



Pontificia Universidad
JAVERIANA
Cali

Facultad de Ingeniería y Ciencias

Acta de Correcciones al Proyecto de Grado Biología

Fecha: 17 de junio de 2021

Autores: YELY GABRIELA RODRÍGUEZ MINA

Nombre del Proyecto de Grado: “ENDÓFITOS FÚNGICOS RELACIONADOS CON LA MADURACIÓN NATURAL Y COMPUESTOS AROMÁTICOS EN FRUTOS DE ESPECIES DE VANILLA”

Director: Ana Teresa Mosquera Espinosa

Como indica el artículo 2.27 de las Directrices de Trabajo de Grado, he verificado que los estudiantes indicados arriba han implementado todas las correcciones que los Jurados del Proyecto de Grado definieron que se efectuaran, como consta en el Acta de Calificación correspondiente.

Firma del Director del Proyecto de Grado

Nota de Aceptación

Aprobado por el Comité de Trabajo de Grado
en cumplimiento de los requisitos exigidos por la
Pontificia Universidad Javeriana para optar el
título de Biólogo.



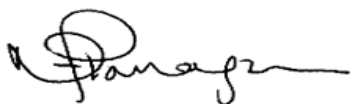
Dr. HERNAN CAMILO ROCHA NIÑO
Decano Facultad de Ingeniería



DR. MATEO LOPEZ VICTORIA
Director Carrera Biología



(Ana Teresa Mosquera Espinosa)
Director Trabajo de Grado



(Nicola Sian Flanagan)
Jurado 1



(Carlos Omar Patiño Torres)
Jurado 2

Santiago de Cali, mayo 20 de 2021

Mateo López Victoria, Ph.D.
Director Carrera de Biología
Pontificia Universidad Javeriana Cali

Cordial saludo,

Por medio de la presente apruebo la presentación a la facultad del proyecto de grado, modalidad monografía, con título **“Endófitos fúngicos relacionados con la maduración natural y compuestos aromáticos en frutos de especies de *Vanilla*”** a cargo de la estudiante: Yely Gabriela Rodríguez Mina, código 8923361 de la carrera de Biología en la Pontificia Universidad Javeriana- Cali, quien contó con mi dirección. Lo anterior se hace en cumplimiento del requisito parcial para optar al título de Bióloga según lineamientos institucionales.

Atentamente,



Ana Teresa Mosquera Espinosa, Ph.D.
Profesora del Programa de Biología
Departamento de Ciencias Naturales y Matemáticas
Facultad de Ingenierías y Ciencias
Pontificia Universidad Javeriana Cali

Santiago de Cali, mayo 20 de 2021

Mateo López Victoria, Ph.D.
Director Carrera de Biología
Pontificia Universidad Javeriana Cali

Cordial saludo,

Por medio de la presente realizo la entrega a la facultad de Ingeniería y Ciencias del proyecto de grado, modalidad monografía, titulado “**Endófitos fúngicos relacionados con la maduración natural y compuestos aromáticos en frutos de especies de *Vanilla***” para entrega oficial a evaluadores, con el objetivo de cumplir con uno de los requisitos para optar al título de Bióloga.

Atentamente,

Yely Gabriela Rodríguez Mina

Yely Gabriela Rodríguez Mina
Estudiante de Biología
Código: 8923361
Pontificia Universidad Javeriana Cali

**Endófitos fúngicos relacionados con la maduración natural y compuestos aromáticos
en frutos de especies de *Vanilla***

Yely Gabriela Rodríguez Mina

Pontificia Universidad Javeriana, Cali
Facultad de Ingeniería y Ciencias
Departamento de Ciencias Naturales y Matemáticas
Santiago de Cali
2021

**Endófitos fúngicos relacionados con la maduración natural y compuestos aromáticos
en frutos de especies de *Vanilla***

Yely Gabriela Rodríguez Mina

Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de:
Biólogo

Directora:
Ana Teresa Mosquera-Espinosa, Ph.D

Pontificia Universidad Javeriana, Cali
Facultad de Ingeniería y Ciencias
Departamento de Ciencias Naturales y Matemáticas
Santiago de Cali
2021

*A Dios y a mi madre por ser
mi fortaleza y compañía.*

AGRADECIMIENTOS

Doy gracias a Dios por hacerme resiliente ante los retos que enfrenté a lo largo de mi carrera. Por darme la fuerza para luchar por mis sueños y guiarme siempre en la construcción de mi proyecto de vida. A mi madre Olga Lucía Mina Zapata, por creer en mí, tomarme de la mano y acompañarme desde el día uno en cada etapa de mi vida. Agradezco a mi directora de tesis Ana Teresa Mosquera Espinosa, por su apoyo, compromiso y exigencia de principio a fin para lograr la materialización de este proyecto; gracias por su calidez en momentos difíciles y por forjar en mí la motivación para lograr el objetivo de la mejor manera. Gracias al profe Danny Rojas, por contar siempre con la mejor disposición para compartir su conocimiento y aportar su granito de arena en mi formación. A mis amigas Diana Marcela Ochoa y María Camila Loaiza por su apoyo incondicional y por convertirse en mis hermanas del alma. A Laura Steffanía Franco por su compañerismo y colaboración en diferentes momentos de mi tesis. A mis compañeros de carrera Karen, Camila, Juliana, Jeimy, Ricardo, Gerardo, Juan Pablo, Andrés Navia, Andrés Álvarez y Daniel por ser parte de mis experiencias en la U, los llevo siempre en mi corazón. Gracias a mi tío Adolfo, a Kevin y a Lis por siempre estar al tanto de mi proceso y darme ánimos en todo momento. Gracias a mis evaluadores Nicola S. Flanagan y Carlos Omar Patiño, por su tiempo y valiosas observaciones para culminar con éxito el desarrollo de mi trabajo de grado.

Reglamento de la Pontificia Universidad Javeriana

Artículo 12 de la Resolución número 12 del 6 de julio de 1946

«La universidad no se hace responsable por los conceptos emitidos por los alumnos en sus trabajos de tesis, solo velará porque no se publique nada contrario al dogma y a la moral católica y porque la tesis no contenga ataques o polémicas puramente personales, antes bien, se vea en ellas el anhelo de buscar la verdad y la justicia.»

Declaro que este documento de tesis es íntegramente de mi autoría. Las fuentes y obras consultadas están debidamente referenciadas, y las citas de esas obras están identificadas de modo claro. Este documento no contiene, por lo tanto, ningún tipo de plagio, ni de textos publicados, cualquiera sea el medio de esa publicación, incluidos los medios electrónicos, ni de trabajos académicos.

APOYO INSTITUCIONAL

Este trabajo comprendió la tesis de monografía para optar al título de biólogo en formación de pregrado de Yely Gabriela Rodríguez-Mina, en la Pontificia Universidad Javeriana, Cali, Colombia, bajo la supervisión de Ana T. Mosquera-Espinosa, Ph.D. Este estudio fue financiado por la Pontificia Universidad Javeriana, Cali, proyecto número 020100655, dentro del programa de Investigación para la conservación y uso sostenible de la vainilla en Colombia por Ana T. Mosquera-Espinosa y Nicola S. Flanagan que son docente-investigadoras en la universidad.

RESUMEN

La interacción biótica entre plantas y hongos endófitos fortalece la capacidad adaptativa de los hospederos frente a perturbaciones en el ambiente, y confiere a los microorganismos asociados beneficios de nutrición y protección. Estudios sobre hongos endófitos reportan su presencia en la mayor diversidad de plantas existentes. En hospederos como *Cannabis*, la interacción con hongos endófitos favorece la producción de metabolitos secundarios y fitohormonas que participan en la obtención de propiedades organolépticas como los sabores y los aromas. No obstante, las investigaciones desarrolladas en el género *Vanilla* son escasas, dificultando el entendimiento de las funciones que pueden desempeñar estos microorganismos en beneficio del hospedero. En relación a *Vanilla*, los frutos de especies dentro del clado aromático se distinguen por la presencia de compuestos aromáticos, que aumentan su contenido durante la maduración de los frutos. Algunos estudios, han demostrado que dentro de los frutos existen hongos endófitos posiblemente asociados al proceso de maduración que se acelera mediante el curado, pero pocos de estos estudios, han evaluado la actividad de los hongos endófitos relacionados con la maduración del fruto de forma natural. En el presente trabajo, se recopila literatura científica relacionada con el conocimiento de las comunidades de hongos endófitos y su posible aporte en la maduración y producción de compuestos aromáticos en los frutos de vainilla. Se identifican oportunidades de investigación para desarrollar futuras investigaciones sobre el papel de los microorganismos fungosos para la obtención de metabolitos y precursores aromáticos de los frutos en especies de *Vanilla* en condiciones silvestres.

Palabras clave: fitohormonas, hospedero vegetal, metabolitos microbianos, metabolitos secundarios, precursores de aromas, vainilla.

ABSTRACT

The biotic interaction between plants and endophytic fungi strengthens the adaptability of the hosts to environmental disturbances, conferring nutritional and protective benefits to the associated microorganisms. Studies on endophytic fungi report their presence in the greatest diversity of existing plants. In hosts such as *Cannabis*, the interaction with endophytic fungi favors the production of secondary metabolites and phytohormones involved in obtaining organoleptic properties such as flavors and aromas. However, research on the genus *Vanilla* is scarce, making it difficult to understand the functions that these microorganisms can perform for benefit of the host. In relation to *Vanilla*, the fruits of species in aromatic clade have aromatic compounds that increase their content during fruit ripening. Some studies have demonstrated that endophytic fungi possibly associated with the ripening process that accelerates with curing are inside the fruits. But, few of these studies have evaluated the activity of endophytic fungi related to the natural ripening of the fruit. Therefore, the present work compiles scientific literature related to endophytic fungal communities and their possible contribution to the ripening and production of aromatic compounds in vanilla fruits. Research opportunities are identified to develop future research on the role of fungal microorganisms in obtaining metabolites and aromatic precursors from fruits in *Vanilla* species under wild conditions.

Keywords: flavor precursor, microbial metabolites, phytohormones, plant host, secondary metabolites, vanilla.

TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVO GENERAL	3
Objetivos específicos	3
METODOLOGÍA	4
RESULTADOS	5
Hongos endófitos y producción de compuestos aromáticos en plantas cultivadas	5
Botánica del fruto de <i>Vanilla</i>	9
Métodos para el curado de frutos de <i>Vanilla</i>	10
Hongos endófitos en frutos del género <i>Vanilla</i>	11
Hongos endófitos relacionados con la producción de aroma en <i>Vanilla</i>	12
DISCUSIÓN	13
CONCLUSIONES	15
REFERENCIAS	16

INTRODUCCIÓN

El reconocimiento de la interacción entre plantas y microorganismos endófitos, ha conducido al desarrollo de estudios que buscan dilucidar la diversidad de funciones en las que estos se encuentran involucrados. Los hongos endófitos se caracterizan por residir en tejidos vegetales vivos de forma asintomática y presentar alta incidencia dentro de sus hospederos. Estos últimos, tienen la capacidad de albergar una alta diversidad de especies en sus distintos órganos como hojas, tallos, raíces y frutos (Sridhar, 2019; Porrás-Alfaro & Bayman, 2011; Saikkonen *et al.*, 1998). Los hongos endófitos pueden presentar variaciones en sus funciones de acuerdo al hospedero, el clima, el lugar y el ambiente (Khojraty *et al.*, 2015; Sánchez-Fernández *et al.*, 2013).

Dentro de sus funciones, los hongos endófitos contribuyen a la activación de mecanismos de defensa, que les permiten a las plantas soportar ataques de carácter biótico, como son la herbivoría e invasión de agentes patógenos. En cuanto a los factores abióticos, estos microorganismos ayudan al hospedero a soportar estrés por sequía, calor, salinidad, metales pesados, entre otros (Porrás-Alfaro & Bayman, 2011; Rodríguez & Redman, 2008). Este conocimiento sirve de base para comprender el rol funcional de los hongos endófitos, pero aún existen vacíos de información. Aunque estos hongos son altamente diversos, se adaptan a variedad de hábitats y están presentes en distintos rangos de distribución (ubicuidad), se requieren aportes de conocimiento científico para entender las funciones que desempeñan en las plantas y su participación en la fisiología de las mismas (Khojraty *et al.*, 2017).

En las plantas, se reconoce la presencia de rutas biosintéticas que permiten la formación de compuestos volátiles para la producción de aromas. Los aromas facilitan la interacción y respuesta del hospedero frente a diversos estímulos generados en su medio. Estas fragancias, pueden desempeñar funciones como la comunicación entre plantas, la atracción de polinizadores, la protección contra patógenos y herbívoros, entre otros (Marín-Loaiza & Céspedes, 2007). Sin embargo, estudios recientes destacan el papel de los hongos endófitos en la obtención de estos compuestos (Khojraty *et al.*, 2018; Gimenez *et al.*, 2007).

La alta diversidad de plantas en el trópico y particularmente en Colombia, posibilita el aumento de la microbiota endófitas incluyendo hongos, en donde una alta proporción aún carece de descripción e identificación (Banerjee, 2011). Por otro lado, a pesar de la diversidad de hospederos vegetales son pocas las investigaciones reportadas en la literatura científica considerando la variación en la comunidad de microorganismos endófitos al interior de los diferentes órganos vegetales (Strobel, 2018; Gamboa & Bayman, 2001).

En hospederos como *Cannabis* e *Ipomoea* se reporta la participación de hongos endófitos en la producción de aromas y sabores característicos (Taghinasab & Jabaji, 2020; Ahimsa-Mueller *et al.*, 2007). En contraste, plantas como *Vanilla* han recibido poca investigación sobre los hongos endófitos y su potencial contribución en la maduración natural y producción de compuestos aromáticos en el fruto.

Aunque en los últimos años se ha investigado el papel de los hongos endófitos en la composición del sabor y el aroma del género *Vanilla*, la investigación se ha limitado al estudio de plantas que crecen en hábitats distintos al natural (Khoiratty *et al.*, 2017; 2015). En consecuencia, es fundamental el desarrollo de investigaciones que centren su atención en la identificación de hongos endófitos en frutos fragantes producidos por especies silvestres de *Vanilla*, que se clasifican dentro del clado aromático. De este modo, se entendería el posible aporte de sus metabolitos en los procesos de maduración y producción de aromas.

De acuerdo a lo anterior, se busca revisar cuál es el avance en la investigación sobre la relación entre hongos endófitos con la maduración natural, y producción de compuestos aromáticos en frutos de especies de *Vanilla*.

OBJETIVO GENERAL

Determinar mediante búsqueda de artículos científicos, el avance en la investigación sobre hongos endófitos y su relación con la maduración y producción de compuestos aromáticos en frutos de especies de *Vanilla*.

Objetivos específicos

- 1- Realizar la búsqueda de literatura científica en repositorios digitales, relacionada con maduración y producción de compuestos aromáticos en frutos de especies de *Vanilla*.
- 2- Compilar reportes de literatura sobre hongos endófitos y su aporte en la maduración natural y producción de compuestos aromáticos en *Vanilla*, para encontrar posibles temas de investigación futura en la producción natural de compuestos aromáticos.

METODOLOGÍA

La búsqueda de literatura científica, se centró en investigaciones relacionadas con el aporte de hongos endófitos en la maduración natural, y compuestos aromáticos en frutos de vainilla publicadas hasta diciembre de 2020.

Se hizo uso de repositorios digitales, fundamentales para la obtención de literatura científica: Web of Science, Scopus, Google Scholar, Pubmed, Science Direct, Proquest y Scielo; seguido de la filtración de los artículos obtenidos en fichas técnicas empleadas a manera de resumen para condensar las ideas principales, y posteriormente realizar la incorporación en el documento escrito. Se emplearon palabras clave como *Vanilla*, hongos endófitos, maduración de frutos, proceso de curado, metabolitos microbianos y compuestos aromáticos, tanto en español como en inglés. Para complementar la literatura, se emplearon referencias bibliográficas contenidas en los artículos previamente recopilados.

Para realizar la búsqueda, la selección y la redacción del documento final fue fundamental el conocimiento adquirido en cursos previos, en los que se abordaron temas como búsqueda y redacción de literatura científica, además, del uso de recursos digitales tales como bases de datos y revistas.

RESULTADOS

A partir de la búsqueda de literatura se tuvo acceso a 61 documentos científicos seleccionados por su relación con el tema central de la revisión: aporte de hongos endófitos en la maduración natural y compuestos aromáticos en frutos de *Vanilla*. Dentro de la literatura empleada para la redacción del documento se identificaron distintos subtemas: hongos endófitos y producción de compuestos aromáticos en plantas cultivadas, botánica del fruto de *Vanilla*, métodos para el curado de frutos de *Vanilla*, hongos endófitos en frutos del género *Vanilla* y hongos endófitos relacionados con la producción de aroma en *Vanilla* (Figura 1). No obstante, solo tres artículos se enfocaron en la contribución de los hongos endófitos en la obtención de aromas a partir de los frutos de plantas cultivadas del género *Vanilla*. Esta contribución corresponde al 5% del total de la literatura recopilada.

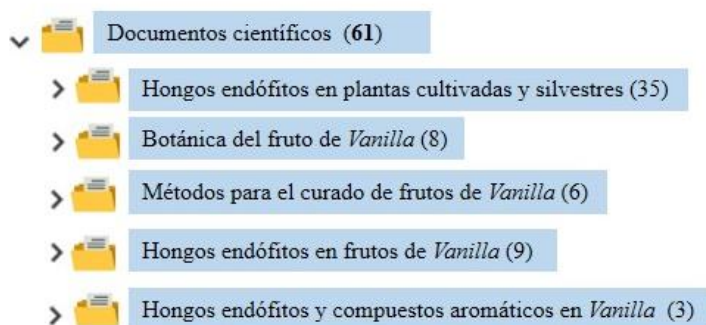


Figura 1. Organización de la literatura científica de acuerdo a los subtemas identificados.

Hongos endófitos y producción de compuestos aromáticos en plantas cultivadas

Generalmente, se reconoce la presencia de comunidades microbianas benéficas al interior de tejidos y órganos vegetales, que pueden condicionar la elaboración de compuestos producto del metabolismo secundario solo en presencia del hospedero. En algunas especies de *Cannabis* se ha identificado microbiota endófitas, con capacidad de regular la producción de metabolitos secundarios en los distintos órganos de la planta (Tabla 1) (Taghinasab & Jabaji, 2020). Estos hongos, inducen respuestas de tipo fisiológico que desencadenan la producción de precursores o compuestos bioactivos similares a los generados por el hospedero, además, de fitohormonas que mejoran los metabolitos procedentes de la misma planta (Taghinasab & Jabaji, 2020). De forma específica se indican los cannabinoides, que son compuestos terpenofenólicos que participan en la producción de aromas y sabores en *Cannabis* (Andre *et al.*, 2016). En el caso del género *Ipomoea* (Convolvulaceae), se reporta la producción de alcaloides como la ergolina a partir del metabolismo de hongos endófitos de gramíneas y hongos filamentosos como *Aspergillus* y *Penicillium* (Torres *et al.*, 2008; Ahimsa-Mueller *et al.*, 2007; Panaccione, 2005; Kucht *et al.*, 2004). Estos alcaloides, son empleados en el desarrollo de fármacos para tratamiento de enfermedades cardiovasculares,

neurológicas e inmunológicas. Además, contribuyen al aumento de la capacidad del huésped para evitar el ataque por plagas debido a su toxicidad (Ahimsa-Mueller *et al.*, 2007; Panaccione, 2005; Kucht *et al.*, 2004; Tudzynski *et al.*, 2001). Lo anterior, muestra la interacción de hongos endófitos, con algunos hospederos vegetales en los que contribuyen a la producción de metabolitos secundarios, posiblemente involucrados en la obtención de características particulares, como los sabores y aromas.

Tabla 1. Géneros de hongos endófitos reportados en tejidos de plantas cultivadas como *Cannabis*, *Cattleya*, *Coffea*, *Rosa* y *Vanilla* y plantas silvestres como *Dendrobium*, *Espeletia*, *Guarea* y *Lepanthes*.

Hospedero	Tejido	Géneros	Autores
<i>Cannabis</i> spp.	Hojas	<i>Alternaria</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Aureobasidium</i> y <i>Penicillium</i> .	Taghinasab & Jabaji, 2020
	Tallo	<i>Alternaria</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Cladosporium</i> , <i>Colletotrichum</i> , <i>Curvularia</i> , <i>Diaporthe</i> , <i>Penicillium</i> y <i>Phoma</i> .	Taghinasab & Jabaji, 2020
	Semillas	<i>Aureobasidium</i> y <i>Cladosporium</i> .	Taghinasab & Jabaji, 2020
<i>Cattleya percivaliana</i>	Hojas	<i>Botryotrichum</i> , <i>Colletotrichum</i> , <i>Cladosporium</i> , <i>Monilinia</i> , <i>Sclerotium</i> y <i>Trichoderma</i> .	Lizarazo-Medina <i>et al.</i> , 2015
	Raíces	<i>Fusarium</i> .	Lizarazo-Medina <i>et al.</i> , 2015
<i>Cattleya trianae</i>	Hojas	<i>Aureobasidium</i> , <i>Botryotrichum</i> , <i>Colletotrichum</i> , <i>Chromelosporium</i> , <i>Exophiala</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Gonatobotrys</i> , <i>Monilinia</i> , <i>Nodulisporium</i> , <i>Sclerotium</i> y <i>Trichoderma</i> .	Lizarazo-Medina <i>et al.</i> , 2015
	Raíces	<i>Aureobasidium</i> , <i>Botryotrichum</i> , <i>Colletotrichum</i> , <i>Curvularia</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Gloeosporium</i> , <i>Sclerotium</i> y <i>Trichoderma</i> .	Lizarazo-Medina <i>et al.</i> , 2015
<i>Coffea arabica</i>	Fruto	<i>Aspergillus</i> , <i>Gibberella</i> y <i>Penicillium</i> .	Bolívar-Anillo <i>et al.</i> , 2016
	Hojas	<i>Aspergillus</i> , <i>Beauveria</i> , <i>Botryosphaeria</i> , <i>Cercospora</i> , <i>Cladosporium</i> , <i>Colletotrichum</i> , <i>Coprinus</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Guignardia</i> , <i>Mucor</i> , <i>Penicillium</i> ,	Bolívar-Anillo <i>et al.</i> , 2016; Santamaría & Bayman, 2005

Hospedero	Tejido	Géneros	Autores
		<i>Pestalotiopsis, Rhizopus, Trichoderma</i> y <i>Xylaria</i> .	
<i>Coffea</i> spp.	Hojas	<i>Aspergillus, Beauveria, Colletotrichum,</i> <i>Cladosporium</i> y <i>Neosartorya</i> .	Vega <i>et al.</i> , 2010
	Fruto	<i>Penicillium</i> y <i>Tilletia</i> .	Vega <i>et al.</i> , 2010
	Tallo	<i>Aspergillus, Colletotrichum</i> y <i>Trichoderma</i> .	Vega <i>et al.</i> , 2010
	Raíces	<i>Fusarium</i> y <i>Petriella</i> .	Vega <i>et al.</i> , 2010
<i>Dendrobium</i> spp.	Hojas	<i>Alternaria, Acremonium, Ampelomyces,</i> <i>Bionectria, Colletotrichum,</i> <i>Cladosporium, Fusarium, Verticillium</i> y <i>Xylaria</i> .	Sridhar, 2019; Chen <i>et al.</i> , 2011
	Tallo	<i>Alternaria, Acremonium, Ampelomyces,</i> <i>Bionectria, Colletotrichum,</i> <i>Cladosporium,</i> <i>Fusarium, Verticillium</i> y <i>Xylaria</i> .	Sridhar, 2019; Chen <i>et al.</i> , 2011
	Raíces	<i>Alternaria, Acremonium, Ampelomyces,</i> <i>Bionectria, Fusarium, Verticillium</i> y <i>Xylaria</i> .	Sridhar, 2019; Chen <i>et al.</i> , 2011
<i>Espeletia corymbosa</i>	Hojas	<i>Beauveria, Chaetomium,</i> <i>Cladosporium, Diaporthe, Epicoccum,</i> <i>Eutypella, Fusarium, Hypoxylon,</i> <i>Nigrospora, Phoma, Scopulariopsis</i> y <i>Trichoderma</i> .	Miles <i>et al.</i> , 2012
<i>Espeletia grandiflora</i>	Hojas	<i>Beauveria, Bipolaris, Chaetomium,</i> <i>Diaporthe, Epicoccum, Eutypella,</i> <i>Fusarium, Nigrospora, Scopulariopsis</i> y <i>Trichoderma</i> .	Miles <i>et al.</i> , 2012
<i>Guarea guidonia</i>	Hojas	<i>Colletotrichum, Curvularia,</i> <i>Pestalotiopsis, Phomopsis, Rhizoctonia,</i> <i>Trichoderma</i> y <i>Xylaria</i> .	Gamboa & Bayman, 2001
<i>Lepanthes</i> spp.	Hojas	<i>Colletotrichum, Guignardia,</i> <i>Penicillium, Pestalotiopsis, Phoma,</i> <i>Trichoderma</i> y <i>Xylaria</i> .	Bayman <i>et al.</i> , 1997
	Raíces	<i>Aspergillus, Colletotrichum,</i> <i>Guignardia, Penicillium, Pestalotiopsis</i> y <i>Xylaria</i> .	Bayman <i>et al.</i> , 1997

Hospedero	Tejido	Géneros	Autores
<i>Rosa hybrida</i>	Hojas	<i>Aureobasidium</i> , <i>Acremonium</i> , <i>Alternaria</i> , <i>Chaetomium</i> , <i>Cladosporium</i> , <i>Gliocladium</i> , <i>Nodulisporium</i> , <i>Nigrospora</i> , <i>Phoma</i> y <i>Xylaria</i> .	Bolívar-Anillo <i>et al.</i> , 2016; Salgado & Cepero, 2005
<i>Vanilla planifolia</i>	Fruto	<i>Acremonium</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Botryosphaeria</i> , <i>Colletotrichum</i> , <i>Cunninghamella</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Mycosphaerella</i> , <i>Nigrospora</i> , <i>Nemania</i> , <i>Pestalotiopsis</i> y <i>Phomopsis</i> .	Khoyratty <i>et al.</i> , 2017; Khoyratty <i>et al.</i> , 2015
	Hojas	<i>Colletotrichum</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Guignardia</i> , <i>Nigrospora</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Perenniporia</i> y <i>Xylaria</i> .	Khoyratty <i>et al.</i> , 2017; Khoyratty <i>et al.</i> , 2015

De manera particular estudios en cacao indican que, la producción del sabor y aroma en las semillas no se relaciona con hongos endófitos, en este caso es necesaria la participación de microorganismos con actividad fermentativa en los que se incluyen hongos del tipo levaduras como *Candida*, *Kloeckera*, *Kluyveromyces*, *Lodderomyces*, *Pichia*, *Saccharomyces* y *Torulospora*; y hongos filamentosos como *Aspergillus*, *Fusarium*, *Lasiodiplodia*, *Mucor*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Thielaviopsis* y *Trichoderma* (Camu *et al.*, 2008; Schwan & Wheals, 2004). El sabor y aroma generados durante la fermentación del grano se definen por compuestos aromáticos como ésteres pirazinas y aldehídos (Castro-Alayo *et al.*, 2019). Estos estudios revelan, que no siempre la formación de precursores fundamentales para la obtención del aroma final característico de un producto de origen vegetal proviene de hongos endófitos, como en el caso de cacao y café, pues la actividad principal recae en la microbiota fungosa que participa de la fermentación espontánea de sus granos. Cabe resaltar, que en ausencia de la actividad microbiana no ocurre el proceso de fermentación, debido al rol fisiológico que se establece por medio de las reacciones enzimáticas necesarias para la elaboración del sabor y el aroma (Schwan & Wheals, 2004).

En los frutos del café, según Iamanaka *et al.* (2014) & Ferreira *et al.* (2008), las levaduras y hongos filamentosos contribuyen en la expresión de aromas propios del grano. *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Pestalotiopsis* y *Paecilomyces* son fundamentales para la producción de compuestos aromáticos. Este proceso ocurre, mediante fermentación, a partir del crecimiento y activación del metabolismo de los microorganismos participantes, y de los que se obtienen ácidos orgánicos y metabolitos secundarios como furanos, pirazinas, cetonas, pirroles, fenoles, hidrocarburos, ácidos, anhídridos, aldehídos, ésteres, alcoholes y compuestos de azufre necesarios para obtener el perfil aromático (Cruz-O'Byrne *et al.*, 2020; Toledo *et al.*, 2016; Huch & Franz, 2015). La fermentación del grano, se describe como una

actividad fundamental para la degradación de la pulpa del fruto, la elaboración del aroma y el sabor del café (Cruz-O'Byrne *et al.*, 2020; Huch & Franz, 2015).

Botánica del fruto de *Vanilla*

Los frutos de vainilla, son bayas dehiscentes, a las que comúnmente se les conoce como “vainillas”, debido a su similitud con el fruto de algunas leguminosas (Moliner-Hurtado, 2012; Lubinsky, 2007; Cameron & Soto-Arenas, 2003; Correll, 1953). El fruto, está conformado por la pared exterior, la pared exterior cortical, las células ciliadas, el tejido placentario y las semillas (Figura 2). De las partes del fruto se distinguen la pared del fruto y el tejido interno blanco, este último, está constituido por tres placentas parietales y tres bandas de células glandulares. Dichas placentas, son fundamentales para la obtención del sabor característico del fruto, pues es el tejido de mayor concentración de precursores aromáticos (Havkin-Frenkel *et al.*, 2004; Jones & Vicente, 1949).

En los frutos de vainilla, se suele observar un aumento considerable en la masa tisular que conduce al inicio de la maduración, cuyo propósito es mediar la elaboración de compuestos precursores de sustancias, que constituyen finalmente el sabor y el aroma del fruto maduro (Frenkel *et al.*, 2019).

Los frutos de las especies de *Vanilla*, generalmente se cosechan cuando aún se encuentran verdes. Estos, se someten a un proceso de curado, en el que se induce la maduración y desarrollo de componentes aromáticos. Por lo tanto, al no finalizar el proceso de maduración en su ambiente natural, es probable que la identificación de comunidades de hongos endófitos en la mayor parte de los frutos esté relacionada con la microbiota expresada durante el curado (Khojraty *et al.*, 2017; Roling *et al.*, 2001). Khojraty *et al.* (2017) encontraron variación en la comunidad endofítica de hongos aislados de frutos de plantas cultivadas en proceso de maduración, en donde al inducir el curado se recuperó únicamente el hongo endófito *Hypoxylon investiens*.

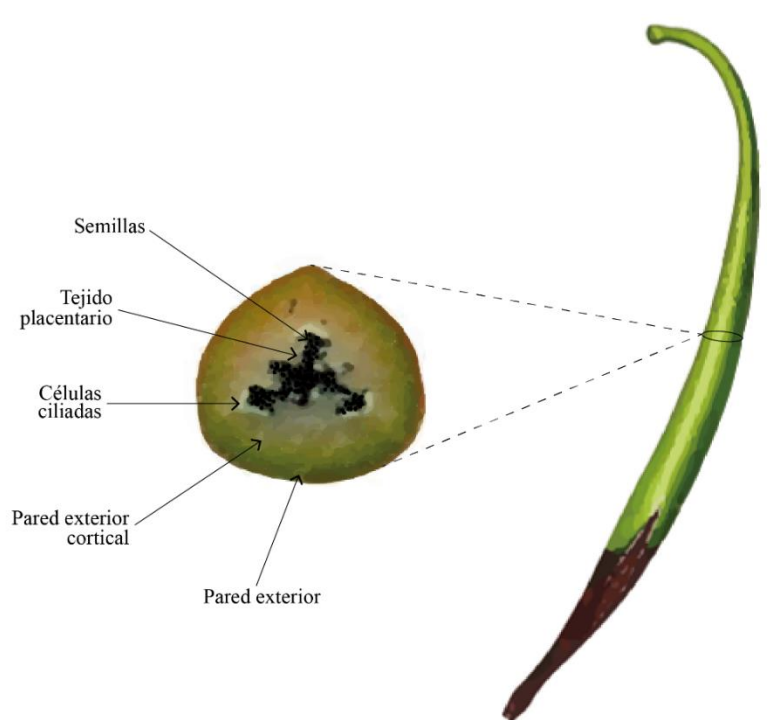


Figura 2. Fruto de vainilla y corte transversal para diferenciar sus partes internas. Modificado de: Reyes-López *et al.* (2014) & Koehler (1887).

Métodos para el curado de frutos de *Vanilla*

En relación al fruto de vainilla, su importancia económica radica en la concentración de vainillina y compuestos aromáticos, que en conjunto constituyen el sabor y el aroma a vainilla (Sabik *et al.*, 2016). Por ello, la maduración de las vainas es un proceso fundamental para la obtención de dichos compuestos, ya que su contenido aumenta al producirse un avance en la maduración de los frutos. Este proceso generalmente ocurre de ocho a diez meses cuando los frutos aún están soportados en la planta (Khoiratty *et al.*, 2018). Sin embargo, comercialmente la maduración es inducida por el curado, y según Toth *et al.* (2018), el aroma y el sabor a vainilla experimentan una transición gradual a medida que los frutos atraviesan por este proceso. Por ello, el perfil aromático de la vainilla se acentúa cuando los frutos alcanzan su maduración completa, ya sea a nivel natural o inducido por el proceso de curado.

De acuerdo a Dignum *et al.* (2001), el proceso de curado, es considerado una simulación de la senescencia que ocurre en el fruto adherido a la planta, es decir, es el avance en el desarrollo y maduración de las vainas en ambiente natural. Por ello, Frenkel *et al.* (2019) consideran, que tanto la senescencia como el curado, podrían reconocerse como procesos análogos que favorecen la elaboración del sabor y el aroma derivados de los frutos de especies de *Vanilla*.

En la literatura se describen distintas metodologías para llevar a cabo el proceso de curado o maduración inducida de los frutos de vainilla, cuya finalidad es la formación del

sabor, aroma y preservación de las vainas. Uno de los procesos pioneros es el curado tradicional mexicano. Este se caracteriza por exponer los frutos a altas temperaturas utilizando el sol u hornos. También está el proceso Bourbon, que se adapta por la inmersión de las vainas en agua caliente (escaldado). Otras prácticas de curado, son consideradas variantes de estas dos (Frenkel *et al.*, 2019; Hernández-Hernández, 2011; Quirós, 2011).

A nivel mundial, actualmente países como Madagascar, Indonesia, isla Reunión (Francia), India, islas Comoras y Papúa Nueva Guinea, son los mayores productores de vainilla. Estos países, implementan el proceso de curado para la obtención del producto comercial final que son vainas curadas (Frenkel *et al.*, 2019). En el proceso se describen cuatro etapas fundamentales: **1.** El marchitamiento de la vaina, origina desorden tisular que conlleva a la detención de las actividades vitales y metabólicas al interior del tejido del fruto. **2.** El sudor de la vaina, logra disminuir el contenido de agua estabilizando la humedad requerida (entre 60-70%) para catalizar reacciones de hidrólisis y oxidación, que se hacen evidentes en la tonalidad marrón de las vainas. **3.** Inicio del secado de las vainas, para alcanzar la humedad final cercana al 30% del peso del fruto. **4.** Acondicionamiento de la vaina, los frutos se almacenan para obtener el perfil aromático terminado. Generalmente, el curado presenta una duración aproximada de tres a seis meses, y depende de las variaciones incluidas en el proceso de acuerdo a la región de producción (Frenkel *et al.*, 2019; Hernández-Hernández, 2011).

Hongos endófitos en frutos del género *Vanilla*

La presencia de hongos endófitos en *Vanilla* posiblemente se manifiesta, a través del mejoramiento y adaptación de las plantas en relación a condiciones ambientales poco favorables para su establecimiento (Rodríguez & Redman, 2008). Sin embargo, es un tema específico reconocer la existencia y participación de microorganismos en los frutos durante la etapa de curado y que promueve la producción de precursores como la vainillina y un sabor general, asociado a su capacidad de bioconversión de glucósidos (Roling *et al.*, 2001; Ranadive, 1994). Por otro lado, Khoyratty *et al.* (2015) aislaron hongos endófitos provenientes de frutos de vainilla cultivada en etapa de maduración. Estos hongos se inocularon en medios de cultivo suministrados con frutos molidos de vainilla verde, con el fin de evaluar su capacidad de biotransformación de precursores o metabolitos implicados en la composición del aroma y sabor a vainilla. Este estudio encontró que los hongos *Pestalotiopsis microspora* y *Diaporthe phaseolorum* se relacionaron directamente con un aumento en la producción de vainillina, p-hidroxibenzaldehído, alcohol vanílico y otros compuestos aromáticos. A su vez, reportes de Khoyratty *et al.* (2018) mencionan que para la producción de vainillina se han empleado hongos endófitos con potencial para biotransformar o biosintetizar precursores de este metabolito aromático. Estos resultados sugieren que los hongos endófitos pueden producir compuestos aromáticos, por lo tanto, estos microorganismos podrían contribuir en la formación de los aromas y sabores terminados en frutos de vainilla.

Probablemente, la capacidad que poseen los microorganismos endófitos de generar metabolitos secundarios y fitohormonas, se debe a la estrecha relación que establecen con el metaboloma de su hospedero. Por lo tanto, es fundamental considerar la hipótesis de que algunos aromas y sabores procedentes de las plantas, son posiblemente producto de estos microorganismos con alto aporte de los hongos endófitos (Bálint *et al.*, 2013).

Hongos endófitos relacionados con la producción de aroma en *Vanilla*

La producción de metabolitos secundarios y precursores aromáticos para la obtención del sabor a vainilla, no son generados de forma exclusiva por las plantas (Khojraty *et al.*, 2018). Así mismo, Khojraty *et al.* (2017) mencionan algunos hongos endófitos con capacidad de producir estas sustancias, destacándose principalmente los géneros *Aspergillus*, *Acremonium*, *Botryosphaeria*, *Colletotrichum*, *Diaporthe*, *Fusarium*, *Hormodendrum*, *Mycosphaerella*, *Nemania*, *Nigrospora*, *Paecilomyces*, *Pestalotiopsis*, *Penicillium*, *Perenniporia*, *Phomopsis*, *Purpureocillium* y *Xylaria*.

Por su parte, la especie *Aspergillus niger* como endófito, ha obtenido un mayor rendimiento en la cantidad de vainillina sintetizada respecto a otros microorganismos. De igual forma, este endófito representa una fuente potencial para la obtención del componente principal del aroma y sabor a vainilla, reduciendo a su vez los costos derivados de su producción (Kaur & Chakraborty, 2013).

Por otra parte, microorganismos como los hongos han secretado hormonas vegetales incluso antes que las plantas (Tudzynski, 1997). En este sentido, se muestra de forma indirecta su contribución al desarrollo del hospedero mediante el proceso de maduración, al poner a disposición de la planta sustancias como el etileno, que se involucra en el desarrollo de los frutos. Es así, como dentro de los géneros de hongos que producen etileno se nombran específicamente a *Colletotrichum*, *Fusarium* y *Penicillium* (División: Ascomycota), como también, especies dentro de la división Zygomycota (Tudzynski & Sharon, 2002).

Mishra *et al.* (2019) identifican diversos hongos endófitos existentes a nivel mundial. Se estima que estos corresponden aproximadamente a 800 géneros. Dentro de estos con mayor incidencia en hospederos vegetales respecto a otros están: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Colletotrichum*, *Fusarium*, *Penicillium* y *Phoma*. Lo anterior se relaciona, con la alta capacidad de estos hongos para adaptarse y desarrollar compuestos que actúan como metabolitos primarios y secundarios (Mishra *et al.*, 2019; Mishra & Sarma, 2018). En cuanto a los hongos endófitos aislados de frutos de vainilla cultivada se mencionan géneros como *Acremonium*, *Aspergillus*, *Botryosphaeria*, *Colletotrichum*, *Diaporthe*, *Fusarium*, *Hormodendrum*, *Mycosphaerella*, *Nemania*, *Nigrospora*, *Paecilomyces*, *Pestalotiopsis*, *Penicillium*, *Perenniporia*, *Phomopsis*, *Purpureocillium*, *Xylaria*, entre otros (Khojraty *et al.*, 2017).

DISCUSIÓN

El avance en la investigación sobre el posible aporte de hongos endófitos en la maduración natural y producción de compuestos aromáticos en frutos de especies de *Vanilla* silvestre, es escaso (Frenkel *et al.*, 2019). Los estudios asociados a la identificación de hongos endófitos en frutos de especies de *Vanilla*, han sido desarrollados en plantas cultivadas y mayormente basados en el proceso de curado; en ambas condiciones se han reportado diferencias en las comunidades de endófitos fúngicos aislados (Khoiratty *et al.*, 2017; Roling *et al.*, 2001). Es posible que los frutos que crecen bajo condiciones naturales presenten variación en las comunidades de endófitos fúngicos. Pero, poco se conoce sobre estos microorganismos y su implicación en el desarrollo del aroma en los frutos de especies silvestres del género *Vanilla* (Flanagan *et al.*, 2019).

Las especies silvestres de *Vanilla* dentro del clado aromático, conforman el acervo genético secundario de *Vanilla*, en el que se agrupan 44 especies. Se distribuyen desde Florida hasta el norte de Argentina (Flanagan *et al.*, 2019; Soto-Arenas & Cribb, 2010). Por ejemplo, en Colombia se encuentran poblaciones del clado aromático de *Vanilla*: *Vanilla planifolia*, *V. calyculata*, *V. odorata*, *V. helleri*, entre otras (Flanagan *et al.*, 2019). Estas especies crecen en condiciones silvestres particulares, principalmente en tierras bajas del chocó biogeográfico, valles interandinos y región amazónica. Por lo tanto, las poblaciones silvestres de vainilla en el país, son un recurso fundamental para el estudio de la comunidad microbiana y sus aportes para la adaptación de estos hospederos en condiciones naturales (Flanagan *et al.*, 2019; Flanagan & Mosquera-Espinosa, 2016). Se reconoce entonces, la importancia de adelantar investigaciones asociadas al conocimiento de comunidades de hongos endófitos en frutos de especies de *Vanilla*, haciendo uso de herramientas microbiológicas, bioquímicas, moleculares y de metabólica. De este modo, se profundiza sobre el posible papel de los hongos endófitos en la maduración y obtención de compuestos aromáticos asociados a este importante género de planta.

Estudiar la relación entre hongos endófitos y hospederos vegetales, podría ayudar a comprender no solo la diversidad de estos microorganismos ocultos en los tejidos de las plantas, sino sus múltiples aportes funcionales en beneficio del hospedero. De este modo, se disminuiría la brecha de conocimiento actual sobre las interacciones planta - hongo endófito en órganos poco explorados, como son los frutos de vainilla (Strobel, 2018).

En relación al ejercicio del desarrollo de esta tesis, el bajo porcentaje de artículos encontrados asociados a la exploración del potencial de los hongos endófitos en la maduración natural y compuestos aromáticos en frutos de *Vanilla*, limitó la generalización sobre el verdadero aporte de estos microorganismos en los procesos mencionados. Sin embargo, dicha limitación se constituye en una oportunidad para promover el desarrollo de estudios futuros en este tema. Por ello, la principal recomendación derivada del presente trabajo, se direcciona hacia el avance de estudios que incluyan ensayos experimentales, inicialmente *in vitro* básicos y posteriormente aplicados, en los que se identifiquen las

comunidades de hongos endófitos presentes en frutos de vainilla creciendo en condiciones silvestres. Una vez se identifiquen estas comunidades, se propone determinar los metabolitos secundarios procedentes de estos microorganismos para evaluar su posible rol en la maduración natural y formación de los compuestos aromáticos del sabor y aroma a vainilla.

CONCLUSIONES

Los estudios sobre hongos endófitos en tejidos de plantas, indican el papel fundamental de estos microorganismos en la producción de metabolitos secundarios y fitohormonas que el hospedero puede emplear en los procesos de adaptación a su hábitat superando estrés biótico y abiótico. De igual manera se entiende, que comunidades fúngicas endófitas y fermentativas aportan en la obtención de aromas y sabores en productos de importancia económica como el café y el cacao. Lo anterior, permite identificar una oportunidad de investigación en relación a los metabolitos generados por hongos endófitos, y su función en procesos como la obtención de compuestos aromáticos y la maduración natural de frutos de poblaciones silvestres de *Vanilla* en Colombia.

Reconocer que existe este vacío en la generación de conocimiento fundamentado en la investigación sobre aportes y uso de la relación microorganismo-planta, es fundamental para apoyar la producción de información científica básica y aplicada para lograr complementar estrategias de conservación de plantas en general, y de manera específica, para orquídeas dentro del género *Vanilla* por su alta demanda económica a nivel mundial por sus compuestos naturales.

REFERENCIAS

- Ahimsa-Mueller, M., Markert, A., Hellwig, S., Knoop, V., Steiner, U., Drewke, C & Leistner, E. (2007). Clavicipitaceous fungi associated with ergoline alkaloid containing convolvulaceae. *J Nat Prod.* 70(19): 1955–1960. <https://doi.org/10.1021/np070315t>
- Andre, C., Hausman, J & Guerriero, G. (2016). *Cannabis sativa*: the plant of the thousand and one molecules. *Front Plant Sci.* 7(19): 1-17. 10.3389/fpls.2016.00019
- Bálint, M., Tiffin, P., Hallström, B., O’Hara, R., Olson, M., Fankhauser, J., Piepenbring, M & Schmitt, I. (2013). Host genotype shapes the foliar fungal microbiome of balsam poplar (*Populus balsamifera*). *Plos One.* 8(1): 1-9. 10.1371/journal.pone.0053987
- Banerjee, D. (2011). Endophytic fungal diversity in tropical and subtropical plants. *Res J Microbiol.* 6(1): 54-62. 10.3923/jm.2011.54.62
- Bayman, P., Lebrón, L., Tremblay, R & Lodge, D. (1997). Endophytic fungi in roots and leaves of *Lepanthes* (Orchidaceae). *New Phytol.* 135(1): 143–149. 10.1046 / j.1469-8137.1997.00618.x
- Bolívar-Anillo, H., Orozco-Sánchez, C., Da Silva, G & Franco, G. (2016). Endophytic microorganisms isolated of plants grown in Colombia: a short review. *J Microb Biochem Technol.* 8(6): 509-513. 10.4172/1948-5948.1000335
- Cameron, K & Soto Arenas, M. (2003). Vanilloideae. In: Pridgeon, A., Cribb, P., Chase, M & Rasmussen, F (Eds). *Genera Orchidacearum*, volume 3: Orchidoideae (Part 2), Vanilloideae. Oxford University Press, Oxford. 281–334.
- Camu, N., De Winter, T., Addo, S., Takrama, J., Bernaert, H & De Vuyst, L. (2008). Fermentation of cocoa beans: influence of microbial activities and polyphenol concentrations on the flavour of chocolate. *J Sci Food Agric.* 88: 2288–2297. 10.1002/jsfa.3349
- Castro-Alayo, E., Idrogo-Vásquez, G., Siche, R., Cardenas-Toro, F. (2019). Formation of aromatic compounds precursors during fermentation of Criollo and Forastero cocoa. *Heliyon.* 5(1): 1-29. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01157>.
- Chen, J., Hu, K., Hou, X & Guo, S. (2011). Endophytic fungi assemblages from 10 *Dendrobium* medicinal plants (Orchidaceae). *World J Microbiol Biotechnol.* 27: 1009–1016. <https://doi.org/10.1007/s11274-010-0544-y>
- Correll, D. (1953). *Vanilla* – Its botany, history, cultivation and economic import. *Econ Bot.* 7: 291–358. <https://doi.org/10.1007/BF02930810>
- Cruz-O’Byrne, R., Piraneque-Gambasica, N & Aguirre-Forero, S. (2020). Physicochemical, microbiological, and sensory analysis of fermented coffee from Sierra Nevada of Santa Marta, Colombia. *Coffee Sci.* 15: 1-6. <https://doi.org/10.25186/v15i.1797>
- Dignum, M., Kerler, J & Verpoorte, R. (2001). β -Glucosidase and peroxidase stability in crude enzyme extracts from green beans of *Vanilla planifolia* Andrews. *Phytochem Anal.* 12: 174–179. 10.1002/pca.578

- Flanagan, N & Mosquera-Espinosa, A. (2016). An integrated strategy for the conservation and sustainable use of native *Vanilla* species in Colombia. *Lankesteriana*. 16(2): 201–218. <http://dx.doi.org/10.15517/lank.v16i2.26007>
- Flanagan, N., Chavarriaga, P & Mosquera-Espinosa, A. (2019). Conservation and sustainable use of *Vanilla* crop wild relatives in Colombia. In: Havkin-Frenkel, D & Belanger, F (Eds). *Handbook of Vanilla Science and Technology*, 2nd edn. Wiley Blackwell, New Jersey, 85-109.
- Frenkel, C., Ranadive, A., Tochihiuti, J & Havkin-Frenkel, D. (2019). Curing of *Vanilla*. In: Havkin-Frenkel, D & Belanger, F (Eds). *Handbook of Vanilla Science and Technology*, 2nd edn. Wiley Blackwell, New Jersey, 191-216.
- Ferreira, C., Batista, L., Magalhaes, L., Souza, E & Freitas, R. (2008). Succession of bacterial and fungal communities during natural coffee (*Coffea arabica*) fermentation. *Food Microbiol.* 25(8): 951–957. 10.1016/j.fm.2008.07.003
- Gamboa, M & Bayman, P. (2001). Communities of endophytic fungi in leaves of a tropical timber tree (*Guarea guidonia*: Meliaceae). *Biotropica*. 33(2): 352-360. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7429.2001.tb00187.x>
- Gimenez, C., Cabrera, R., Reina, M., Gonzalez-Coloma, A. (2007). Fungal endophytes and their role in plant protection. *Curr Org Chem.* 11(8): 707–720. 10.2174/138527207780598765
- Havkin-Frenkel, D., French, J., Graft, N., Pak, F., Frenkel, C & Joel, D. (2004). Interrelation of curing and botany in vanilla (*Vanilla planifolia*) bean. *Acta Hort.* 629: 93–102. 10.17660 / ActaHortic.2004.629.12
- Hernández-Hernández, J. (2011). Mexican *Vanilla* production. In: Havkin-Frenkel, D & Belanger, F (Eds). *Handbook of Vanilla Science and Technology*, 2nd edn. Wiley Blackwell, New Jersey, 3–24.
- Huch, M & Franz, C. (2015). Coffee: fermentation and microbiota. In: Holzapfel, W (Ed). *Advances in Fermented Foods and Beverages*. Woodhead Publishing, Germany, 501-513.
- Iamanaka, B., Teixeira, A., Teixeira, A., Copetti, M., Bragagnolo, N., Taniwaki, M. (2014). Reprint of “the mycobiota of coffee beans and its influence on the coffee beverage.” *Food Res Int.* 61:33–38. 10.1016/j.foodres.2014.05.023
- Jones, M & Vicente, G. (1949). Criteria for testing vanilla in relation to killing and curing methods. *J Agric Res.* 78(1): 425–434.
- Kaur, B & Chakraborty, D. (2013). Biotechnological and molecular approaches for vanillin production: a review. *Appl Biochem Biotechnol.* 169: 1353–1372. 0.1007/s12010-012-0066-1
- Koehler, H. (1887). La vainilla, la orquídea *Vanilla planifolia*. In: Pabst G (Ed). Chromolithograph tras una ilustración botánica de Hermann Adolph Koehler de Plantas Medicinales, 1st edn. Gera, Alemania, 1-84.
- Kucht, S., Groß, J., Hussein, Y., Grothe, T., Keller, U., Basar, S., König, W., Steiner, U & Leistner, E. (2004). Elimination of ergoline alkaloids following treatment of *Ipomoea*

- asarifolia* (convolvulaceae) with fungicides. *Planta*. 219: 619–625. 10.1007/s00425-004-1261-2
- Khoyratty, S., Dupont, J., Lacoste, S., Palama, T., Choi, Y., Kim, H., Payet, B., Grisoni, M., Fouillaud, M., Verpoorte, R & Kodja, H. (2015). Fungal endophytes of *Vanilla planifolia* across Réunion Island: isolation, distribution and biotransformation. *BMC Plant Biol.* 15: 1-142. <https://doi.org/10.1186/s12870-015-0522-5>
- Khoyratty, S., Choi, Y., Dupont, J., Verpoorte, R & Kodja, H. (2017). Host and guest: vanilla inhabited by endophytes. In: Mérillon, J & Ramawat, K (Eds). *Fungal Metabolites*. Springer, Switzerland, 192-217.
- Khoyratty, S., Kodja, H & Verpoorte, R. (2018). Vanilla flavor production methods: a review. *Ind Crop Prod.* 125: 433–442. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.09.028>
- Lubinsky, P. (2007). Elucidating the evolutionary origins of *Tahitian vanilla*. In: Havkin-Frenkel, D & Belanger, F (Eds). *Handbook of Vanilla Science and Technology*, 2nd edn. Wiley Blackwell, New Jersey, 6–8.
- Lizarazo-Medina, P., Mendoza-Salazar, M & Gutiérrez-Gallo, A. (2015). Diversidad de la microbiota endófitica de *Cattleya percivaliana* y *Cattleya trianaei* cultivadas en invernadero. *Actual Biol.* 37(102): 307-318.
- Marín-Loaiza, J & Céspedes, C. (2007). Compuestos volátiles de plantas. Origen, emisión, efectos, análisis y aplicaciones al agro. *Rev Fitotec Mex.* 30(4): 327-351. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61030401>
- Miles, L., Lopera, C., González, S., Cepero, M., Franco, A & Restrepo, S. (2012). Exploring the biocontrol potential of fungal endophytes from an Andean Colombian paramo ecosystem. *BioControl.* 57(5): 697-710. <https://doi.org/10.1007/s10526-012-9442-6>
- Mishra, R., Kushveer, J & Sarma, V. (2019). A worldwide list of endophytic fungi with notes on ecology and diversity. *Mycosphere.* 10(1): 798–1079. 10.5943/mycosphere/10/1/19
- Mishra, R & Sarma, V. (2018). Current perspectives of endophytic fungi in sustainable development. In: Gehlot, P & Singh, J (Eds). *Fungi and their Role in Sustainable Development: Current Perspectives*. Springer Nature, Singapore, 553-584.
- Moliner-Hurtado, F. (2012). Caracterización morfológica y filogenia del género *Vanilla* en el distrito de Buenaventura–Valle del Cauca (Colombia). Tesis de maestría en ciencias biológicas, línea de investigación recursos fitogenéticos neotropicales. Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira. 157.
- Porras-Alfaro, A. & Bayman, P. (2011). Hidden fungi, emergent properties: endophytes and microbiomes. *Annu Rev Phytopathol.* 49: 291–315. 10.1146/annurev-phyto-080508-081831
- Panaccione, D. (2005). Origins and significance of ergot alkaloid diversity in fungi. *FEMS Microbiology Letters.* 251: 9–17. 10.1016/j.femsle.2005.07.039
- Quirós, E. (2011). *Vanilla* production in Costa Rica. In: Havkin-Frenkel, D & Belanger, F (Eds). *Handbook of Vanilla Science and Technology*, 2nd edn. Wiley Blackwell, New Jersey, 41–51.

- Ranadive, A. (1994). *Vanilla*-cultivation, curing, chemistry, technology and commercial products. In: Charalambous, G (Ed). *Spices herbs and edible fungi developments in food science*. Elsevier Science Publishers BV, Amsterdam, the Netherlands, 517–577.
- Reyes-López, D., Flores-Jiménez, A., Huerta-Lara, M., Kelso-Bucio, H., Avedaño-Arrazate, C., Lobato-Ortíz, R., Aragón-García, A & López-Olguín, J. (2014). Morfometric variation of fruits and seed in four species of the genus *Vanilla*. *Agric Ecosyst Environ*. 1(3): 205-218. <http://dx.doi.org/10.19136/era.a1n3.649>
- Rodriguez, R & Redman, R. (2008). More than 400 million years of evolution and some plants still can't make it on their own: plant stress tolerance via fungal symbiosis. *J Exp Bot*. 59(5): 1109–1114. <https://doi.org/10.1093/jxb/erm342>
- Roling, W., Kerler, J., Braster, M., Apriyantono, A., Stam, H & Van Verseveld, H. (2001). Microorganisms with a taste for Vanilla: microbial ecology of traditional Indonesian vanilla curing. *Appl Environ Microbiol*. 67(5): 1995-2003. 10.1128/AEM.67.5.1995-2003.2001
- Sabik, H., Pérez-Silva, A., Bélanger, D., Vivar-Vera, M., García, N & Reyes-López, D. (2016). Identification of volatile compounds in cured mexican vanilla (*Vanilla planifolia* G. Jackson) beans using headspace solid-phase microextraction with gas chromatography-mass spectrometry. *Fruits*. 71(6): 407-418. 10.1051/fruits/2016032
- Salgado, C & Cepero, M. (2005). Aislamiento de hongos endofitos en rosa (*Rosa hybrida*) en Bogotá, Colombia. *Rev Iberoam Micol*. 22: 99-101. [https://doi.org/10.1016/S1130-1406\(05\)70016-4](https://doi.org/10.1016/S1130-1406(05)70016-4)
- Sánchez-Fernández, R., Sánchez-Ortiz, B., Sandoval-Espinosa, Y., Ulloa-Benítez, A., Armendáriz-Guillén, B., García-Méndez, M & Macías-Rubalcava, M. (2013). Hongos endófitos: fuente potencial de metabolitos secundarios bioactivos con utilidad en agricultura y medicina. *TIP Rev Esp Cienc Quím Biol*. 16(2): 132-146. [https://doi.org/10.1016/S1405-888X\(13\)72084-9](https://doi.org/10.1016/S1405-888X(13)72084-9)
- Santamaría, J & Bayman, P. (2005). Fungal epiphytes and endophytes of coffee leaves (*Coffea arabica*). *Microb Ecol*. 50(1): 1–8. <https://doi.org/10.1007/s00248-004-0002-1>
- Saikkonen, K., Faeth, S., Helander, M & Sullivan, T. (1998). Fungal endophytes: a continuum of interactions with host plants. *Annu Rev Ecol Evol Syst*. 29: 319–343. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.29.1.319>
- Sridhar, K. (2019). Diversity, ecology, and significance of fungal endophytes. 61–100. In: Jha, S (Ed). *Endophytes and secondary metabolites*. Springer, Switzerland, 62–100.
- Schwan, R & Wheals, A. (2004). The microbiology of cocoa fermentation and its role in chocolate quality. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 44(4): 205-221. 10.1080/10408690490464104
- Strobel, G. (2018). The emergence of endophytic microbes and their biological promise. *J Fungi*. 4(57): 1-19. 10.3390/jof4020057
- Soto-Arenas, M & Cribb, P. (2010). A new infrageneric classification and synopsis of the genus *Vanilla* Plum. Ex Mill. (Orchidaceae: Vanillinae). *Lankesteriana*. 9:355–398. 10.15517/LANK.V0I0.12071

- Taghinasab, M & Jabaji, S. (2020). *Cannabis* microbiome and the role of endophytes in modulating the production of secondary metabolites: an overview. *Microorganisms*. 8 (355): 1-15. [10.3390/microorganisms8030355](https://doi.org/10.3390/microorganisms8030355)
- Toth, S., Joong, K., Havkin-Frenkel, D., Belanger, F & Hartman, T. (2018). Volatile compounds in *Vanilla*. In: Havkin-Frenkel, D & Belanger, F (Eds). *Handbook of Vanilla Science and Technology*, 2nd edn. Wiley Blackwell, New Jersey, 285-345.
- Torres, M., Singh, A., Vorsa, N & White, J. (2008). An analysis of ergot alkaloids in the Clavicipitaceae (Hypocreales, Ascomycota) and ecological implications. *Symbiosis*. 46 (1): 11-19.
- Toledo, P., Pezza, L., Pezza, H & Toci, A. (2016). Relationship between the different aspects related to coffee quality and their volatile compounds. *Compr Rev Food Sci Food Saf*. 15(4): 705–719. doi:10.1111/1541-4337.12205
- Tudzynski, B. (1997). Fungal phytohormones in pathogenic and mutualistic associations. In: Carroll, G & Tudzynski, P (Eds). *The mycota V. Part A: plant relationships*. Springer, Berlin Heidelberg, New York, 167- 184.
- Tudzynski, P., Correia, T & Keller, U. (2001). Biotechnology and genetics of ergot alkaloids. *Appl Microbiol Biotechnol*. 57: 593– 605. [10.1007/s002530100801](https://doi.org/10.1007/s002530100801)
- Tudzynski, B & Sharon, A. (2002). Biosynthesis, biological role and application of fungal phytohormones. In: Osiewacz, H (Ed). *The mycota X Industrial applications*. Springer, Berlin Heidelberg, 183–211.
- Vega, F., Simpkins, A., Aime, M., Posada, F., Peterson, S., Rehner, S., Infante, F., Castillo, A & Arnold, E. (2010). Fungal endophyte diversity in coffee plants from Colombia, Hawai'i, Mexico and Puerto Rico. *Fungal Ecol*. 3: 122-138. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2009.07.002>