos de ellos no sea posible mediante el cultivo en el laboratorio, lo que conlleva a una subestimación de la diversidad microbiana endófitas. Posibles soluciones a este problema son el uso de técnicas moleculares que permitan detectar la presencia de los microorganismos sin necesidad de crecer los individuos mediante la amplificación de su ADN, y/o la optimización de los métodos de muestreo tradicionales. Este último aspecto ha sido abordado y es claro que es posible obtener mejores resultados al modificar la forma de muestreo, específicamente al reducir el tamaño de la muestra y cubrir mayor área vegetal. En efecto, Lodge *et al.* (1996) sugieren que para muestrear mejor la comunidad de hongos endófitos en una especie tropical arbórea, es mejor tomar pocas muestras de muchos árboles, lo que significa cubrir un área mayor. Aunque dichos autores no mencionan la importancia del tamaño de la muestra, nuestro trabajo con varias especies tropicales indica claramente que al subdividir un área dada se obtienen más endófitos, debido a que hay una relación directa entre el aumento en el perímetro de la muestra y el número de endófitos recuperados (Gamboa *et al.*, 2002).

NATURALEZA DE LA INTERACCIÓN PLANTA HONGO ENDÓFITO

La hipótesis mutualista. ¿Cómo saber si una relación entre una planta y un hongo endófito es mutualista? En tal situación la eficiencia (capacidad de sobrevivir y reproducir)

cirse), de cada uno de los miembros debería ser mayor cuando están asociados que cuando están viviendo libremente. Sin embargo, esto no es fácil de probar, dado que en algunos casos el componente fúngico de esta simbiosis no vive o es difícil de encontrar libre en la naturaleza. Algunos pastos y hongos endófitos de las zonas templadas constituyen un modelo ampliamente estudiado, del cual proviene la mayor evidencia para postular que esta relación es mutualista. Los estudios pioneros son de la zona templada y sirven como marco de referencia, siendo citas obligadas en este campo los trabajos de Cheplick y Clay (1988), Clay (1988, 1990), Clay *et al.* (1985; 1993) y Johnson *et al.* (1985). Otros estudios han usado árboles de la zona templada (*Quercus* spp. y *Pinus* spp.), pero en ellos no se encontró evidencia de protección contra herbivoría por parte del hongo (Gaylord *et al.*, 1996; Hata y Futai, 1995).

El efecto protector de los endófitos sobre pastos de la zona templada, ha sido reportado por Johnson *et al.* (1985) y Clay *et al.* (1985), quienes usaron como herbívoros especies de áfidos y larvas de mariposa, respectivamente. En ambos casos, la mortalidad del herbívoro fue mayor cuando se alimentaba de plantas infectadas, aunque se pudieron detectar efectos variados de acuerdo a la combinación áfido planta (Johnson *et al.*, 1985). También se han postulado otros beneficios para la planta hospedera de endófitos, como el aumento en el crecimiento de las plantas infectadas aun en ausencia de herbivoría (Clay, 1988) y una mayor resistencia a hongos patógenos (Christensen y Latch, 1991). Aunque los estudios demuestran claramente que los endófitos causan efectos negativos en los herbívoros (Clay *et al.*, 1993; Johnson *et al.*, 1985), siendo de aceptación general el postulado de un mutualismo basado en la defensa contra herbivoría (Clay, 1988), recientemente se ha cuestionado la significancia de estos hallazgos en sistemas naturales (Saikkonen *et al.*, 1998). Es común que los ensayos realizados usen especies introducidas y/o que rara vez interactúan en condiciones naturales. Por ejemplo, Clay *et al.* (1993) reportan baja biomasa y alta mortalidad en espodóptera (*Spodoptera frugiperda*) cuando fueron alimentadas con festuca (*Festuca arundinacea*) infectada con hongos endófitos (*Acremonium* spp.). Festuca es un pasto del viejo mundo introducido en Norteamérica, mientras que espodóptera es un insecto nativo que raras veces forrajea en pastos, por lo cual tiene poca probabilidad de encuentro con festuca. Así las cosas, no hay evidencia que el resultado benéfico hallado en este sistema sea producto de coevolución mediada por un beneficio defensivo, ni que sea importante en la naturaleza (Saikkonen *et al.*, 1998). El estudio más impactante en especies tropicales es el de Arnold *et al.* (2003), donde se detectó un antagonismo entre hongos endófitos naturales y agentes patógenos del cacao. Estos autores encontraron una relación inversa entre la frecuencia de los endófitos y la de los patógenos.

Latencia. Esta se define como el periodo comprendido entre el momento en que un patógeno penetra la planta y el momento en que comienza la relación parasítica (Verhoeff, 1994). Según dicha definición la latencia se refiere a infecciones dormantes, asintomáticas, pudiéndose considerar a los microorganismos en tal situación como endófitos temporales. Muchos de los trabajos con latencia versan sobre frutas tropicales, como banano, plátano, mango y aguacate (Verhoeff, 1994), donde es muy

común encontrar infecciones latentes de muchos microorganismos potencialmente dañinos como *Colletotrichum gloeosporoides*. Esta etapa latente es seguida por una infección activa cuando el fruto madura, lo que produce antracnosis, que es una de las infecciones más importantes en estas frutas (Dodd *et al.*, 1992). Detectar el microorganismo en su etapa asintomática permitirá prevenir pérdidas económicas, de ahí la importancia de los estudios en este grupo. Otro caso importante de endófitos, latencia y cultivos, se encuentra en las infecciones asintomáticas por *Fusarium moniliforme* en maíz. Este hongo causa pudrición de granos, raíces, tallos y plántulas, además de producir cinco tipos de toxinas (Bacon y Hinton, 1996). Tales toxinas se han implicado en la producción de cáncer de esófago en Suráfrica (Rheeder *et al.*, 1992). Existe evidencia que *F. moniliforme* puede ser más común como endófito que como patógeno en zonas templadas y tropicales. En un estudio realizado en zona templada, por ejemplo, se aisló *Fusarium* de todos los órganos de todas las plantas muestreadas y se obtuvieron dos o más cepas de la mayoría de las plantas (Kedera *et al.*, 1994). Así mismo, en un estudio en Nigeria, la mayoría de granos sanos y plántulas asintomáticas de maíz presentaron *F. moniliforme* como endófito (Thomas y Buddenhagen, 1980). En las infecciones asintomáticas en maíz, las hifas crecen intercelularmente, mientras que en las patógenas el crecimiento es además intracelular (Bacon y Hinton, 1996). Dado que hay crecimiento activo del hongo, puede haber producción de micotoxinas también. Esto sugiere que puede existir contaminación por estas toxinas en el maíz y sus derivados sin que haya evidencia de infección fúngica. Se sugiere que los programas de mejoramiento del maíz, que se enfocan particularmente hacia las enfermedades visibles causadas por *Fusarium*, se dirijan también hacia las infecciones endófitas (Bacon y Hinton, 1996). Desafortunadamente, ni los trabajos de latencia en *Colletotrichum* ni los de *Fusarium* en maíz han sido integrados en la literatura de hongos endófitos. Los únicos trabajos abordados y citados en cultivos, son los realizados en pastos.

Efectos fisiológicos en el hospedero. Los hongos son microorganismos con gran capacidad de influir el destino y la disponibilidad de los nutrientes en un ecosistema (Lodge y Cantrell, 1995), por lo que es viable pensar que su presencia tenga repercusiones fisiológicas en el hospedero. Por ejemplo, las especies de endófitos pueden afectar diferencialmente la tasa de uso de fotosintatos, ya que las especies varían en sus requerimientos y preferencias nutritivas. Esto podría afectar al hospedero, al inducir agotamiento de ciertos productos y/o acumulación de otros, de acuerdo con la presencia y/o dominancia de ciertos endófitos. Nuestros estudios indican que los hongos endófitos no afectan la tasa fotosintética de sus hospederos naturales en el estadio de plántula (Gamboa-Gaitán *et al.*, 2005b), aunque recientemente se reporta el efecto negativo de los endófitos en plantas tropicales de interés comercial (Rodrigues-Costa *et al.*, 2000). Una reciente publicación en cebada, reporta el aumento de la tolerancia al estrés salino y de la resistencia a enfermedades por parte de la planta gracias a la presencia de un endófito de raíz (Waller *et al.*, 2005). De otra parte, los hongos endófitos también producen metabolitos secundarios que pueden proteger la planta contra herbívoros (Clay *et al.*, 1985; Clay, 1988). Si el recambio espaciotemporal de especies endófitas modifica la calidad y/o cantidad de tales metabolitos, entonces es posible que el hospedero tenga fluctuaciones temporales en la sensibilidad a

herbívoros. La importancia de este aspecto es innegable, al menos para la planta. Desafortunadamente, no se sabe si la producción de toxinas *in vivo* alcanza cantidades fisiológicamente activas (Lodge *et al.*, 1996), por lo que en este campo hay más especulaciones que datos reales, especialmente para especies tropicales. Un aspecto interesante pero poco explorado, es el de la interacción fisiológica de los miembros de esta simbiosis, la cual debe ser muy intensa dada la asociación celular cercana. Numerosas e interesantes preguntas emergen en este campo, tales como ¿qué papel juegan los hongos en la senescencia de las hojas?, ¿qué estrategia adoptan los endófitos ante la inminencia de la caída foliar?, ¿cómo interactúan las rutas bioquímicas secundarias de estos dos tipos de organismos tan químicamente activos? El tema es de tan crucial importancia para la existencia de esta simbiosis, que se ha postulado recientemente que el estado fisiológico de la planta determina si la relación será de carácter mutualista o parasítico (Redman *et al.*, 2001).

POTENCIAL DEL MODELO PLANTA HONGO ENDÓFITO Y ESTUDIOS FUTUROS

Importancia agropecuaria de los endófitos. La relevancia de los endófitos para la ganadería es evidente, por cuanto se ha reportado intoxicación de ganado por las toxinas producidas por dichos microorganismos (Bacon *et al.*, 1977; Cockrum *et al.*, 1994), y en algunos países desarrollados se estima que las pérdidas oscilan entre 200 y 800 millones de dólares anualmente (Hoveland, 1990). Los efectos de estos alcaloides incluyen toxicosis, necrosis, baja producción de leche, abortos, vasoconstricción, gangrena, pérdida de peso, temperatura alta y supresión de prolactina (Clay, 1988; Rottinghaus *et al.*, 1991). No es probable que la industria ganadera de los trópicos sufra tanto por estos microorganismos, aunque el estudio de este tema se encuentra en un estado incipiente. Algunos reportes existen para zonas subtropicales de Suramérica (Cabral *et al.*, 1999), así como en los Andes (Tapia, 1971; Pérez-Arbeláez, 1978; Davidse *et al.*, 1994), donde se mencionan casos de pastos venenosos para el ganado que probablemente contienen endófitos y sus alcaloides. Estos pastos tropicales de importancia económica usados como forraje han sido poco estudiados en este aspecto, aunque es justo en este grupo donde más claramente se observa el mutualismo entre los hospederos y sus endófitos (Johnson *et al.*, 1985; Clay *et al.*, 1985; Clay, 1988). Es probable que en los pastos tropicales con fotosíntesis C3, que pueden considerarse fisiológicamente similares a los de zonas templadas, se pueda presentar una situación similar.

Estudios realizados con plantas forrajeras leguminosas (*Brachiaria*), muestran que los áfidos prefieren plantas no infectadas (CIAT, 1998). Existe varios ejemplos en la literatura que ilustran bien el potencial económico de los endófitos en este campo (Tabla 1). Una planta forrajera usada en Australia (*Lupinus angustifolius*, *Fabaceae*), que se usa para alimentar ovejas, suele contener el hongo endófito *Phomopsis leptostromiformis*. Este microorganismo produce fomopsinas, toxinas hepatocarcinógenas debido a su actividad antimitótica (Gallagher *et al.*, 1994), que afectan al ganado ovino. Todas las plantas útiles tropicales estudiadas al respecto han mostrado hongos endosimbiontes que pueden tener importancia económica. Se han detectado hongos endófitos en plantas como *Stylosanthes* (Pereira *et al.*, 1993), tabaco (Spurr y Welty, 1975), tomate y pimen-

tón (Ribeiro y Bolkan, 1981a; Ribeiro *et al.*, 1982), banano (Gamboa-Gaitán, comunicación personal; Ribeiro y Bolkan, 1981b), maíz (Fisher *et al.*, 1992), arroz (Fisher y Petrini, 1992), *Lupinus* (Cockrum *et al.*, 1994), café (Santamaría y Bayman, 2005, Rehner *et al.*, 2006; Gamboa-Gaitán, comunicación personal) y cacao (Arnold *et al.* 2003). Tanto en el estudio con arroz como con café se encontraron endosimbiontes saprófitos y otros potencialmente patógenos, mientras que el estudio de Rehner *et al.* (2006) mostró la existencia de cepas de *Beauveria bassiana* con capacidad de bio-control de insectos barrenadores. Adicionalmente, existe un reporte de un producto nematocida obtenido a partir de *Phomopsis phaseoli*, un hongo endófito de un árbol tropical. El producto aislado fue el ácido 3-hidroxipropiónico, y mostró actividad contra *Meloidogyne incognita*, aunque curiosamente, el hongo fue aislado de órganos aéreos de la planta (Schwarz *et al.*, 2004).

Usos biotecnológicos. La presencia de toxinas y metabolitos secundarios con efectos fisiológicos sobre otros organismos, conduce a otra pregunta obvia: ¿cuál es el potencial biotecnológico de los endófitos? Un posible campo de acción, de las propiedades de los endófitos, es en la protección de cultivos mediante la producción de metabolitos que evitan o disminuyen tanto la herbivoría como la susceptibilidad a patógenos y a tensión ambiental (por ejemplo, a sequía). Ya existen semillas disponibles en el comercio que están infectadas con endófitos, los cuales le proveen a la planta más resistencia contra herbívoros y disminuyen la cantidad de insecticidas que hay que suministrar. De otra parte, es posible que otros compuestos del metabolismo de los hongos endófitos tengan usos industriales y medicinales, lo que constituye un estímulo adicional para estudiar este grupo (Strobel, 1996; Strobel y Long, 1998). Un ejemplo sobresaliente es el del taxol, un diterpenoide muy eficaz como agente antitumoral producido por la corteza del árbol *Taxus brevifolia*, pero que también es producido por uno de sus hongos endófitos, *Taxomyces andreae* (Stierle *et al.*, 1993). Otro ejemplo, la familia *Xylariaceae*, una de las más comunes en los endófitos tropicales, la cual produce abundantes sustancias bioactivas como citocalasinas y griseofulvinas (Whalley y Edwards, 1987). Es importante anotar que los microorganismos endosimbiontes de los hongos también pueden ser productores de sustancias químicas fisiológicamente activas, que podrían explicar algunas propiedades atribuidas inicialmente al hongo. Recientemente, Partida-Martínez y Hertweck (2005), mostraron en un estudio con hongos del género *Rhizopus* (grupo comúnmente asociado a plantas), que la toxina atribuida al hongo (rizoxina), era en realidad sintetizada por bacterias endosimbiontes del género *Burkholderia*.

Uso de endófitos en la industria. Los beneficios provenientes de la ciencia y la tecnología siempre han estado acompañados por la contaminación que de ellas se deriva. La industria del petróleo, por ejemplo, es una de las principales contaminantes del ambiente, por lo que se ha investigado bastante acerca del posible uso de los microorganismos para degradar tales contaminantes a metabolitos menos tóxicos y persistentes, en el proceso conocido como biorremediación (Atlas y Cerniglia, 1995). Dado que la tecnología para la industria petrolera se desarrolló en los países del norte, es en la zona templada donde más se han realizado ensayos para detectar microorganismos biorremediadores. Algunos ejemplos son hongos de los géneros *Phanerochaete*

y *Cunninghamella*, los cuales muestran actividad enzimática en la degradación de contaminantes (Bogan y Lamar, 1996; Bayman y Bennett, 1998). En los trópicos, sin embargo, estos estudios han sido poco abordados, pero los pocos datos existentes muestran un buen potencial de las especies de esta zona. Se han aislado dos hongos endófitos a partir de algas marinas tropicales, los cuales han mostrado algún tipo de actividad en la descomposición de hidrocarburos como el fenantreno. Estas propiedades hacen de dichos hongos organismos potencialmente útiles para descontaminar cuerpos de agua de hidrocarburos. Uno de ellos pertenece al género *Xylaria* y el otro aún no ha sido identificado (Acevedo, comunicación personal).

Otro uso potencial de los endófitos es como vector de genes. La transmisión vertical de algunos hongos *Acremonium* se realiza prácticamente como si fueran organelos (Clay, comunicación personal). Los hongos son más manipulables genéticamente que las plantas que habitan (particularmente que los pastos), por lo que Clay sugiere que en lugar de transformar una planta se podrían transformar sus endófitos, inocularlos y obtener la expresión en la planta. Algunos cultivos tropicales importantes carecen de sistemas de transformación genética, por lo que esta ruta podría ser una alternativa viable. Sin embargo, todavía no existe evidencia de transmisión vertical de endófitos en plantas tropicales (Bayman *et al.*, 1998).

Efectos inesperados en la ciencia. La gran mayoría de los investigadores ven cada planta como un individuo y no como una comunidad. La verdad es que una sola planta es un ecosistema que incluye hongos, bacterias, nemátodos y más microorganismos. Ignorarlos puede tener consecuencias científicas desastrosas. Por ejemplo, varios estudios filogenéticos de plantas produjeron resultados basados en el aislamiento y amplificación del ADN fúngico en lugar del material genético vegetal. Las secuencias del espaciador interno transcrito del ADN ribosomal de la conífera *Picea engelmannii*, fueron en realidad del hongo endófito *Hormonema dematioides* (Camacho *et al.*, 1997). Así mismo, en un estudio filogenético de bambúes, el ADN secuenciado fue el de sus hongos endófitos (Zhang *et al.*, 1997). Estos investigadores pagaron un precio alto por no considerar las relaciones íntimas entre las plantas y sus endófitos. Es muy probable que parte de la literatura botánica, especialmente la que respecta al análisis del material genético, presente datos que estén influenciados por los microorganismos endófitos de las plantas estudiadas.

Perspectivas. A pesar que no se puede establecer en la actualidad una relación mutualista entre plantas y hongos endófitos tropicales, la cual podría estar basada en la producción de metabolitos fúngicos que protegerían a la planta, es innegable el hecho que los hongos son fábricas de sustancias químicamente activas. Los potenciales son enormes y posibles campos de acción para las drogas y rutas metabólicas fúngicas son la agronomía (compuestos antiherbivoría), la medicina (anticancerígenos como el taxol) y la biorremediación. Como puede verse, los hongos endófitos constituyen un grupo modelo para estudiar aspectos aplicados (el aumento de la productividad del ganado) y teóricos (evolución de la simbiosis, interacciones planta microbio). Es evidente que mucho trabajo resta por hacer en este campo, por lo que es

necesario enfocar la investigación en aspectos prioritarios tales como:

- Catalogación y descripción de especies en sus hospederos naturales.
- Optimización de métodos y medios para aislar y cultivar endófitos.
- Estudios de la composición y estructura de las comunidades endófitas.
- Identificación de taxones con potencial económico (por ejemplo, hongos xilariáceos) y estudio en el laboratorio y el campo de su papel ecológico y su capacidad de producir sustancias químicamente activas.
- Estudios de la sucesión natural de las comunidades de endófitos en la naturaleza y su rol en el ensamblaje del ecosistema.
- Efectos fisiológicos de los endófitos sobre sus hospederos naturales y las consecuencias sobre la eficiencia de éstos.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo forma parte de la investigación en hongos endófitos tropicales financiada con aportes de los programas NASA-EPSCOR y FIPI de la Universidad de Puerto Rico, y de la DIB de la Universidad Nacional de Colombia. Se agradece a P. Bayman, M. Aide, E. Meléndez, N. Fetcher y G. Toranzos, por sus comentarios a lo largo de la elaboración del trabajo y por revisar versiones previas de este manuscrito.

BIBLIOGRAFÍA

- ARNOLD AE, MAYNARD Z, GILBERT GS, COLEY PD, KURSAR TA. 2000. Are Tropical Fungal Endophytes Hyperdiverse? *Ecol Lett.* 2000;3:267-274.
- ARNOLD AE, LUTZONI F. Foliar Endophytes of *Magnolia grandiflora*: Morphological Plasticity, Molecular Diversity, and Species Composition Inferred Using Two Isolation Media. *Inoculum.* 2003;54:11.
- ARNOLD AE, MEJÍA LC, KYLLO D, ROJAS EI, MAYNARD Z, ROBBINS N, HERRE EA. Fungal Endophytes Limit Pathogen Damage in a Tropical Tree. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003;100:15649-15654.
- ATLAS RM, CERNIGLIA CE. Bioremediation of Petroleum Pollutants. Diversity and Environmental Aspects of Hydrocarbon Biodegradation. *Bioscience.* 1995;45:332-338.
- BACON CW Y HINTON DM. Symptomless Endophytic Colonization of Maize by *Fusarium moniliforme*. *Can J Bot.* 1996;74:1195-1202.
- BACON CW, PORTER JK, ROBBINS JD, LUTTRELL ES. *Epichloe typhina* From Toxic Tall Fescue Grasses. *Appl Environ Microbiol.* 1977;34:576-581.
- BAYMAN P, ANGULO-SANDOVAL P, BAEZ-ORTIZ Z, LODGE DJ. Distribution and Dispersal of *Xylaria endophytes* in Two Tree Species in Puerto Rico. *Mycol Res.* 1998;102:944-948.
- BAYMAN P, BENNETT JW. Nitrate-Nonutilizing Mutant and Vegetative Self-Incompatibility in *Cunninghamella echinulata* var. *Elegans*. *Biotechnol Lett.* 1998;20:901-903.
- BAYMAN P, LEBRÓN L, TREMBLAY R, LODGE DJ. Fungal Endophytes in Roots and Leaves of *Lepanthes* (*Orchidaceae*). *New Phytol.* 1997;135:143-149.

- BERMUDES D, BENZING DH. Fungi in Neotropical Epiphyte Roots. *Biosystems*. 1989;23(1):65-73.
- BILLS GF, GIACOBBE BA, LEE SH, PELAEZ F, TKACZ JS. Tremorgenic Mycotoxins, Paspalitrem A and C, From a Tropical *Phomopsis*. *Mycol Res*. 1992;96:977-983.
- BOGAN BW, LAMAR RT. Polycyclic Aromatic Hydrocarbon-Degradating Capabilities of *Phanerochaete laevis* HHB-1625 and Its Extracellular Ligninolytic Enzymes. *Appl Environ Microbiol*. 1996;62:1597-1603.
- BOSE SR. Hereditary (Seed-Borne) Symbiosis in *Casuarina equisetifolia* Forst. *Nature*. 1947;159:512-514.
- CAMACHO FJ, GERNANDT DS, LISTON A, STONE JK, KLEIN AS. Endophytic Fungal DNA, the Source of Contamination in Spruce Needle DNA. *Mol Ecol*. 1997;6:983-987.
- CARROLL GC. The Biology of Endophytism in Plants with Particular Reference to Woody Perennials. Fokkema NJ, van den Heuvel J (eds.). *Microbiology of the Phyllosphere*. Cambridge, Inglaterra: University Press; 1986. p. 205-222.
- CARROLL GC. Fungal Endophytes in Stems and Leaves: From Latent Pathogen to Mutualistic Symbiont. *Ecology*. 1988;69:2-9.
- CARROLL GC. Forest Endophytes: Pattern and Process. *Can J Bot*. 1995;73(S1):S1316-S1324.
- CHEPLICK GP, CLAY K. Acquired Chemical Defenses of Grasses: The Role of Fungal Endophytes. *Oikos*. 1988;52:309-318.
- CHRISTENSEN MJ, LATCH GMC. Variation Among Isolates of *Acremonium endophytes* (*A. coenophialum* and Possibly *A. typhinum*) From Tall Fescue (*Festuca arundinaceae*). *Mycol Res*. 1991;95:1123-1126.
- CIAT. Annual Report Project IP-5. Tropical Grasses and Legumes: Optimizing Genetic Diversity for Multipurpose Use. Centro Internacional de Agricultura Tropical, Cali, Colombia; 1998.
- CLAY K. Fungal Endophytes of Grasses: A Defensive Mutualism Between Plants and Fungi. *Ecology*. 1998;69:10-16.
- CLAY K. Fungal Endophytes of Grasses. *Annu Rev of Ecol Syst*. 1990;21:275-279.
- CLAY K, HARDY TN, HAMMOND AM Jr. Fungal Endophytes of Grasses and their Effects on an Insect Herbivore. *Oecologia*; 1985;66:1-5.
- CLAY K, MARKS S, CHEPLICK GP. Effects of Insect Herbivory and Fungal Endophyte Infection on Competitive Interactions Among Grasses. *Ecology*. 1993;74:1767-1777.
- COCKRUM PA, PETTERSON DS, EDGAR JA. Identification of Novel Phomopsins in Lupin Seed Extracts. Colegate SM, Dorling PR (eds.). *Plant-Associated Toxins. Agricultural, Phytochemical and Ecological Aspects*. Wallingford: CAB International; 1994. p. 232-237.
- COWLEY GT. Vertical Study of Microfungal Populations on Leaves of *Dacryodes excelsa* and *Manilkara bidentata*. Odum HT, Pigeon RF (eds.). *A Tropical Rain Forest: A Study of Irradiation and Ecology at El verde, Puerto Rico*. Springfield, USA: Atomic Energy Commission; 1970. p. F41-F42.
- DAVIDSE G, SOUSA-S M, CHATER AO. Flora Mesoamericana, Vol. 6. *Alismataceae a Cyperaceae*. Universidad Nacional Autónoma de México, México; 1994.

- DE BARY A. Morphologie und Physiologie der Pilze, Flechten und Myxomyceten. Engelmann, Leipzig, Alemania; 1866.
- DODD JC, ESTRADA A, JEGER MJ. Epidemiology of *Colletotrichum gloeosporoides* in the Tropics. Bailey JA, Jeger MJ (eds.). *Colletotrichum: Biology, Pathology and Control*. CAB International; 1992. p. 308-325.
- FISHER PJ, PETRINI O. Fungal Saprobes and Pathogens as Endophytes of Rice (*Oryza sativa* L.). *New Phytol.* 1992;120:137-143.
- FISHER PJ, PETRINI O, LAPPINSCOTT HM. The Distribution of Some Fungal and Bacterial Endophytes in Maize (*Zea mays* L.). *New Phytol.* 1992;122:299-305.
- FISHER PJ, PETRINI LE, SUTTON BC, PETRINI O. A Study of Fungal Endophytes in Leaves, Stems and Roots of *Gynoxis oleifolia* Muchler (*Compositae*) from Ecuador. *Nova Hedwigia.* 1995;60:589-594.
- FRÖHLICH J, HYDE KD. Biodiversity of Palm Fungi in the Tropics: Are Global Fungal Diversity Estimates Realistic? *Biodiversity and Conservation.* 1999;8:977-1004.
- FUHRMAN JA, CAMPBELL L. Marine Ecology: Microbial Microdiversity. *Nature.* 1998;393:410-411.
- GALLAGHER PF, WALKER B, EDGAR JA. Identification of Novel *Phomopsins* in Lupin Seed Extracts. Colegate SM, Dorling PR (eds.). *Plant-Associated Toxins. Agricultural, Phytochemical and Ecological Aspects*. Wallingford, Inglaterra: CAB International; 1994. p. 155-160.
- GAMBOA MA. Ecología de comunidades y genética de hongos endófitos en hojas de *Guarea guidonia* (Meliaceae) [tesis de maestría]. Departamento de Biología, Universidad de Puerto Rico, San Juan, Puerto Rico; 1998.
- GAMBOA MA, BAYMAN P. Communities of Endophytic Fungi in Leaves of a Tropical Timber Tree (*Guarea guidonia*). *Biotropica.* 2001;33:352-360.
- GAMBOA-GAITÁN MA, LAUREANO S, BAYMAN P. Endophytic *Phomopsis* Strains From Leaves of *Guarea guidonia* (Meliaceae). *Caribb Sci.* 2005a;41(2):215-224.
- GAMBOA-GAITÁN MA, FETCHER N, WEN S, BAYMAN P. Effects of Fungicides on Endophytic Fungi and Photosynthesis in Seedlings of a Tropical Tree, *Guarea guidonia* (Meliaceae). *Acta biol Colomb.* 2005b;10(2):41-47.
- GAMBOA MA, LAUREANO S, BAYMAN P. Measuring Diversity of Endophytic Fungi in Leaf Fragments: Does Size Matter? *Mycopathologia.* 2002;156: 41-45.
- GAYLORD ES, PRESZLER RW, BOECKLEN WJ. Interactions Between Host Plants, Endophytic Fungi and Phytophagous Insect in an Oak (*Quercus grisea* x *Q. gambelii*) Hybrid Zone. *Oecologia.* 1996;105:336-342.
- HAMMOND PM. Species Inventory. Groombridge G (ed.). *Global Diversity: Status of the Earth's Living Resources*. Londres, Inglaterra: Chapman & Hall; 1992. p. 17-39.
- HATA K, FUTAI K. 1995. Endophytic Fungi Associated with Healthy Pine Needles and Needles Infested by the Pine Needle Gall Midge, *Thecodiplosis japonensis*. *Can J Bot.* 1995;73:384-390.
- HAWKSWORTH DL. The Fungal Dimension of Biodiversity: Magnitude, Significance and Conservation. *Mycol Res.* 1991;95:641-655.
- HAWKSWORTH DL. How Many Fungi are There? *Mycological Research.* 2000;104:4-5.
- HAWKSWORTH DL, ROSSMAN AY. Where are All the Undescribed Fungi? *Phytopathology.* 1997;87:888-891.

- HOVELAND CS. Importance and Economic Significance of the Acremonium Endophyte to Performance of Animals and Grass Plants. Abstracts of the International Symposium on Acremonium-Grass Interactions, Nueva Orleans, USA; 1990.
- JOHNSON MC, DAHLMAN DL, SIEGEL MR, BUSH LP, LATCH GCM, POTTER DA, VARNEY DR. Insect Feeding Deterrents in Endophyte-Infected Tall Fescue. Appl Environ Microbiol. 1985;49:568-571.
- KEDERA CJ, LESLIE JF, LAFLIN LE. Genetic Diversity of Fusarium Section Liseola (*Gibberella fujikuroi*) in Individual Maize Stalks. Phytopathology. 1994;84:603-607.
- KNOCH TR, STANLEY HF, ARNOTT DL. Endophytic Fungi Alter Foraging and Dispersal by Desert Seed-Harvesting Ants. Oecologia. 1993;95:470-473.
- KRISTIANSEN KA, FREUDENSTEIN JV, RASMUSSEN FN, RASMUSSEN HN. Molecular Identification of Mycorrhizal Fungi in *Neuwiedia veratrifolia* (Orchidaceae). Mol Phylogenet Evol. 2004;33:251-258.
- LAESSØE T, LODGE DJ. Three Host-Specific *Xylaria* Species. Mycologia. 1994;86(3):436-446.
- LÉVEILLÉ JH. Considérations mycologiques suivies d'une nouvelle classification des champignons. Paris; 1846.
- LODGE DJ, FISHER PJ, SUTTON BC. Endophytic Fungi of *Manilkara bidentata* Leaves in Puerto Rico. Mycologia. 1996;88:733-738.
- LODGE DJ, CANTRELL S. Fungal Communities in Wet Tropical Forests: Variation in Time and Space. Can J Bot. 1995;(S1):S1391-S1398.
- MARIANO R, DE LR, FERNANDES DE LIRA RV, BARBOSA DA SILVEIRA E, MENEZES M. Levantamento de fungos endófitos e epífitos em folhas de coqueiro no nordeste do Brasil. I. Frequência da população fúngica e efeito da hospedeira. Agrotrópica. 1997;9:127-134.
- MAY RM. How Many Species? Philos Trans R Soc. 1990;B330:293-304.
- NORSE D. Fungi Isolated from Surface-Sterilized Tobacco Leaves. Trans Brit Mycol Soc. 1992;58:515-518.
- OTERO JT, ACKERMAN JD, BAYMAN P. Diversity and Host Specificity of Endophytic Rhizoctonia-Like Fungi from Tropical Orchids. Am J Bot. 2002;89(11):1852-1858.
- PARTIDA-MARTÍNEZ LP, HERTWECK C. Pathogenic Fungus Harbours Endosymbiotic Bacteria for Toxin Production. Nature. 2005;437:884-888.
- PEREIRA JO, AZEVEDO JL, PETRINI O. Endophytic Fungi of Stylosanthes: A First Report. Mycologia. 1993;85:362-364.
- PÉREZ-ARBELÁEZ E. Plantas útiles de Colombia. 4a ed., Litografía Arco, Santafé de Bogotá, Colombia; 1978.
- PETRINI O, PETRINI LE, RODRIGUES K. *Xylariaceae endophytes*: An Exercise in Biodiversity. Fitopatol Bras. 1995;20:531-539.
- PETRINI O. Fungal Endophytes of Tree Leaves. Andrews JH, Hirano SS (eds.). Microbial Ecology of Leaves. Nueva York, USA: Springer-Verlag; 1991. p. 179-197.
- POLISHOOK JD, BILLS GF, LODGE DJ. Microfungi from Decaying Leaves of Two Rain Forest Trees in Puerto Rico. J Ind Microbiol. 1996;17:284-294.
- REDMAN RS, DUNIGAN DD, RODRIGUEZ RJ. Fungal Symbiosis from Mutualism to Parasitism: Who Controls the Outcome, Host Or Invader? New Phytol. 2001;151:705-716.

- REHNER SA, POSADA F, BUCKLEY EP, INFANTE F, CASTILLO A, VEGA FE. Phylogenetic Origins of African and Neotropical *Beauveria bassiana* s.l. Pathogens of the Coffee Berry Borer, *Hypothenemus hampei*. J Invertebr Pathol. 2006;93:11-21.
- RHEEDER JP, MARASAS WFO, THIEL PG, SYDENHAM EW, SHEPARD GS, van SCHALKWYK DJ. *Fusarium moniliforme* and *Fusosins* in Corn in Relation to Human Esophageal Cancer in Transkei. Phytopathology. 1992;82:353-357.
- RIBEIRO WRC, BOLKAN HA. Micoflora de frutos de tomate comercializados no distrito federal. Fitopatol Bras. 1981a;6:367-375.
- RIBEIRO WRC, BOLKAN HA. Micoflora de frutos da bananeira (*Musa* spp.) comercializadas no Distrito Federal. Fitopatol Bras. 1981b;6:445-450.
- RIBEIRO WRC, BOLKAN HA, DIANESE JC. Micoflora fúngica do pimentão. Fitopatol Bras. 1982;7:527.
- RICHARDSON K, CURAH RS, HAMBLETON S. Basidiomycetous Endophytes from the Roots of Neotropical Epiphytic *Orchidaceae*. Lindleyana. 1993;8:127-137.
- RICHARDSON K, CURAH RS. The Fungal Community Associated with the Roots of Some Rainforest Epiphytes of Costa Rica. Selbyana. 1995;16:49-73.
- RODRIGUES-COSTA LS, AZEVEDO JL, PEREIRA JO, CARNEIRO VIEIRA ML, LABATE CA. Symptomless Infection of Banana and Maize by Endophytic Fungi Impairs Photosynthetic Efficiency. New Phytol. 2000;147:609-615.
- RODRIGUES KF. The Foliar Endophytes of the Amazonian Palm *Euterpe oleracea*. Mycologia. 1994;86:376-385.
- RODRIGUES KF. Fungal Endophytes of Palms. Redlin SC, CARRIS LM (eds.). Endophytic Fungi in Grasses and Woody Plants. Systematics, Ecology, and Evolution. San Paul, USA: ASP Press; 1996. p. 121-132.
- RODRIGUES KF, PETRINI O. 1997. Biodiversity of Endophytic Fungi in Tropical Regions. HYDE KD (ed.). Biodiversity of Tropical Microfungi. Hong Kong, China: Hong Kong University Press; 1997. p. 57-69.
- RODRIGUES KF, SAMUELS G. Preliminary Study of Endophytic Fungi in a Tropical Palm. Mycol Res. 1990;94:827-830.
- RODRIGUES KF, SAMUELS G. Fungal Endophytes of Spondias Mombin Leaves in Brazil. J Basic Microbiol. 1999;39:131-135.
- ROTTINGHAUS JD, GARNER GB, CORNELL CN, ELLIS JL. 1991. HPLC Method for Quantitating Ergovaline in Endophyte-Infected Tall Fescue: Seasonal Variation of Ergovaline Levels in Stems With Leaf Sheaths, Leaf Blades and Seed Heads. J Agric Food Chem. 1991;39:112-115.
- SAIKKONEN K, FAETH SH, HELANDER M, SULLIVAN TJ. Fungal Endophytes: A Continuum of Interactions with Host Plants. Annu Rev Ecol Syst. 1998;29:319-343.
- SALGADO SALAZAR C. Hongos endófitos en Rosa hybrida: aislamiento, identificación y evaluación *in vitro* de la capacidad antagonista contra hongos fitopatógenos [tesis de maestría]. Departamento de Biología, Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia; 2005.
- SANTAMARÍA J, BAYMAN P. Fungal Epiphytes and Endophytes of Coffee Leaves (*Coffea arabica*). Microb Ecol. 2005;50:1-8.

- SCHWARZ M, KÖPCKE B, WEBER RWS, STERNER O, ANKE H. 3-Hydroxypropionic Acid as a Nematicidal Principle in Endophytic Fungi. *Phytochemistry*. 2004;65(15):2239-2245.
- SOUTHCOTT KA, JOHNSON JA. Isolation of Endophytes from Two Species of Palm, from Bermuda. *Can J Bot*. 1997;43:789-792.
- SPURR HW, WELTY RE. Characterization of Endophytic Fungi in Healthy Leaves of *Nicotiana* spp. *Phytopathology*. 1975;65:417-422.
- STIERLE A, STROBEL G, STIERLE D. Taxol and Taxane Production by *Taxomyces andreanae*, and Endophytic Fungus of Pacific Yew. *Science*. 1993;260:214-216.
- STROBEL G. 1996. Endophytic Fungi: New Sources for Old and New Pharmaceuticals. *Pharmaceutical News*. 1996;3:7-9.
- STROBEL G, LONG DM. Endophytic Microbes Embody Pharmaceutical Potential. *ASM News*. 1998;64:263-268.
- TAPIA ME. Pastos naturales del altiplano de Perú y Bolivia. Programa de investigación zona Andina, Pub. No. 85. Editorial Ecuador, Quito, Ecuador; 1971.
- THOMAS MD, BUDDENHAGEN IW. Incidence and Persistence of *Fusarium moniliforme* in Symptomless Maize Kernels and Seedlings in Nigeria. *Mycologia*. 1980;72:883-887.
- VERHOEFF K. Latent Infections by Fungi. *Ann Rev Phytopathol*. 1974;12:99-110.
- WALLER F, ACHATZ B, BALTRUSCHAT H, FODOR J, BECKER K, FISCHER M, HEIER T, HUCKELHOVEN R, NEUMANN C, von WETTSTEIN D, FRANKEN P, KOGEK K. The Endophytic Fungus *Piriformospora indica* Reprograms Barley to Salt-Stress Tolerance, Disease Resistance, and Higher Yield. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102(38):13386-13391.
- WHALLEY AJS, EDWARDS RL. *Xylariaceae fungi: Use of Secondary Metabolites*. RAYNER ADM, BRISIER CM, MOORE D (eds.). *Evolutionary Biology of the Fungi*. Cambridge, Inglaterra: Cambridge University Press; 1987. p. 423-434.
- WILSON D. Endophyte; The Evolution of a Term, and Clarification of its Use and Definition. *Oikos*, 1995;73:274-276.
- ZHANG W, WENDEL JF, CLARK LG. Bamboozled Again! Inadverted Isolation of Fungal rDNA Sequences from Bamboos (*Poaceae: Bambusoideae*). *Mol Phylogenet Evol*. 1997;8:205-217.