

Potencial de Microorganismos del suelo: Caracterización Morfológica, Molecular y Actividad Antifúngica Potential of Soil Microorganisms: Morphological, Molecular Characterization and Antifungal Activity

Juan Antonio Torres-Rodríguez^{1†} , Angel Virgilio Cedeño-Moreira¹ ,
Daisy Katherine Puente-Bosquez² , Genesis Alondra Molina-Sanchez² ,
Gerardo Zapata-Sifuentes^{3†} y Wilson Geobel Ceiro-Catasú⁴

¹ Universidad Técnica Estatal de Quevedo. km 1.5 vía a Santo Domingo de los Tsáchilas. 120501 Quevedo, Los Ríos, Ecuador; (J.A.T.R.), (A.V.C.M.).

[†] Autores para correspondencia: jatorres@uteq.edu.ec, gerardo.zapata@uaan.edu.mx

² Investigador Independiente. Calle José Joaquín de Olmedo y Juan Montalvo, San Camilo. 120304 Quevedo, Los Ríos, Ecuador; (D.K.P.B.), (G.A.M.S.).

³ Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Regional Laguna. Periférico Raúl López Sánchez, Valle Verde. 27054 Torreón, Coahuila, México; (G.Z.S.).

⁴ Estancia Posdoctoral por México, SECIHTI. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste. Av. Instituto Politécnico Nacional no. 195. Colonia Playa Palo de Santa Rita Sur. 23096 La Paz, Baja California Sur, México; (W.G.C.C.).

RESUMEN

En el suelo están presentes fitopatógenos que cuando las condiciones ambientales son favorables, infectan a las plantas, causando importantes pérdidas económicas. No obstante, microorganismos benéficos como *Trichoderma* spp. y *Pseudomonas* spp. son fundamentales para el control de estos fitopatógenos. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue la caracterización morfológica y molecular de microorganismos benéficos y evaluar su actividad antifúngica. Los aislados de *Pseudomonas* spp. mostraron diferencias en morfología de colonias y actividades enzimáticas, siendo ambos Gram negativos y positivos para catalasa y oxidasa. La identificación molecular identificó a los aislados como *P. aeruginosa* y *P. fluorescens*. Los aislados de *Trichoderma* spp. presentaron variabilidad en color, textura y capacidad de dispersión, siendo identificados como *T. harzianum* y *T. atroviride*. Los aislamientos de *Fusarium* spp. y *Phytophthora* spp. revelaron alta diversidad fenotípica en color de colonia, esporulación y morfología del micelio, siendo identificados como *F. oxysporum* y *P. palmivora*. Los ensayos de antagonismo mostraron que *T. harzianum* y *T. atroviride* inhibieron el crecimiento de *P. palmivora* y *F. oxysporum* en más del 70 y 80%, respectivamente. Estos resultados destacan la importancia de la identificación mediante métodos morfológicos y moleculares, lo cual es esencial para el uso efectivo de estos microorganismos en estrategias de biocontrol, promoviendo así prácticas agrícolas sostenibles. Además, los aislamientos de *T. harzianum*, *T. atroviride*, *P. aeruginosa* y *P. fluorescens* pueden ser una alternativa para el control de *F. oxysporum* y *P. palmivora*.

Palabras clave: control biológico, *Fusarium*, *Pseudomonas*, *Phytophthora*, *Trichoderma*.

SUMMARY

Phytopathogens are present in the soil that, when environmental conditions are favorable, infect plants, causing significant economic losses. However, beneficial microorganisms such as *Trichoderma* spp. and *Pseudomonas* spp. They are essential for the control of these phytopathogens. Therefore, the objective of this work was the morphological and molecular characterization of beneficial microorganisms and evaluate their antifungal activity. The isolates of *Pseudomonas* spp. showed differences in colony morphology and enzymatic activities, both being Gram negative and positive for catalase and oxidase. Molecular identification identified the isolates



Cita recomendada:

Torres-Rodríguez, J. A., Cedeño-Moreira, A. V., Puente-Bosquez, D. K., Molina-Sanchez, G. A., Zapata-Sifuentes, G., & Ceiro-Catasú, W. G. (2025). Potencial de Microorganismos del suelo: Caracterización Morfológica, Molecular y Actividad Antifúngica. *Terra Latinoamericana*, 43, 1-19. e2008. <https://doi.org/10.28940/terra.v43i.2008>

Recibido: 19 de junio de 2024.

Aceptado: 13 de septiembre de 2024.

Artículo. Volumen 43.

Mayo de 2025.

Editor de Sección:

Dr. Fernando Abasolo Pacheco



Copyright: © 2025 by the authors.

Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY NC ND) License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

as *P. aeruginosa* and *P. fluorescens*. The isolates of *Trichoderma* spp. They presented variability in color, texture and dispersion capacity, being identified as *T. harzianum* and *T. atroviride*. The isolates of *Fusarium* spp. and *Phytophthora* spp. revealed high phenotypic diversity in colony color, sporulation and mycelial morphology, being identified as *F. oxysporum* and *P. palmivora*. Antagonism assays showed that *T. harzianum* and *T. atroviride* inhibited the growth of *P. palmivora* and *F. oxysporum* by more than 70 and 80%, respectively. These results highlight the importance of identification through morphological and molecular methods, which is essential for the effective use of these microorganisms in biocontrol strategies, thus promoting sustainable agricultural practices. Furthermore, isolates of *T. harzianum*, *T. atroviride*, *P. aeruginosa* and *P. fluorescens* may be an alternative for the control of *F. oxysporum* and *P. palmivora*.

Index words: biological control, *Fusarium*, *Pseudomonas*, *Phytophthora*, *Trichoderma*.

INTRODUCCIÓN

La degradación progresiva del medio ambiente, ocasionada por los efectos negativos de los productos químicos sintéticos y el cambio climático, pone en peligro la productividad de las plantas (Antoszewski, Mierek y Dąbrowska, 2022; Torres-Rodríguez, Reyes, Adame, Llerena y Hernandez, 2024a). La base de la producción agrícola sostenible es el funcionamiento saludable del ecosistema del suelo (Pinto et al., 2024).

La diversidad de microorganismos (bacterias, protozoos, algas, nematodos y hongos) mejora la calidad del suelo al mantener la productividad biológica (Silva et al., 2023; Xin, 2024). Los microorganismos en el suelo interactúan para formar una red trófica, la cual refleja el estado, la funcionalidad y la calidad del suelo (Pinto et al., 2024).

Los microorganismos son una herramienta importante en la agricultura para prevenir pérdidas en los cultivos debido a infecciones por fitopatógenos y para aumentar la producción de alimentos a nivel mundial. Estos disminuyen la necesidad de pesticidas y fertilizantes químicos, ofreciendo una opción sostenible y respetuosa con el medio ambiente (Guzmán-Guzmán et al., 2023).

El género de *Trichoderma* son hongos cosmopolitas con más de 375 especies descritas en la actualidad (Ahedo-Quero, Aquino, Ortiz y García, 2024). Las especies de *Trichoderma* desempeñan funciones cruciales en los agroecosistemas al actuar como biofertilizante, degradar la materia orgánica, control de fitopatógenos y participar en interacciones multitróficas junto con los insectos (Ismail, Lakshman, Jambhulkar y Roberts, 2024; Wang et al., 2024). Por lo tanto, las investigaciones se han orientado en estudiar y utilizar las propiedades de las especies de *Trichoderma* para su aplicación en la agricultura, la industria y la biorremediación ambiental (Ahedo-Quero et al., 2024).

Las bacterias presentes en el suelo desempeñan una función crucial en los ciclos biogeoquímicos (Meng et al., 2022). Además, son esenciales en la descomposición de la materia orgánica y la formación de humus, contribuyendo así a la fertilidad del suelo (Raza et al., 2023). Las bacterias del suelo de vida libre, conocidas comúnmente como rizobacterias promotoras del crecimiento de las plantas (PGPR), son beneficiosas para el desarrollo vegetal ya que tienen la capacidad de colonizar las raíces y promover el crecimiento de las plantas (Kálmán, Nagy, Berényi, Kiss y Posta, 2024). Algunas bacterias simbióticas, como las rizobios, establecen relaciones beneficiosas con las raíces de las plantas, facilitando la fijación biológica del nitrógeno (Sepp et al., 2023). Además, son importantes como agentes de control biológico de diferentes fitopatógenos (Torres-Rodríguez et al., 2022a; Benaissa, 2024).

Las especies de *Pseudomonas* spp. contribuyen significativamente a la calidad del suelo (Angelina, Papatheodorou, Demirtzoglu y Monokrousos, 2020; Medeiros et al., 2020). Estas bacterias se encuentran en la rizosfera, la región del suelo influenciada por las raíces de las plantas. Las especies de *Pseudomonas* spp. promueven el crecimiento y desarrollo de las plantas y protegen contra los fitopatógenos transmitidos por el suelo (He, Pantigoso, Wu y Vivanco, 2019). Además, producen compuestos antimicrobianos y enzimas, que les permiten inhibir el crecimiento de microorganismos fitopatógenos. Se ha demostrado que *Pseudomonas* spp. presentan potencial como agente de control biológico contra diversos fitopatógenos de plantas, incluido el género *Phytophthora* (Zohara, Akanda, Paul, Rahman y Islam, 2016).

En el suelo también, se encuentran diversos fitopatógenos que pueden infectar a las plantas cuando las condiciones ambientales son favorables, como los fitopatógenos *Phytophthora* spp., *Fusarium* spp., *Rizoctonia* spp., entre otros (Chen, Modi y Picot, 2023; Nikitin et al., 2023). *Phytophthora* es un fitopatógeno hemibiotrófico capaz de infectar una amplia gama de huéspedes (McCarthy y Fitzpatrick, 2017; Perrine-Walker, 2020).

A nivel mundial, la pudrición negra de la vaina, causada por especies de *Phytophthora*, es la enfermedad más grave del cacao. Esta enfermedad provoca pérdidas significativas de vainas, que pueden alcanzar hasta el 30%, y la mortalidad del 10% de los árboles cada año (Guest, 2007; Acebo-Guerrero, Hernández, Heydrich, El Jaziri y Hernández, 2012).

Muchas especies del género *Fusarium* son responsables de causar enfermedades en las plantas que provocan elevadas pérdidas económicas (Nikitin et al., 2023). Las especies de *F. graminearum* y *F. oxysporum* se encuentran entre los cinco fitopatógenos que más daño ocasionan en las plantas, junto con el carbón, la roya y la podredumbre parda y gris (Sharma y Marques, 2018). Incluso con la llegada de nuevos fungicidas sintéticos, estos hongos tienen un alto potencial de adaptación para infectar plantas agrícolas (Rampersad, 2020). Los principales síntomas de la fusariosis vegetal son el marchitamiento y la pudrición de raíces y semillas (Nikitin et al., 2023). *F. oxysporum* es el fitopatógeno más importante del género *Fusarium* en términos de agricultura y economía (Ploetz, 2006). Se conocen más de 150 formas especiales de *F. oxysporum*, cada uno con un conjunto de huéspedes específicos. *F. oxysporum* provoca marchitez en muchos cultivos, como la soja, el plátano, el algodón, el tomate, entre otros (Sun et al., 2023; Rodríguez-Yzquierdo et al., 2023; Abdelraheem, Zhu, Stetina y Zhang, 2024; Maqsood et al., 2024).

Por lo tanto, resulta fundamental poder identificar los microorganismos benéficos y fitopatógenos presentes en el suelo y en cultivo de interés agrícola, con el objetivo de implementar medidas de manejo adecuadas y efectivas. Este trabajo se centra en la caracterización morfológica y molecular de microorganismos presentes en el suelo agrícola, como especies de *Trichoderma* spp. y *Pseudomonas* spp., y su actividad antifúngica *in vitro* contra *Fusarium oxysporum* y *Phytophthora palmivora*, promoviendo estrategias agrícolas sostenibles.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de Muestra de Suelo para Microorganismos Benéficos

Se colectaron muestras de suelos asociados con cultivos de musáceas en el cantón Mocache ubicado a 01° 06' 24" S, 79° 29' 70" O a una altitud de 75 m de altitud. Las muestras de suelo se recolectaron utilizando una barrena de 10 cm de diámetro. La porción central de los 2 cm superiores de las muestras se extrajo con una cuchara estéril. Las muestras se colocaron en fundas de polietileno estériles y se transportaron al laboratorio de Microbiología de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo.

Aislamiento de Microorganismo Benéficos: *Pseudomonas* spp. y *Trichoderma* spp.

Se tomó 1 g de muestra de suelo y se suspendió en 9 mL de agua estéril. Luego, se realizaron diluciones en serie hasta alcanzar una concentración de 10^{-6} . De cada dilución intermedia, se añadió 1 mL a 15 mL de medios de cultivo King B (peptona 10 g L⁻¹, sulfato de magnesio 1.5 g L⁻¹ y fosfato de potasio dibásico 1.5 g L⁻¹ y Agar 15 g L⁻¹) para *Pseudomonas* spp y agar papa dextrosa (PDA, Difco 39 g L⁻¹) para *Trichoderma* spp. Después de 48 h de incubación a 28 °C se seleccionaron los aislamientos de cada género en base a la morfología de las colonias y observaciones microscópicas. Posteriormente cada aislamiento fue purificado y almacenado en glicerol al 20% a -40 grados centígrados.

Identificación Morfológica de *Pseudomonas* spp. y *Trichoderma* spp.

Los aislados bacterianos fueron cultivados en King B a 28 °C durante 48 horas. Se identificaron basándose en las siguientes características morfológicas: color del micelio, forma, borde y elevación de las colonias, utilizando un microscopio estereoscopio (Olympus modelo S2) (Sousa, Machado, Nicolau y Pereira, 2013). Se determinó la producción de catalasa, mediante un frotis de cada cepa bacteriana en un portaobjetos de vidrio. Se añadió una gota de peróxido de hidrógeno (H₂O₂) y se observó la formación de burbujas, lo cual indica un resultado positivo. Para la prueba de oxidasa, se realizó un frotis de cada cepa bacteriana en un portaobjetos de vidrio. Se preparó el kit de "Oxidase Test Stick" en un microtubo con agua destilada. Luego, se añadieron 10 µL de la preparación a cada muestra y se observó la aparición de un color azul-púrpura para determinar si la oxidasa era positiva. Basándose en el cambio de color, las bacterias se distinguieron como oxidasa positiva (azul-púrpura) u oxidasa negativa (sin cambio de color). Además, se realizó la tinción de Gram siguiendo el protocolo estándar (Mahima, Amridha y Senan, 2020), utilizando cristal violeta, yodo de Lugol, alcohol acetona y safranina.

Para los aislamientos de *Trichoderma* spp., se cultivaron en placas de agar dextrosa papa (PDA) a 25 °C durante 7 días. Se realizaron observaciones regulares de la colonia bajo un microscopio óptico (Boeco, Germany) y se registraron características como el color y la forma de la colonia, la textura y la dispersión, el tamaño de los conidios y la formación de clamidosporas y conidióforos, siguiendo los criterios de Asis *et al.* (2021).

Aislamiento de Fitopatógenos del Suelo *Fusarium* spp. y *Phytophthora* spp.

Se recolectaron raíces de plantas de tomate que mostraban síntomas de fusariosis. El muestreo fue dirigido en un transecto en banda, seleccionando raíces de plantas que exhibían marchitez, ahorcamiento del tallo y amarillamiento de hojas. Para el aislamiento de *Phytophthora* spp. se tomaron muestras de frutos de cacao que mostraban síntomas de infección por *Phytophthora* spp. (lesiones firmes de color marrón/negro en las vainas) (Torres-Rodriguez, Reyes, Quiñones y Hernández, 2022b).

Las muestras se depositaron en fundas de plástico estériles, luego se colocaron en un contenedor y fueron trasladadas al laboratorio de Microbiología de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo para su procesamiento. Las raíces y vainas sintomáticos de *Fusarium* spp. y *Phytophthora* spp respectivamente, se procesaron cortando piezas (5 mm) de los márgenes de las lesiones que comprenden tejido sano y necrótico, desinfectando la superficie sumergiéndolas en etanol al 70% durante 20 s y secando al aire en papel de filtro esterilizado en autoclave. A continuación, se sembraron en placas Petri que contenían medio agar papa dextrosa (PDA, Difco 39 g L⁻¹) y medio V8 (jugo de verduras V8 un 20%, agar 20 g L⁻¹ y agua destilada 1 L), se incubaron a 28 °C por 7 días. Las colonias resultantes se purificaron en medios PDA y V8 y posteriormente se almacenaron en tubos inclinados a 4 grados centígrados.

Identificación Morfológica de *Fusarium* spp. y *Phytophthora* spp.

Se identificaron macroscópicamente los aislamientos de *Fusarium* spp. evaluando el color de la colonia, tipo de micelio y la categoría de esporulación. Las características microscópicas, como macroconidios, microconidios y clamidosporas, se determinaron utilizando un microscopio Olympus con un aumento de 40×. La identificación se llevó a cabo siguiendo las claves taxonómicas descritas por Summerell, Salleh y Leslie (2003). La identificación de *Phytophthora* spp. se llevó a cabo evaluando la morfología de la colonia en placas de V8 incubadas a 25 °C durante 5 días. Se determinó la morfología de la colonia, como la forma, textura y color de la colonias y la categoría de esporulación. Las características de las estructuras como, la forma de los esporangios, las clamidosporas, los pedicelos, las papilas y el esporangióforo, utilizando un microscopio Olympus a un aumento de 40× (Drenth y Sendall, 2001).

Identificación Molecular de *Pseudomonas* spp.

El ADN se extrajo siguiendo la metodología modificada de Ochoa, Hernández, Latisnere, de la-Luz y Larralde (2007). La amplificación por PCR de la secuencia del gen 16S ARNr de los aislados BMOJ1 y BMOJ2 se llevó a cabo utilizando los cebadores 27f (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') y 1492r (5'-GGTACCTTGTTACGACTT-3'). Las amplificaciones se realizaron en un termociclador con un periodo de desnaturalización a 95 °C durante 5 min seguido de 30 ciclos a 95 °C durante 1 min, 55 °C durante 30 s y 72 °C durante 90 s. Finalmente, una etapa de elongación a 72 °C durante 10 min. Las secuencias obtenidas se emplearon para realizar una búsqueda de homología de las secuencias 16S mediante el uso de BlastN, comparándolas con las secuencias disponibles en las bases de datos del NCBI.

Identificación Molecular de los Hongos (*Fusarium* spp., *Phytophthora* spp. y *Trichoderma* spp.)

Se realizó la identificación de los fitopatógenos (*Fusarium* spp. y *Phytophthora* spp.) (FMJ1 y PMJ1). La extracción de ADN de *Fusarium* spp., *Phytophthora* spp. y *Trichoderma* spp. se realizó de acuerdo con la metodología modificada de Ochoa *et al.*, (2007). La región ITS1-5.8S-ITS2 del rDNA se amplificó utilizando los cebadores ITS1 (5' TCCGTAGGTGAACCCTGCGG 3') e ITS4 (5' TCCTCCGCTTATTGATATGC 3'). Las reacciones de amplificación para *Fusarium* spp. incluyeron un período de desnaturalización inicial de 3 minutos a 95 °C, seguido de 30 ciclos que consistieron en una desnaturalización a 95 °C durante 1 minuto, una alineación a 50 °C durante

30 segundos y una extensión a 72 °C durante 1 minuto, concluyendo con una extensión final a 72 °C durante 10 minutos. El programa de PCR para *Phytophthora* spp. inició con una desnaturalización a 98 °C durante 30 s, seguido de 35 ciclos a 98 °C durante 10 s, 54 °C durante 20 s y 72 °C durante 35 s y un paso de extensión final a 72 °C durante 10 min. El programa de PCR para *Trichoderma* spp. inició con una desnaturalización a 95 °C durante 4 min, seguida de 35 ciclos a 95 °C durante 1 min, 58 °C durante 1 min y 72 °C durante 2 min y una extensión final a 72 °C durante 10 min. Las secuencias amplificadas se compararon con la base de datos GenBank del NCBI mediante el alineamiento local de secuencias nucleotídicas utilizando el programa BLAST.

Análisis Filogenético

El análisis filogenético se realizó utilizando el programa MEGA 12 (Molecular Evolutionary Genetic Analysis) (Kumar, Stecher, Knyaz y Tamura, 2018). Para la construcción del árbol filogenético, se empleó la secuencia ITS obtenida de Genewiz y secuencias de otras especies disponibles en el NCBI. Las secuencias fueron seleccionadas a través de una búsqueda de secuencias nucleotídicas homólogas a la secuencia ITS obtenida.

Las secuencias se alinearon utilizando MUSCLE (Edgar, 2004) por medio del programa Gblocks (Talavera y Castresana, 2007) dentro de la plataforma Phylogeny.fr (Dereeper et al., 2008). Se excluyeron los segmentos que tenían posiciones variables o gaps, eligiendo los bloques conservados a partir del alineamiento múltiple. Con las secuencias curadas se determinó el modelo de evolución de ADN de mejor ajuste con el programa MEGA 7.0.21 (Kumar et al., 2018). El análisis filogenético de *Fusarium* spp. y *Phytophthora* spp. se realizó mediante el método de máxima parsimonia (MP), utilizando el modelo Kimura-2 parameter (Tamura, Stecher y Kumar, 2021) y distribución Gama. El análisis filogenético de *Trichoderma* spp. se realizó por el método de unión de vecinos (NJ), usando el modelo Jukes-Cantor (Tamura, Stecher y Kumar, 2021) y distribución Gama. Para *Pseudomonas* spp. se utilizó el método de unión de vecinos (NJ), usando el modelo Hasegawa-Kishino-Yano (Tamura, Stecher y Kumar, 2021) y distribución Gama. Para todos los análisis filogenéticos se utilizó 10 000 repeticiones (bootstrap).

Actividad Antifúngica *in vitro* de *Pseudomonas* spp. y *Trichoderma* spp. contra *Fusarium* spp. y *Phytophthora* spp.

La actividad antifúngica *in vitro* se determinó en placas de Petri mediante el método de cultivo dual. Un disco de 5 mm de cada aislado de *Pseudomonas* spp. o *Trichoderma* spp. se colocó a 10 mm del borde de las placas Petri con medio PDA. En el centro de cada placa, se ubicó un disco de 5 mm de *Fusarium* sp. o *Phytophthora* sp. procedente de un cultivo de 5 días en PDA y V8, respectivamente.

Un grupo de placas Petri se inoculó únicamente con *Fusarium* sp. y *Phytophthora* sp. (control).

Las placas se incubaron a 28 °C durante 7 días. El porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR, %) del hongo se determinó utilizando la fórmula: $PICR: [(R1-R2)/R1] \times 100\%$ donde R1 es el crecimiento radial del hongo en la placa de control y R2 es el crecimiento del hongo en dirección hacia los microorganismos benéficos (Azadeh, Sariah y Wong, 2010). Se realizaron cinco repeticiones por tratamiento y el experimento se repitió dos veces.

Análisis Estadístico

Para la actividad antifúngica *in vitro* se determinó la normalidad de los datos mediante la prueba de Shapiro-Wilk y la homogeneidad de las varianzas mediante la prueba de Bartlett. Los datos se analizaron mediante análisis de varianza unidireccional (ANOVA) utilizando el software STATISTICA 10.0 (StatSoft, 2011) y se utilizó la prueba de comparación múltiple de media de Tukey ($P < 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El aislamiento BMOJ1 (*P. aeruginosa*) presentó colonias de color blanco con una morfología irregular, elevación plana y borde ondulado. BMOJ2 (*P. fluorescens*) presentó colonias de color verde amarillo, con una morfología irregular, elevación convexa y borde lobulado (Cuadro 1). En cuanto a la tinción de Gram, ambos aislados fueron Gram negativos, lo que indica la presencia de una pared celular compuesta principalmente por una delgada capa de peptidoglicano y una membrana externa rica en lipopolisacáridos. Las pruebas bioquímicas revelaron que ambos aislados fueron positivos para las enzimas catalasa, los cuales presentaron una reacción abundante. Respecto a la oxidasa los aislados presentaron una reacción moderada (+) (Cuadro 1).

Cuadro 1. Características morfológicas y bioquímicas de *Pseudomonas* spp.**Table 1. Morphological and biochemical characteristics of *Pseudomonas* spp.**

Aislado	Zona	Color	Colonia	Elevación	Forma de borde	Tinción Gram	Catalasa	Oxidasa
BMOJ1	Mocache	Verde azulado	Irregular	Plana	Ondulada	Negativa	++	+
BMOJ2	Mocache	Verde amarillento	Irregular	Convexa	Lobulado	Negativa	++	+

Reacción abundante = ++; Reacción moderada = +.

Abundant reaction = ++; Moderate reaction = +.

Las diferencias en la morfología de las colonias pueden estar relacionadas con variaciones en la composición de la membrana celular (Tavares *et al.*, 2020; De Benedetti, Fisher y Mobashery, 2021). Manasa, Reddy, Triveni y Manasa (2017), reportaron a *Pseudomonas* con coloraciones verde-amarillentas y con pigmentación verde-claro hasta blanco apagado sin pigmentación, además de mostrar una variedad de formas y elevaciones. También, Soesanto, Mugiasuti y Rahayuniati (2011) reportaron aislamiento de *Pseudomonas* que presentaba color amarillo verdoso, elevación convexa y circular, resultados en correspondencia a este trabajo.

La acción principal que llevan a cabo las células bajo estrés oxidativo es la eliminación de agentes oxidantes (Romsang, Dubbs y Mongkolsuk, 2016). La desintoxicación de especies reactivas de oxígeno se realiza mediante enzimas especializadas, como la catalasa, el superóxido dismutasa, la peroxidasa, que catalizan la conversión de estas especies en sustancias menos tóxicas. Son enzimas esenciales para la supervivencia de las bacterias bajo estrés oxidativo (Da Cruz-Nizer *et al.*, 2021). La presencia de catalasa sugiere que ambas bacterias pueden descomponer especies reactivas de oxígeno, protegiéndose así del estrés oxidativo. La actividad oxidasa indica la presencia de citocromo c oxidasa, implicada en la cadena de transporte de electrones y la producción de energía (Kadenbach, Ramzan, Wen y Vogt, 2010; Brischigliaro y Zeviani, 2021). Estos resultados muestran la diversidad fenotípica entre los aislados bacterianos de la misma región. Las diferencias en las características morfológicas y bioquímicas pueden influir en su adaptación al entorno.

En la Figura 1 se presenta el árbol filogenético de los aislamientos de basados en las secuencias de ARNr 16S, se utilizó *Ralstonia solanacearum* (NR_044040.1) como grupo externo (outgroup) para enraizar el árbol filogenético. Las secuencias identificadas como BMOJ1 y BMOJ2, indicadas por diamantes negros en el árbol, mostraron relaciones taxonómicas dentro del género *Pseudomonas*. La secuencia BMOJ1 se agrupa con *P. aeruginosa* formando un clado con un valor de soporte bootstrap del 100%. Este agrupamiento sugiere que BMOJ1 está estrechamente relacionada con estas especies. La secuencia BMOJ2 se agrupa con *P. fluorescens* (NR_043420.1 y NR_114476.1). Este resultado sugiere que BMOJ2 está estrechamente relacionada con *P. fluorescens*, la cual es una especie reconocida como agente de control biológico y promotora del crecimiento de las plantas.

La identificación molecular de las especies es muy importante en la agricultura y el control biológico, ya que permite una gestión precisa y eficiente de los cultivos y fitopatógenos. Mediante técnicas de secuenciación de ADN, se puede identificar tanto a los fitopatógenos como a los agentes de control biológico, facilitando la implementación de estrategias de control biológico efectivas y sostenibles (Gerace *et al.*, 2022; Torres-Rodríguez *et al.*, 2024b).

El Cuadro 2 presenta las características morfológicas de dos aislados de *Trichoderma* spp.: TC191 y TCUE16. El aislado TC191 mostró un color verde con una textura algodonosa, mientras que TCUE16 presentó un color verde olivo con una textura granular. Estas diferencias en color y textura son indicativas de la variabilidad fenotípica dentro del género *Trichoderma* y pueden reflejar diferencias en las condiciones de crecimiento o en la composición genética de los aislados (Martínez, Infante y Peteira, 2015).

Cuadro 2. Características morfológicas de *Trichoderma* spp.**Table 2. Morphological characteristics of *Trichoderma* spp.**

Cepa	CC	Textura	FC	Dispersión	TC	FCS	FCF
					µm		
TC191	Verde	Algodonosa	Redonda con discos concéntricos	Sin dispersión	2.7	No	Ramificado
TCUE16	Verde olivo	Granular	Filamentosa	Pequeñas colonias alrededor de la placa	3.4	No	Ramificado

CC = color de la colonia; FC = forma de la colonia; TC = tamaño de conidios; FCS = formación de clamidosporas; FCF = forma de los conidióforos.

CC = colony color; FC = colony shape; TC = conidia size; FCS = chlamydospore formation; FCF = shape of the conidiophores.

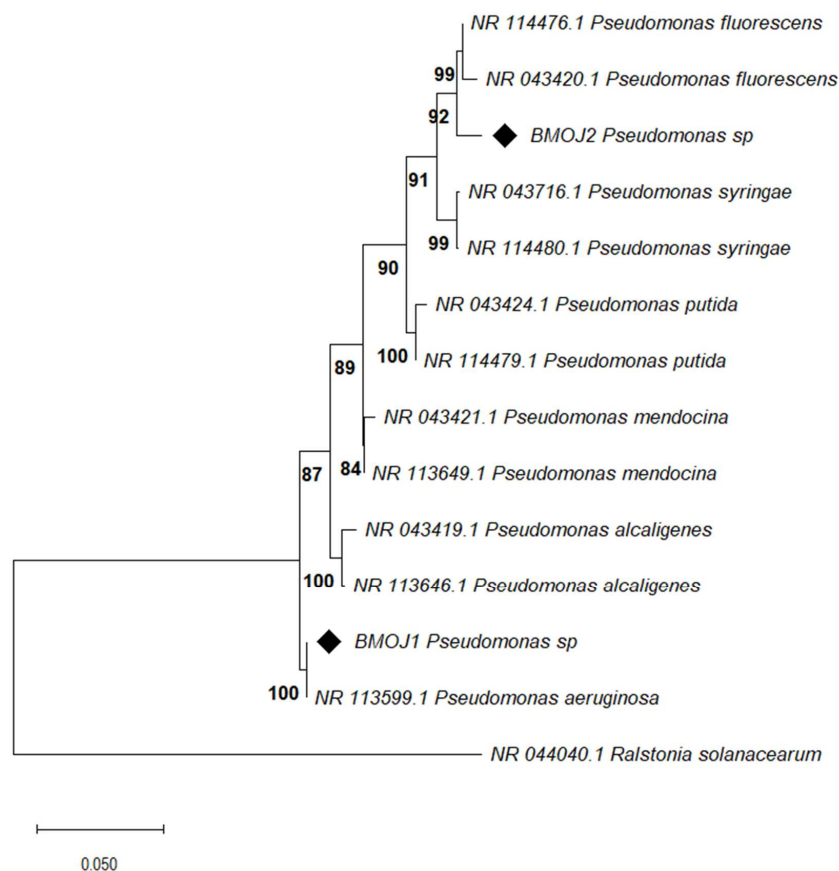


Figura 1. Árbol filogenético de *Pseudomonas* spp. basado en el gen 16S ARNr. Los valores de bootstrap se indican como porcentajes sobre los nodos (10 000 bootstrap). Los números de acceso a GenBank preceden a los nombres de cada especie.

Figure 1. Phylogenetic tree of *Pseudomonas* spp. based on the 16S rRNA gene. Bootstrap values are indicated as percentages over nodes (10 000 bootstraps). GenBank accession numbers precede the names of each species.

La forma de la colonia de TC191 fue redonda con discos concéntricos, mientras que TCUE16 presentó forma filamentosa. El aislado TC191 no mostró dispersión, lo que podría implicar una menor capacidad de propagación en el entorno. En contraste, TCUE16 formó pequeñas colonias alrededor de la placa, indicando una capacidad dispersiva mayor. La alta capacidad de dispersión de *Trichoderma* spp. es crucial para el biocontrol, ya que mejora su eficacia en el control de fitopatógenos. La capacidad de dispersión le permite a *Trichoderma* spp. colonizar rápidamente grandes áreas y competir eficazmente contra fitopatógenos, facilitando la reducción de enfermedades en plantas y disminuyendo la dependencia de pesticidas químicos (Manzar *et al.*, 2022; Guzmán-Guzmán *et al.*, 2023). El tamaño de los conidios fue de 2.7 μm en TC191 y de 3.4 μm en TCUE16. Ambos aislamientos presentaron conidióforos ramificados, una característica típica de especies de *Trichoderma*, que facilita la producción de esporas y la colonización del sustrato (Mukhopadhyay y Kumar, 2020; Cao *et al.*, 2023).

La capacidad de *Trichoderma* spp. para crecer rápidamente y adaptarse a diversos sustratos ha facilitado su aislamiento en una variedad de suelos en todo el mundo (Al-Ani, 2018; Bononi, Chiaramonte, Pansa, Moitinho y Melo, 2020). Se ha demostrado en suelos asociados a los cultivos de musáceas la presencia de especies de *Trichoderma* (Correa-Delgado, Brito, Jaizme y Laich, 2024). Asis *et al.* (2021) reportaron resultados similares en especies de *T. harzianum* a las obtenidas en este trabajo, como micelio de color amarillento a verde, tamaño de conidios entre 1.0 y 3.0 μm y conidióforos ramificados. También, Silva *et al.* (2022), reportaron que especies de *Trichoderma* presentaban coloración color verde oscuro y la formación de conidios ovóides con un tamaño promedio de 3.60 μm . Sebumpun *et al.* (2022) reportaron la formación de anillos concéntricos y una textura que varió desde algodonosa a granular en especies de *Trichoderma asperellum*.

La comparación de toda la región ITS (ITS1, 5.8S rDNA e ITS4) de los aislados de *Trichoderma* spp. TCUE16 y TC191 con las previamente depositadas en el GenBank reveló que la similitud genética más cercana (99.61 y 100%) de la secuencia ITS generada era con *Trichoderma atroviride* y *Trichoderma harzianum*, respectivamente.

Las secuencias de *Trichoderma* spp. (indicada por un diamante negro) se analiza en dos posiciones diferentes dentro del árbol filogenético, representando a los aislados TCUE16 y TC191. La secuencia de TCUE16 se agrupa con *Trichoderma atroviride* (EU595035.1 y MT626715.1) con un soporte bootstrap del 95%. Este alto valor de bootstrap indica una fuerte relación evolutiva entre TCUE16 y *Trichoderma atroviride*, sugiriendo que comparten un ancestro común reciente. *Trichoderma atroviride*, es un agente de control biológico, que presenta capacidad de antagonismo contra diversos fitopatógenos (Liu *et al.*, 2023) (Figura 2).

La secuencia de TC191 se agrupa en un clado con *T. harzianum* (OL631236.1 y FJ884182.1) con un soporte bootstrap del 100%. Este valor alto de bootstrap proporciona evidencia de una relación evolutiva muy cercana entre TC191 y *T. harzianum*. *T. harzianum* es otra especie reconocida por su eficacia en el control de fitopatógenos y su uso extensivo en prácticas agrícolas (Swathy, Nisha y Vivekanandhan, 2024) (Figura 2). En la actualidad las secuencias ITS son una opción para la identificación de aislados de *Trichoderma* a nivel de especie (Almaghasla, El-Ganainy y Ismail, 2023; Chan *et al.*, 2023).

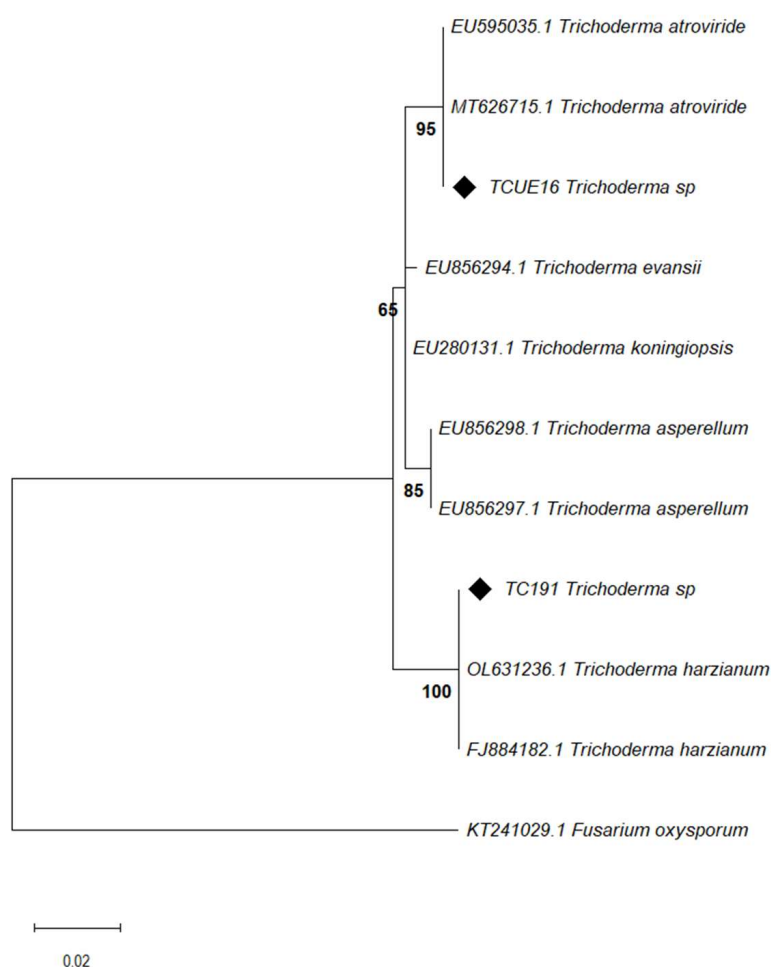


Figura 2. Árbol filogenético de *Trichoderma* spp de la región ITS1-5.8s-ITS2. Los valores de bootstrap se indican como porcentajes sobre los nodos (10 000 bootstrap). Los números de acceso a GenBank preceden a los nombres de cada especie.

Figure 2. Phylogenetic tree of *Trichoderma* spp from the ITS1-5.8s-ITS2 region. Bootstrap values are indicated as percentages over nodes (10 000 bootstraps). GenBank accession numbers precede the names of each species.

En la caracterización de *Fusarium* spp., se observaron diferencias en el tipo de micelio, el color de la colonia y la esporulación entre los distintos aislados, lo que sugiere variabilidad fenotípica. El aislado FMJ1 mostró una esporulación abundante (+++), con un micelio aéreo abundante y flocoso. Este tipo de crecimiento sugiere una cepa altamente virulenta y con capacidad de dispersión significativa, debido a la densidad y la estructura del micelio (Wang *et al.*, 2021; Ajmal, Hussain, Ali, Chen y Lin, 2022; Yang *et al.*, 2024). El aislado FMJ3, por otro lado, presentó una esporulación moderada (+) y un micelio algodonoso blanquecino con un centro café claro. Los aislados FMJ5 y FMJ6 presentaron una esporulación buena (++) y un micelio aéreo disperso (Cuadro 3). La variabilidad observada en los aislamientos de *Fusarium* spp. es consistente con la literatura, que indica una alta diversidad morfológica dentro de este género (Summerell *et al.*, 2003). Estas diferencias fenotípicas son importantes para entender el comportamiento de las cepas y su posible impacto en los cultivos afectados.

Las cuatro cepas evidenciaron características propias de especies de *Fusarium*, la coloración del micelio puede variar entre tonos de amarillo, crema, rosa, entre otros (Summerell *et al.*, 2003; Vignesh, Rajamohan, Balabaskar y Anandan, 2021). Esta variabilidad en el color puede deberse a factores genéticos que regulan la producción de pigmentos y a factores ambientales como la temperatura, la luz, la disponibilidad de nutrientes y el pH del medio de cultivo (Rahman *et al.*, 2021; Nikitin *et al.*, 2023). Estos resultados son semejantes a los reportados por Chopada, Singh y Chandulal (2015) en su investigación, donde los aislados produjeron un crecimiento moderado, algodonoso, con pigmentación blanca, amarilla, rosa claro, rosa oscuro, naranja y púrpura anaranjada. Un micelio abundante podría indicar un mayor crecimiento del hongo y su capacidad para colonizar el tejido vegetal (Summerell *et al.*, 2003; Yang *et al.*, 2024).

El análisis de las estructuras microscópicas de los aislamientos de *Fusarium* spp. reveló diferencias en la morfología de macroconidias, microconidias y clamidosporas (Cuadro 4). Las macroconidias presentaron diferencias en cuanto a su forma y número de septos. El aislamiento FMJ1 mostró macroconidias semicurvas con 4-5 septos, mientras que FMJ2 y FMJ4 presentaron macroconidias rectas con 3 y 4-5 septos, respectivamente. Por otro lado, FMJ3 exhibió macroconidias curvadas con 3-4 septos.

En cuanto a las células apicales y basales de las macroconidias, todos los aislamientos, excepto FMJ3, mostraron una célula apical romo. Todas las células basales de los aislamientos presentaron forma de pie, lo que es característico de *Fusarium* spp. Las microconidias también mostraron variaciones significativas. FMJ1 y FMJ3 presentaron microconidias fusiformes, mientras que FMJ2 mostró microconidias reniformes. Las clamidosporas en todos los aislamientos fueron observadas en pares y con paredes lisas (Cuadro 4).

Los estudios morfológicos, ayudan en la clasificación taxonómica y la identificación de especies de *Fusarium* (Harish *et al.*, 2023). Los macroconidios presentaron de tres a cinco septos con forma curva, semicurva y recta, resultados similares a los reportados por Tilahun, Abate, Tilahun y Taye (2024). Nawade, Talaviya, Vyas, Jadeja y Golakiya (2017) observó que las microconidias eran pequeñas, de una a dos células con forma oval a reniforme y oval a oblonga con ligera curvatura, resultados en correspondencia a este trabajo. La presencia de clamidosporas formando grupos o individuales, es una característica común de especies de *Fusarium* (Garibaldi, Gilardi, Ortu y Gullino, 2016).

Ramesha y Naik (2017) reportaron diferencias morfológicas en cuanto a la forma de las micro y macroconidias, así como variación en el número de septos en cada cepa, resultados en correspondencia a los de este trabajo. Las diferencias morfológicas de los aislados en la forma y el número de septos de las macroconidias, también fueron reportados por Harish *et al.* (2023).

Cuadro 3. Caracterización macroscópica de *Fusarium* spp.
Table 3. Macroscopic characterization of *Fusarium* spp.

Aislado	Color de la colonia	Esporulación	Tipo de micelio
FMJ1	Rosa	+++	Micelio aéreo abundante y flocoso, color blanquecino y centro rosado
FMJ3	Crema	+	Micelio aéreo escaso algodonoso, blanquecino y centro café claro
FMJ5	Amarillo pálido	++	Micelio aéreo disperso y flocoso, color crema
FMJ6	Amarillo pálido	++	Micelio aéreo disperso, color blanquecino

Categoría de esporulación: abundante +++; bueno = ++; moderado = +.
Sporulation category: abundant +++; good = ++; moderate = +.

Cuadro 4. Características de las estructuras microscópicas de *Fusarium* spp.
Table 4. Characteristics of the microscopic structures of *Fusarium* spp.

Aislado	Macroconidia						Clamidosporas
	Forma	Septo	Célula apical	Célula basal	Forma	Septo	
FMJ1	Semicurva	4-5	Romo	Forma de pie	Fusifforme	0-1	Pareada, pared lisa
FMJ2	Recta	3	Romo	Forma de pie	Reniforme	0	Pareada, pared lisa
FMJ3	Curveada	3-4	Papilado	Forma de pie	Fusifforme	0-1	Pareada, pared lisa
FMJ4	Recta	4-5	Romo	Forma de pie	Fusifforme	0-1	Pareada, pared lisa

Las clamidosporas de *Fusarium* son cruciales para la supervivencia del hongo en condiciones ambientales adversas. Estas esporas permiten que el hongo permanezca viable en el suelo incluso sin un huésped. Cuando las condiciones mejoran, las clamidosporas actúan como inóculos principales, iniciando infecciones en las plantas (Hou, Hsu, Wang, Lai y Chen, 2020; Bahadur, 2021). Por tanto, las enfermedades por *Fusarium* spp. se encuentran entre las más difíciles de controlar.

Las diferencias morfológicas en los aislamientos de *Fusarium*, especialmente en la forma y el número de septos de macroconidias y microconidias, son características fundamentales que influyen en su identificación.

La comparación de toda la región ITS (ITS1, 5.8S rDNA e ITS4) del aislado de *Fusarium* sp. con las previamente depositadas en el GenBank mostró una cobertura del 100% con una identidad del 100% con *F. oxysporum* (MH169581.1). La secuencia de *Fusarium* sp. (indicada por un diamante negro) se agrupa en un clado con *F. oxysporum*, específicamente con las secuencias MH169581.1 y KY307805.1. Este clado tiene un soporte bootstrap del 100%, lo que proporciona una fuerte evidencia de que estas secuencias comparten un ancestro común reciente. La alta confiabilidad de este clado sugiere que la secuencia de *Fusarium* sp. está estrechamente relacionada con *F. oxysporum* (Figura 3).

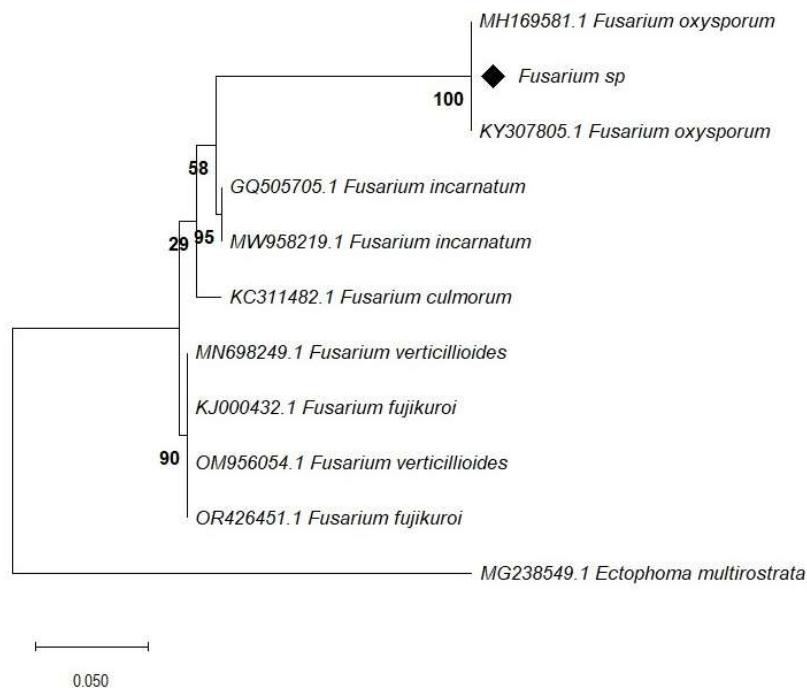


Figura 3. Árbol filogenético de *Fusarium* sp de la región ITS1-5.8s-ITS2. Los valores de bootstrap se indican como porcentajes sobre los nodos (10 000 bootstrap). Los números de acceso a GenBank preceden a los nombres de cada especie.

Figure 3. Phylogenetic tree of *Fusarium* sp from the ITS1-5.8s-ITS2 region. Bootstrap values are indicated as percentages over nodes (10 000 bootstraps). GenBank accession numbers precede the names of each species.

La identificación a nivel de especie tiene implicaciones importantes para el manejo y control de especies de *Fusarium* en contextos agrícolas y medioambientales (Torres-Rodriguez *et al.*, 2024a); Ekwomadu y Mwanza, 2023). La combinación de métodos morfológicos y moleculares son importantes, para lograr una identificación precisa de las especies de *Fusarium* (Singha, Kakoty, Unni, Das y Kalita, 2016). Además, *Fusarium* puede permanecer en el suelo por décadas, incluso sin la presencia de una planta huésped, por lo tanto, es necesario la identificación precisa para la toma de medidas (Bell *et al.*, 2019).

Se observaron cuatro aislados distintos de *Phytophthora* spp., denominados PMJ1, PMJ2, PMJ3 y PMJ4. El aislado PMJ1 mostró una forma estriada y un color blanquecino, con una esporulación abundante (+++). En comparación, los aislados PMJ2 y PMJ4 presentaron una forma sumergida y radiada, también con un color blanquecino, pero con una esporulación limitada (+). El aislado PMJ3 exhibió forma estriada y un color blanquecino, con una esporulación moderada (++) (Cuadro 5).

El análisis morfológico de los aislados de *Phytophthora* spp. mostraron diferencias en las características de forma y esporulación, demostrando la complejidad de este grupo de fitopatógenos. Castillo y González (2015) han observado características morfológicas similares a las obtenidas en este trabajo, los autores reportaron colonias en formas de anillos concéntricos y arrosetadas. Se ha demostrado que las colonias de algunas especies de *Phytophthora* presentan patrones concéntricos y arrosetados con un color blanquecino (Abad *et al.*, 2023a y 2023b). Otro estudio sobre *P. palmivora* también describe colonias con crecimiento micelial blanco, lo que coincide con nuestros resultados (Decloquement *et al.*, 2021). Los aislados con esporulación abundante, podrían presentar mayor potencial de dispersión.

Todos los aislados presentaron esporangios de forma ovoide. Los aislados PMJ1, PMJ2 y PMJ4 exhibieron esporangios papilados (P), mientras que el aislado PMJ3 mostró esporangios semipapilados (SP). En cuanto al pedicelo, todos los aislados tuvieron pedicelos cortos, y los esporangióforos fueron del tipo simple simpodial (SS). Los aislados PMJ1 y PMJ3 mostraron una abundante presencia de clamidosporas terminales (CT) e intercaladas (Cli), mientras que PMJ2 presentó una limitada presencia de clamidosporas (CT y Cli). PMJ4 solo presentó clamidosporas terminales (CT) y en una cantidad limitada (Cuadro 6).

Todos los aislados mostraron la presencia de esporangios y clamidosporas, resultados que concuerdan en la investigación realizada por Alsultan *et al.* (2022). Los esporangios, presentaron forma ovoide con pedicelos cortos, resultados similares a los obtenidos por Van-Tran, Ha, Vvedensky y Han (2023). En el presente estudio se detectó esporangióforos simples simpódicos en todos los aislados, similares a los resultados de Kuswinanti, Patandjengi y Hardina (2023). Karyath-Palliyath *et al.* (2021) indicó en su investigación la presencia de clamidosporas intercalares y clamidosporas terminales, concordando con los resultados obtenidos en este trabajo.

Las diferencias en la presencia de clamidosporas podrían estar asociadas a la capacidad de supervivencia y dispersión de los aislados en condiciones ambientales adversas (Judelson y Blanco, 2005). Los aislados con abundantes clamidosporas, como PMJ1 y PMJ3, podrían mantenerse por un mayor tiempo en el suelo e infestar nuevas plantas hospederas. La diversidad morfológica de los aislados de *Phytophthora* spp., puede influir en su comportamiento patogénico y en las estrategias de manejo necesarias para controlar las enfermedades que causan.

El análisis de identificación molecular reveló que el aislamiento PMJ1, se identificó como *Phytophthora palmivora*, el cual mostró una cobertura del 100% con una identidad del 100% en la secuencia registrada en la base de datos NCBI/GenBank bajo el número de acceso MG434772.1. La secuencia de *Phytophthora* sp. (indicada por un diamante negro) se agrupa en un clado con *P. palmivora* (MG434772.1 y KY475632.1), con un soporte bootstrap del 100%. Este alto valor de bootstrap indica una fuerte evidencia de que estas secuencias comparten un ancestro común reciente, sugiriendo que *Phytophthora* sp. está estrechamente relacionada con *P. palmivora* (Figura 4).

Cuadro 5. Características morfológicas de los aislados de *Phytophthora* spp.
Table 5. Morphological characteristics of *Phytophthora* spp isolates.

Aislado	Forma	Color	Textura	Esporulación
PMJ1	Estriada	Blanquecina	Esponjosa	+++
PMJ2	Sumergida y radiada	Blanquecina	Laxa	+
PMJ3	Estriada	Blanquecina	Esponjosa	++
PMJ4	Sumergida y radiada	Blanquecina	Laxa	+

Categoría de esporulación: abundante = +++; moderado = ++; limitado = +.
Sporulation category: abundant = +++; moderate = ++; limited = +.

Cuadro 6. Características de las estructuras reproductivas de los aislados de *Phytophthora* spp.
Table 6. Characteristics of the reproductive structures of *Phytophthora* spp. isolates

Aislado	E esporangio				Clamidosporas	
	Forma	Papila	Pedicelo	Esporangióforo	Forma	Presencia
PMJ1	Ovoide	P	Corto	SS	CT, Cli	Abundante
PMJ2	Ovoide	P	Corto	SS	CT, Cli	Limitada
PMJ3	Ovoide	SP	Corto	SS	CT, Cli	Abundante
PMJ4	Ovoide	P	Corto	SS	CT	Limitado

SP = semipapilado; P = papilado; SS = simple simpodial; Cli = clamidospora intercalar; CT = clamidospora terminal.

SP = semipapillary; P = papillary; SS = simple sympodial; Cli = intercalary chlamydospore; CT = terminal chlamydospore.

La correcta identificación de los fitopatógenos no solo es vital para vincular el conocimiento sobre una especie, como su biología, rango de huéspedes, distribución y riesgo potencial (Bhunjun, Philips, Jayawardena, Promputtha y Hyde, 2021), también es importante para desarrollar estrategias específicas de manejo. En nuestra investigación, esta identificación permite seleccionar y evaluar microorganismos antagonistas de manera efectiva, optimizando las medidas de control biológico y mejorando la sostenibilidad agrícola.

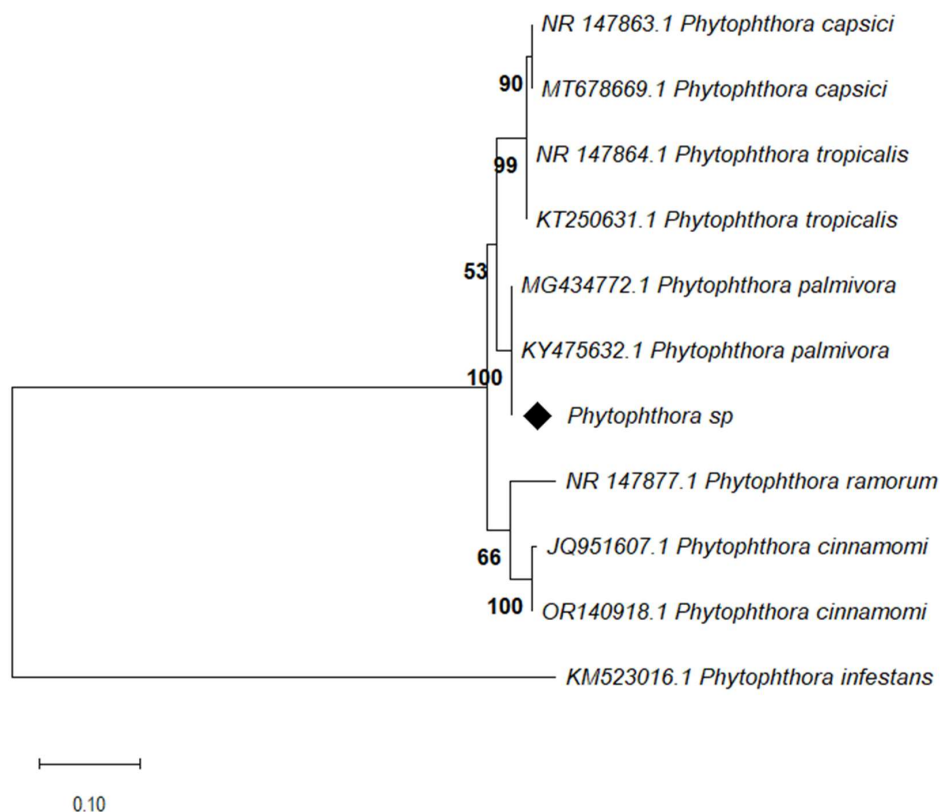


Figura 4. Árbol filogenético de *Phytophthora* spp. de la región ITS1-5.8s-ITS2. Los valores de bootstrap se indican como porcentajes sobre los nodos (10 000 bootstrap). Los números de acceso a GenBank preceden a los nombres de cada especie.

Figure 4. *Phytophthora* spp. phylogenetic tree. of the ITS1-5.8s-ITS2 region. Bootstrap values are indicated as percentages over nodes (10 000 bootstraps). GenBank accession numbers precede the names of each species.

Un estudio realizado por Abdul-Haq, Shahzad, Lodhi y Rajput (2024) utilizó la secuenciación de ITS1-5.8S-ITS2 para identificar especies de *Phytophthora*. Otro estudio de Seddaiu y Linaldeddu (2020) utilizó la secuenciación ITS1-5.8S-ITS2 para caracterizar molecularmente aislamientos de *Phytophthora* spp., resultados similares a los obtenidos en esta investigación. También, El-Hasan, Ngatia, Link y Voegelé (2022) utilizaron la secuenciación ITS1-5.8S-ITS2 para identificación y caracterización de *P. infestans*. En el estudio actual, existió una alta relación entre el análisis filogenético de los aislados y sus correspondientes coincidencias BLAST más cercanas, como lo demuestra el alto soporte de arranque en los nodos terminales.

La Figura 5 muestra la inhibición de crecimiento micelial (PICR) de *F. oxysporum* en presencia de diferentes agentes de control biológico: *T. harzianum*, *T. atroviride*, *P. fluorescens* y *P. aeruginosa*. Los resultados indicaron que *T. harzianum* y *T. atroviride* presentan una alta eficacia en la inhibición de *F. oxysporum*, con porcentajes de superiores del 80%, significativamente mayores en comparación con *P. fluorescens* y *P. aeruginosa* (Figura 5).

Las pruebas de antagonismo revelan tanto la capacidad como la variabilidad genética del antagonista y del fitopatógeno para resistir la interacción antagonista. Estos ensayos facilitan una selección inicial para su evaluación en condiciones de campo, permitiendo determinar su eficacia como agentes de control biológico (Carmona-Hernández et al., 2019).

Las estrategias actuales de control de *Fusarium* spp. a menudo no tienen éxito debido al desarrollo de resistencia química y a la falta de cultivares de plantas resistentes a las enfermedades (Goncharov, Glebova y Tiunov, 2020). Las cepas de *T. viride* y *T. harzianum* mostraron eficacia antagonista contra los fitopatógenos fusariales causantes de la pudrición del tallo del maíz. La cepa *T. harzianum* suprimió el crecimiento micelial de *F. proliferatum* y *F. verticillioides* en un 68.38 y 60.64%, mientras que la cepa *T. viride* lo hizo en un 80.17 y 70.46%, respectivamente (Yassin, Mostafa, Al-Askar, Sayed y Rady, 2021a). Sin embargo, nuestros resultados fueron superiores, logrando inhibir el crecimiento micelial de *F. oxysporum* en más del (80%).

Un estudio demostró que *T. harzianum* presentó actividad antagonista contra *F. oxysporum* en un 72.77% mediante mecanismos tanto mecánicos como enzimáticos (Chen et al., 2021). Otro estudio informó que *T. harzianum* inhibió el crecimiento de diferentes especies de *Fusarium* hasta en un 84.4%, resultados en correspondencia con nuestro trabajo (Yassin, Mostafa y Al-Askar, 2021b).

Los mecanismos de actividad antagonista de *Trichoderma* spp. incluyen antibiosis, micoparasitismo, resistencia inducida y exclusión de nichos (Wells, 2023). La antibiosis implica la producción de varios compuestos antimicrobianos que funcionan como inhibidores del crecimiento de fitopatógenos (Ali-Nusaibah y Musa, 2019; Kubheka y Ziena, 2022). Durante el proceso de micoparasitismo, las paredes celulares de los fitopatógenos son degradadas por enzimas producidas por especies de *Trichoderma* (Manzar et al., 2022; Yao et al., 2023). Además, existe competencia entre *Trichoderma* spp. y fitopatógenos en busca de sitios de infección y nutrientes, lo que se conoce como exclusión de nichos (Oszust, Cybulska y Frąc, 2020; Dutta et al., 2023).

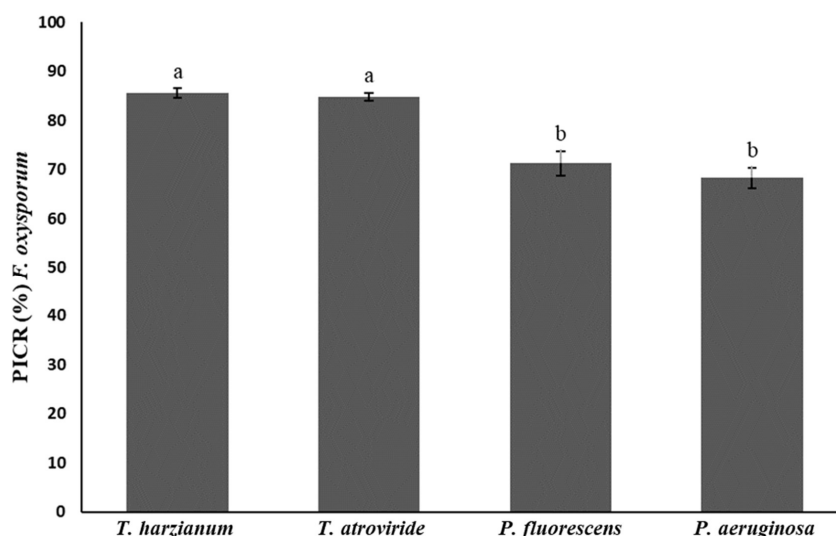


Figura 5. Actividad antifúngica de microorganismos benéficos contra *F. oxysporum*.

Medias con letras iguales en las columnas no difieren significativamente según Tukey ($P \leq 0.05$). $\pm$ Desviación estándar.

Figure 5. Antifungal activity of beneficial microorganisms against *F. oxysporum*.

Means with equal letters in the columns do not differ significantly according to Tukey ($P \leq 0.05$). $\pm$ Standard deviation.

Riera *et al.* (2023), encontraron que *P. fluorescens* inhibió significativamente el crecimiento de *F. oxysporum*, demostrando una fuerte actividad antagonista. También, en otro estudio *P. fluorescens* inhibió el crecimiento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *cumini* en un 82.51%, resultados similares a esta investigación (Rathore, Vakharia y Rathore, 2020). Los principales mecanismos de actividad antifúngica de *Pseudomonas* spp. son la producción de metabolitos bioactivos, como lipopéptidos, sideróforos, policétidos y compuestos volátiles (Caulier *et al.*, 2018).

Las especies de *Phytophthora* producen diferentes tipos de esporas (oosporas, clamidosporas y zoosporas), pero no pueden sintetizar esteroides, que son el objetivo de muchos fungicidas (Gaulin, Bottin y Dumas, 2010). Como resultado, los fitopatógenos *Phytophthora* son difíciles de controlar utilizando la mayoría de los fungicidas disponibles actualmente. Además, las especies de *Phytophthora* pueden superar los agentes de control químico y la resistencia a las plantas hospedantes mediante la flexibilidad genética (Bae *et al.*, 2016).

En la evaluación del porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) de *Phytophthora palmivora*, se observaron diferencias significativas entre los tratamientos evaluados ($P < 0.05$). *T. harzianum* mostró el mayor porcentaje de inhibición con un 82%, con diferencias significativas con el resto de los tratamientos. *P. fluorescens* y *P. aeruginosa* no presentaron diferencias significativas entre ellos (Figura 6).

Se ha demostrado que la aplicación de microorganismo como *Trichoderma* spp. y *Pseudomonas* spp como método de control biológico puede ayudar a reducir el uso de pesticidas y fertilizantes químicos en la agricultura (Nishioka, Suga y Shimizu, 2022; Martinez, Ribera, Schwarze y De-France, 2023).

Caulier *et al.* (2018) demostraron que cepas de *Pseudomonas* spp. mostraron una fuerte actividad inhibidora ($\geq 70\%$) contra *P. infestans*, resultados similares a nuestro trabajo. Zohara *et al.* (2016) demostraron que *Pseudomonas* spp. inhibió el crecimiento de *P. capsici*, mediante la inducción de ramificación excesiva, hinchazón y daño celular.

También, se ha demostrado que *P. putida* reduce la incidencia del marchitamiento por *Fusarium* en lino, rábano y pepino, mediante la competencia por los iones de hierro entre el fitopatógeno y los sideróforos producidos por *P. putida* (Orr y Nelson, 2018; Nishioka *et al.*, 2022).

Nuestros resultados son similares a los reportados por Bae *et al.* (2016), los autores demostraron la capacidad antifúngica de *Trichoderma* contra *Phytophthora* sp., además, *Trichoderma* sp. provocó cambios morfológicos significativos en las hifas de *Phytophthora* sp, como hinchazón, nudos, aplanamiento, arrugamiento, estallido y necrosis. También, Santos *et al.* (2023) demostraron la actividad antifúngica de cepas de *T. aggressivum*, *T. longibrachiatum* y *T. saturnisporum* contra *P. capsici* y *P. parasitica* obteniendo valores de inhibición de 82 y 88%, respectivamente.

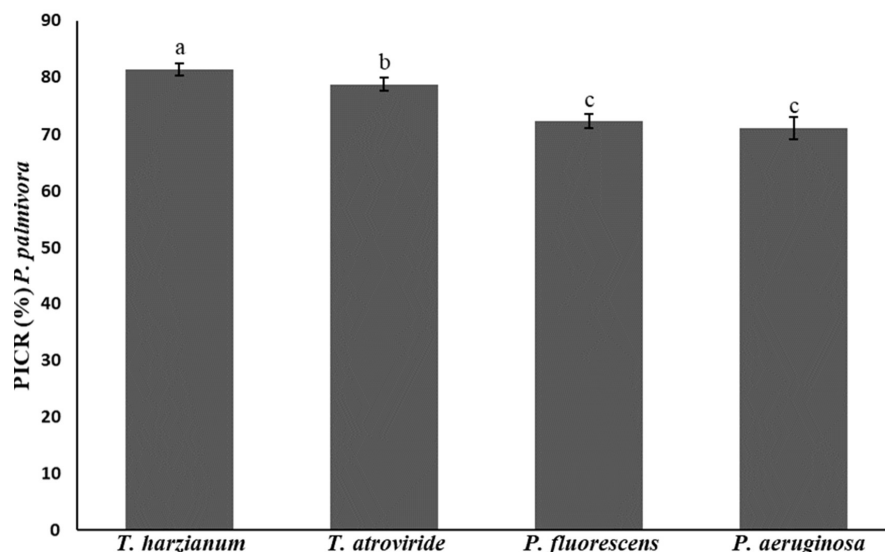


Figura 6. Actividad antifúngica de microorganismos benéficos contra *P. palmivora*. Medias con letras iguales en las columnas no difieren significativamente según Tukey ($P \leq 0.05$). $\pm$ Desviación estándar.

Figure 6. Antifungal activity of beneficial microorganisms against *P. palmivora*. Means with equal letters in the columns do not differ significantly according to Tukey ($P \leq 0.05$). $\pm$ Standard deviation.

CONCLUSIONES

La identificación molecular y morfológica confirmó la presencia de microorganismos del suelo asociados a musáceas de especies de *P. aeruginosa*, *P. fluorescens*, *T. harzianum* y *T. atroviride*, todos con altos valores de soporte bootstrap. Los aislados de *Trichoderma* spp. (*T. harzianum* y *T. atroviride*) y *Pseudomonas* spp. (*P. fluorescens* y *P. aeruginosa*) presentaron una alta inhibición del crecimiento micelial de los fitopatógenos *F. oxysporum* y *P. palmivora*. *T. harzianum* y *T. atroviride* mostraron porcentajes de inhibición alrededor del 80%, superiores a los de *P. fluorescens* y *P. aeruginosa*. Estos resultados subrayan el potencial de estos microorganismos como posibles agentes de control biológico en la agricultura, ofreciendo una alternativa efectiva y sostenible a los fungicidas químicos sintéticos.

DECLARACIÓN DE ÉTICA

No aplicable.

CONSENTIMIENTO PARA PUBLICACIÓN

No aplicable.

DISPONIBILIDAD DE DATOS

No aplicable.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no tienen intereses en competencia.

FINANCIACIÓN

No aplicable.

CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

Conceptualización: J.A.T.R. Metodología: J.A.T.R. y D.K.P.B. Validación: D.K.P.B., y G.A.M.S. Análisis formal: G.Z.S. Investigación, recursos: A.V.C.M. Curación de datos: W.G.C.C. y G.Z.S. Escritura: J.A.T.R., D.K.P.B. y G.A.M.S. Preparación del borrador original: J.A.T.R. Escritura, revisión y edición: J.A.T.R. y A.V.C.M. Visualización: W.G.C.C. y G.Z.S. Supervisión: W.G.C.C. y G.Z.S. Adquisición de fondos: J.A.T.R.

AGRADECIMIENTOS

Reconocemos a la Universidad Técnica Estatal de Quevedo (UTEQ) y a la dirección de investigación de la UTEQ por su apoyo brindado en todo momento. Un agradecimiento especial a todo el equipo del laboratorio de microbiología de la UTEQ.

LITERATURA CITADA

- Abad, Z. G., Burgess, T. I., Redford, A. J., Bienapfl, J. C., Srivastava, S., Mathew, R., & Jennings, K. (2023a). IDphy: An international online resource for molecular and morphological identification of *Phytophthora*. *Plant Disease*, 107(4), 987-998. <https://doi.org/10.1094/PDIS-02-22-0448-FE>
- Abad, Z. G., Burgess, T. I., Bourret, T., Bensch, K., Cacciola, S. O., Scanu, B., ... & Redford, A. J. (2023b). *Phytophthora*: taxonomic and phylogenetic revision of the genus. *Studies in Mycology*, 106(1), 259-348. <https://doi.org/10.3114/sim.2023.106.05>
- Abdelraheem, A., Zhu, Y., Zeng, L., Stetina, S., & Zhang, J. (2024). A genome-wide association study for resistance to *Fusarium* wilt (*Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*) race 4 in diploid cotton (*Gossypium arboreum*) and resistance transfer to tetraploid *Gossypium hirsutum*. *Molecular Genetics and Genomics*, 299(1), 30. <https://doi.org/10.1007/s00438-024-02130-9>
- Abdul-Haq, M., Shahzad, S., Lodhi, A. M., & Rajput, A. Q. (2024). Morphological and molecular characterization of four *Phytophthora* species with the first report of *Phytophthora lacustris* from Pakistan. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 158(3), 457-463. <https://doi.org/10.1080/11263504.2024.2326821>

- Acebo-Guerrero, Y., Hernández-Rodríguez, A., Heydrich-Pérez, M., El Jaziri, M., & Hernández-Lauzardo, A. N. (2012). Management of black pod rot in cacao (*Theobroma cacao* L.): a review. *Fruits*, 67(1), 41-48.
- Ahedo-Quero, H. O., Aquino-Bolaños, T., Ortiz-Hernández, Y. D., & García-Sánchez, E. (2024). *Trichoderma* Diversity in Mexico: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Diversity*, 16(1), 68. <https://doi.org/10.3390/d16010068>
- Ajmal, M., Hussain, A., Ali, A., Chen, H., & Lin, H. (2022). Strategies for Controlling the Sporulation in *Fusarium* spp. *Journal of Fungi*, 9(1), 10. <https://doi.org/10.3390/jof9010010>
- Al-Ani, L. K. T. (2018). *Trichoderma* from extreme environments: physiology, diversity, and antagonistic activity. In D. Egamberdieva, N. K. Birkeland, H. Panosyan, & W. J. Li (Eds.). *Extremophiles in Eurasian Ecosystems: Ecology, Diversity, and Applications. Microorganisms for Sustainability* (pp. 389-403). Singapore: Springer. https://doi.org/10.1007/978-981-13-0329-6_14
- Ali-Nusaibah, S., & Musa, H. (2019). A Review Report on the mechanism of *Trichoderma* spp. as biological control agent of the basal stem rot (BSR) disease of *Elaeis guineensis*. In M. Manjur Shah, U. Sharif, & T. R. Buhari (Eds.). *Trichoderma-The Most Widely Used Fungicide* (pp. 1-13). London, United Kingdom: IntechOpen. <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.84469>
- Almaghasla, M. I., El-Ganainy, S. M., & Ismail, A. M. (2023). Biological Activity of Four *Trichoderma* Species Confers Protection against *Rhizoctonia solani*, the Causal Agent of Cucumber Damping-Off and Root Rot Diseases. *Sustainability*, 15(9), 7250. <https://doi.org/10.3390/su15097250>
- Alsultan, W., Yun, W. M., Mior Ahmad, Z. A., Vadmalai, G., Khairulmazmi, A., Al-Sadi, A. M., ... & Al-Tawaha, A. R. (2022). Morphological, pathogenic, and molecular characterization of *Phytophthora palmivora* isolates causing black pod disease on cocoa in Peninsular Malaysia. *International Journal of Food Science and Agriculture*, 6(2), 135-148. <http://dx.doi.org/10.26855/ijfsa.2022.06.002>
- Angelina, E., Papatheodorou, E. M., Demirtzoglu, T., & Monokrousos, N. (2020). Effects of *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas fluorescens* inoculation on attributes of the lettuce (*Lactuca sativa* L.) soil rhizosphere microbial community: The role of the management system. *Agronomy*, 10(9), 1428. <https://doi.org/10.3390/agronomy10091428>
- Antoszewski, M., Mierek-Adamska, A., & Dąbrowska, G. B. (2022). The importance of microorganisms for sustainable agriculture—A review. *Metabolites*, 12(11), 1100. <https://doi.org/10.3390/metabo12111100>
- Asis, A., Shahriar, S. A., Naher, L., Saallah, S., Fatimah, H. N. N., Kumar, V., & Siddiquee, S. (2021). Identification patterns of *Trichoderma* strains using morphological characteristics, phylogenetic analyses and lignocellulolytic activities. *Molecular Biology Reports*, 48, 3285-3301. <https://doi.org/10.1007/s11033-021-06321-0>
- Azadeh, B. F., Sariah, M., & Wong, M. Y. (2010). Characterization of *Burkholderia cepacia* genomovar I as a potential biocontrol agent of *Ganoderma boninense* in oil palm. *African Journal of Biotechnology*, 9(24), 3542-3548. <https://doi.org/10.5897/AJB2010.000-3214>
- Bae, S. J., Mohanta, T. K., Chung, J. Y., Ryu, M., Park, G., Shim, S., ... & Bae, H. (2016). *Trichoderma* metabolites as biological control agents against *Phytophthora* pathogens. *Biological Control*, 92, 128-138. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2015.10.005>
- Bahadur, A. (2021). Current Status of *Fusarium* and their management strategies. In S. Mahyar (Ed.). *Fusarium-An Overview of the Genus* (pp. 1-18). London, United Kingdom: IntechOpen. <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.100608>
- Bell, A. A., Gu, A., Olvey, J., Wagner, T. A., Tashpulatov, J. J., Prom, S., ... & Liu, J. (2019). Detection and characterization of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* VCG0114 (Race 4) isolates of diverse geographic origins. *Plant Disease*, 103(8), 1998-2009. <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-18-1624-RE>
- Benaissa, A. (2024). Rhizosphere: Role of bacteria to manage plant diseases and sustainable agriculture—A review. *Journal of Basic Microbiology*, 64(3), 2300361. <https://doi.org/10.1002/jobm.202300361>
- Bhunjun, C. S., Phillips, A. J., Jayawardena, R. S., Promputtha, I., & Hyde, K. D. (2021). Importance of molecular data to identify fungal plant pathogens and guidelines for pathogenicity testing based on Koch's postulates. *Pathogens*, 10(9), 1096. <https://doi.org/10.3390/pathogens10091096>
- Bononi, L., Chiamonte, J. B., Pansa, C. C., Moitinho, M. A., & Melo, I. S. (2020). Phosphorus-solubilizing *Trichoderma* spp. from Amazon soils improve soybean plant growth. *Scientific Reports*, 10(1), 2858. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59793-8>
- Brischigliaro, M., & Zeviani, M. (2021). Cytochrome c oxidase deficiency. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1862(1), 148335. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2020.148335>
- Cao, Q., Liang, Y., Tian, Y., Lian, H., Jiang, X., & Li, M. (2023). Survival dynamics of *Trichoderma longibrachiatum* Tr58 in conidia-and chlamydospore-amended soils with different moisture levels. *Agriculture*, 13(2), 238. <https://doi.org/10.3390/agriculture13020238>
- Carmona-Hernandez, S., Reyes-Pérez, J. J., Chiquito-Contreras, R. G., Rincon-Enriquez, G., Cerdan-Cabrera, C. R., & Hernandez-Montiel, L. G. (2019). Biocontrol of postharvest fruit fungal diseases by bacterial antagonists: A review. *Agronomy*, 9(3), 121. <https://doi.org/10.3390/agronomy9030121>
- Castillo, N. A., & González, C. T. (2015). Caracterización morfológica y molecular de *Phytophthora* en ají (*Capsicum frutescens* var. Tabasco), Valle del Cauca. *Revista de Ciencias*, 19(2), 1-19.
- Caulier, S., Gillis, A., Colau, G., Licciardi, F., Liépin, M., Desoignies, N., ... & Bragard, C. (2018). Versatile antagonistic activities of soil-borne *Bacillus* spp. and *Pseudomonas* spp. against *Phytophthora infestans* and other potato pathogens. *Frontiers in Microbiology*, 9, 143. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00143>
- Correa-Delgado, R., Brito-López, P., Jaizme-Vega, M. C., & Laich, F. (2024). Biodiversity of *Trichoderma* species of healthy and *Fusarium* wilt-infected banana rhizosphere soils in Tenerife (Canary Islands, Spain). *Frontiers in Microbiology*, 15, 1376602. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1376602>
- Chan, M. E., Tan, J. Y., Lee, Y. Y., Lee, D., Fong, Y. K., Mutwil, M., ... & Hong, Y. (2023). Locally isolated *Trichoderma harzianum* species have broad spectrum biocontrol activities against the wood rot fungal species through both volatile inhibition and mycoparasitism. *Journal of Fungi*, 9(6), 675. <https://doi.org/10.3390/jof9060675>
- Chen, J., Zhou, L., Din, I. U., Arafat, Y., Li, Q., Wang, J., ... & Lin, W. (2021). Antagonistic activity of *Trichoderma* spp. against *Fusarium oxysporum* in rhizosphere of *Radix pseudostellariae* triggers the expression of host defense genes and improves its growth under long-term monoculture system. *Frontiers in Microbiology*, 12, 579920. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.579920>
- Chen, W., Modi, D., & Picot, A. (2023). Soil and phytomicrobiome for plant disease suppression and management under climate change: A review. *Plants*, 12(14), 2736. <https://doi.org/10.3390/plants12142736>
- Chopada, G. B., Singh, P., & Chandulal, K. (2015). Cultural and morphological variability among *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* causing wilt of tomato in south Gujarat region. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 48(2), 104-110. <https://doi.org/10.1080/03235408.2014.882558>
- Da Cruz-Nizer, W. S., Inkovskiy, V., Versey, Z., Strempel, N., Cassol, E., & Overhage, J. (2021). Oxidative stress response in *Pseudomonas aeruginosa*. *Pathogens*, 10(9), 1187. <https://doi.org/10.3390/pathogens10091187>
- De Benedetti, S., Fisher, J. F., & Mobashery, S. (2021). Bacterial Cell Wall: Morphology and Biochemistry. In *Practical Handbook of Microbiology* (pp. 167-204). Boca Raton, FL, USA: CRC Press.

- Decloquement, J., Ramos-Sobrinho, R., Elias, S. G., Britto, D. S., Puig, A. S., Reis, A., ... & Marelli, J. P. (2021). *Phytophthora theobromicola* sp. nov.: a new species causing black pod disease on cacao in Brazil. *Frontiers in Microbiology*, 12, 537399. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.537399>
- Dereeper, A., Guignon, V., Blanc, G., Audic, S., Chevenet, F., ... & Gascuel, O. (2008). Phylogeny. fr: robust phylogenetic analysis for the non-specialist. *Nucleic Acids Research*, 36(2), 465-469. <https://doi.org/10.1093/nar/gkn180>
- Drenth, A., & Sendall, B. (2001). Practical guide to detection and identification of *Phytophthora*. *Tropical Plant Protection*, 1, 32-33.
- Dutta, P., Mahanta, M., Singh, S. B., Thakuria, D., Deb, L., Kumari, A., ... & Pandey, A. K. (2023). Molecular interaction between plants and *Trichoderma* species against soil-borne plant pathogens. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1145715. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1145715>
- Edgar, R. C. (2004). MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research*, 32(5), 1792-1797. <https://doi.org/10.1093/nar/gkh340>
- Ekwomadu, T. I., & Mwanza, M. (2023). *Fusarium* fungi pathogens, identification, adverse effects, disease management, and global food security: A review of the latest research. *Agriculture*, 13(9), 1810. <https://doi.org/10.3390/agriculture13091810>
- El-Hasan, A., Ngatia, G., Link, T. I., & Voegelé, R. T. (2022). Isolation, identification, and biocontrol potential of root fungal endophytes associated with Solanaceous plants against potato late blight (*Phytophthora infestans*). *Plants*, 11(12), 1605. <https://doi.org/10.3390/plants11121605>
- Garibaldi, A., Gilardi, G., Ortu, G., & Gullino, M. L. (2016). First report of leaf spot of lettuce (*Lactuca sativa*) caused by *Fusarium equiseti* in Italy. *Plant Disease*, 100(2), 531-531. <https://doi.org/10.1094/PDIS-06-15-0686-PDN>
- Gaulin, E., Bottin, A., & Dumas, B. (2010). Sterol biosynthesis in oomycete pathogens. *Plant Signaling & Behavior*, 5(3), 258-260. <https://doi.org/10.4161/psb.5.3.10551>
- Gerace, E., Mancuso, G., Midiri, A., Poidomani, S., Zummo, S., & Biondo, C. (2022). Recent advances in the use of molecular methods for the diagnosis of bacterial infections. *Pathogens*, 11(6), 663. <https://doi.org/10.3390/pathogens11060663>
- Goncharov, A. A., Glebova, A. A., & Tiunov, A. V. (2020). Trophic interactions between *Fusarium* species and soil fauna: A meta-analysis of experimental studies. *Applied Soil Ecology*, 145, 103302. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.06.005>
- Guest, D. (2007). Black pod: diverse pathogens with a global impact on cocoa yield. *Phytopathology*, 97(12), 1650-1653. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-97-12-1650>
- Guzmán-Guzmán, P., Kumar, A., de Los Santos-Villalobos, S., Parra-Cota, F. I., Orozco-Mosqueda, M. D. C., Fadiji, A. E., ... & Santoyo, G. (2023). *Trichoderma* species: Our best fungal allies in the biocontrol of plant diseases-A review. *Plants*, 12(3), 432. <https://doi.org/10.3390/plants12030432>
- Harish, J., Jambhulkar, P. P., Bajpai, R., Arya, M., Babele, P. K., Chaturvedi, S. K., ... & Lakshman, D. K. (2023). Morphological characterization, pathogenicity screening, and molecular identification of *Fusarium* spp. isolates causing post-flowering stalk rot in maize. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1121781. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1121781>
- He, Y., Pantigoso, H. A., Wu, Z., & Vivanco, J. M. (2019). Co-inoculation of *Bacillus* sp. and *Pseudomonas putida* at different development stages acts as a biostimulant to promote growth, yield and nutrient uptake of tomato. *Journal of Applied Microbiology*, 127(1), 196-207. <https://doi.org/10.1111/jam.14273>
- Hou, Y. H., Hsu, L. H., Wang, H. F., Lai, Y. H., & Chen, Y. L. (2020). Calcineurin regulates conidiation, chlamydospore formation and virulence in *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Frontiers in Microbiology*, 11, 539702. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.539702>
- Ismail, A., Lakshman, D. K., Jambhulkar, P. P., & Roberts, D. P. (2024). *Trichoderma*: Population structure and genetic diversity of species with high potential for biocontrol and biofertilizer applications. *Applied Microbiology*, 4, 875-893. <https://doi.org/10.3390/applmicrobiol4020060>
- Judelson, H. S., & Blanco, F. A. (2005). The spores of *Phytophthora*: weapons of the plant destroyer. *Nature Reviews Microbiology*, 3(1), 47-58. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1064>
- Kadenbach, B., Ramzan, R., Wen, L., & Vogt, S. (2010). New extension of the Mitchell Theory for oxidative phosphorylation in mitochondria of living organisms. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1800(3), 205-212. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2009.04.019>
- Kálmán, C. D., Nagy, Z., Berényi, A., Kiss, E., & Posta, K. (2024). Investigating PGPR bacteria for their competence to protect hybrid maize from the factor drought stress. *Cereal Research Communications*, 52(1), 129-150. <https://doi.org/10.1007/s42976-023-00388-0>
- Karyath-Palliyath, G., Kilingar-Subrahmanya, M., Antony, G., Binod-Bihari, S., Hegde, V., & Muliya Krishna, R. (2021). A rapid in vitro leaf inoculation assay to investigate *Phytophthora palmivora*-coconut interactions. *Journal of Phytopathology*, 169(5), 316-328. <https://doi.org/10.1111/jph.12988>
- Kubheka, B. P., & Ziena, L. W. (2022). *Trichoderma*: A biofertilizer and a bio-fungicide for sustainable crop production. In F. Juliatti, (Ed.). *Trichoderma-Technology and Uses* (pp. 1-17). London, United Kingdom: IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.102405>
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., & Tamura, K. (2018). MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6), 1547-1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
- Kuswinanti, T., Patandjengi, B., & Hardina, N. (2023). Morphological and Molecular Characterization of *Phytophthora palmivora* Isolates and Their Virulence Test on Cocoa Clone Sulawesi 2. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*, 19(4), 145-155. <https://doi.org/10.14692/jfi.19.4.145-155>
- Liu, K., Zhang, Y. Z., Du, H. Y., Wang, Z. Y., Gu, P. W., Liu, Z. H., & Yu, Z. Y. (2023). Beneficial and biocontrol effects of *Trichoderma atroviride*, a dominant species in white birch rhizosphere soil. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1265435. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1265435>
- Mahima, P., Amridha, R., & Senan, P. V. (2020). Isolation, screening and identification of amylase and catalase producing bacterial strains from marine sediments. *Indian Journal of Experimental Biology*, 58, 853-860.
- Manasa, K., Reddy, R. S., Triveni, S., & Manasa, C. K. (2017). Isolation and characterisation of *Pseudomonas fluorescens* isolates from different rhizosphere soils of Telangana. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6(3), 224-229.
- Manzar, N., Kashyap, A. S., Goutam, R. S., Rajawat, M. V. S., Sharma, P. K., Sharma, S. K., & Singh, H. V. (2022). *Trichoderma*: advent of versatile biocontrol agent, its secrets and insights into mechanism of biocontrol potential. *Sustainability*, 14(19), 12786. <https://doi.org/10.3390/su141912786>
- Maqsood, A., Aslam, M. N., Khaliq, H., Shakeel, M. T., Wu, H., & Fahad, S. (2024). Endophytic *Bacillus* spp. Mediated Plant Growth Promotion of Tomato Seedlings and Suppression of Meloidogyne incognita and Fusarium oxysporum Disease Complex. *Journal of Plant Growth Regulation*, 43, 2454-2469. <https://doi.org/10.1007/s00344-024-11279-x>
- Martínez, B., Infante, D., & Peteira, B. (2015). Taxonomía polifásica y variabilidad en el género *Trichoderma*. *Revista de Protección Vegetal*, 30, 11-22.
- Martínez, Y., Ribera, J., Schwarze, F. W., & De-France, K. (2023). Biotechnological development of *Trichoderma*-based formulations for biological control. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 107(18), 5595-5612. <https://doi.org/10.1007/s00253-023-12687-x>
- McCarthy, C. G., & Fitzpatrick, D. A. (2017). Phylogenomic reconstruction of the oomycete phylogeny derived from 37 genomes. *Msphere*, 2(2), 1-17. <https://doi.org/10.1128/msphere.00095-17>
- Medeiros, E. V., Moraes, M. C., Costa, D. P., Silva, J. S., Oliveira, J. B., José, R. S., ... & Hammecker, C. (2020). Biochar and *Trichoderma aureoviride* applied to the sandy soil: effect on soil quality and watermelon growth. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 48(2), 735-751. <https://doi.org/10.15835/nbha48211851>

- Meng, S., Peng, T., Liu, X., Wang, H., Huang, T., Gu, J. D., & Hu, Z. (2022). Ecological role of bacteria involved in the biogeochemical cycles of mangroves based on functional genes detected through GeoChip 5.0. *Msphere*, 7(1), e00936. <https://doi.org/10.1128/msphere.00936-21>
- Mukhopadhyay, R., & Kumar, D. (2020). Trichoderma: a beneficial antifungal agent and insights into its mechanism of biocontrol potential. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 30, 1-8. <https://doi.org/10.1186/s41938-020-00333-x>
- Nawade, B., Talaviya, J. R., Vyas, U. M., Jadeja, K. B., & Golakiya, B. A. (2017). Diversity analysis among *Fusarium oxysporum* f. sp. *cumini* isolates using ISSR markers, spore morphology and pathogenicity. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(4), 79-87. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.604.010>
- Nikitin, D. A., Ivanova, E. A., Semenov, M. V., Zhelezova, A. D., Ksenofontova, N. A., Tkachakhova, A. K., & Kholodov, V. A. (2023). Diversity, ecological characteristics and identification of some problematic phytopathogenic *Fusarium* in soil: a review. *Diversity*, 15(1), 49. <https://doi.org/10.3390/d15010049>
- Nishioka, T., Suga, H., & Shimizu, M. (2022). The Stimulation of Indigenous Bacterial Antagonists by γ -Glutamyl-S-Allyl-L-Cysteine Increases Soil Suppressiveness to *Fusarium* Wilt. *Applied and Environmental Microbiology*, 88(24), e01554-22. <https://doi.org/10.1128/aem.01554-22>
- Ochoa, J. L., Hernández-Montiel, L. G., Latinsnere-Barragán, H., de la-Luz, J. L., & Larralde-Corona, C. P. (2007). Isolation and identification of pathogenic fungi from orange *Citrus sinensis* L. Osbeck cultured in Baja California Sur, México. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 5(5), 352-359. <https://doi.org/10.1080/11358120709487712>
- Orr, R., & Nelson, P. N. (2018). Impacts of soil abiotic attributes on *Fusarium* wilt, focusing on bananas. *Applied Soil Ecology*, 132, 20-33. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2018.06.019>
- Oszust, K., Cybulska, J., & Frac, M. (2020). How do Trichoderma genus fungi win a nutritional competition battle against soft fruit pathogens? A report on niche overlap nutritional potentiates. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(12), 4235. <https://doi.org/10.3390/ijms21124235>
- Perrine-Walker, F. (2020). *Phytophthora palmivora*-cocoa interaction. *Journal of Fungi*, 6(3), 167. <https://doi.org/10.3390/jof6030167>
- Pinto, A. G., Kos, T., Puškarić, J., Vrandečić, K., Benković-Laćić, T., & Brmež, M. (2024). Soil ecosystem functioning through interactions of nematodes and fungi trichoderma sp. *Sustainability*, 16(7), 2885. <https://doi.org/10.3390/su16072885>
- Ploetz, R. C. (2006). *Fusarium* wilt of banana is caused by several pathogens referred to as *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. *Phytopathology*, 96(6), 653-656. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-96-0653>
- Rahman, M. Z., Ahmad, K., Bashir-Kutawa, A., Siddiqui, Y., Saad, N., Geok-Hun, T., ... & Hossain, M. I. (2021). Biology, diversity, detection and management of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* causing vascular wilt disease of watermelon (*Citrullus lanatus*): a review. *Agronomy*, 11(7), 1310. <https://doi.org/10.3390/agronomy11071310>
- Ramesha, V., & Naik, C. (2017). Survey and identification of post flowering stalk rot of maize caused by *Fusarium moniliforme*. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6(5), 1923-1925.
- Rampersad, S. N. (2020). Pathogenomics and management of *Fusarium* diseases in plants. *Pathogens*, 9(5), 340. <https://doi.org/10.3390/pathogens9050340>
- Rathore, R., Vakharia, D. N., & Rathore, D. S. (2020). In vitro screening of different *Pseudomonas fluorescens* isolates to study lytic enzyme production and growth inhibition during antagonism of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cumini*, wilt causing pathogen of cumin. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 30(1), 57. <https://doi.org/10.1186/s41938-020-00259-4>
- Raza, T., Qadir, M. F., Khan, K. S., Eash, N. S., Yousuf, M., Chatterjee, S., ... & Oetting, J. N. (2023). Unrevealing the potential of microbes in decomposition of organic matter and release of carbon in the ecosystem. *Journal of Environmental Management*, 344, 118529. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2023.118529>
- Riera, N., Davyt, D., Durán, R., Iraola, G., Lemanceau, P., & Bajsa, N. (2023). An antibiotic produced by *Pseudomonas fluorescens* CFBP2392 with antifungal activity against *Rhizoctonia solani*. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1286926. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1286926>
- Rodríguez-Yzquierdo, G., Olivares, B. O., González-Ulloa, A., León-Pacheco, R., Gómez-Correa, J. C., Yacomelo-Hernández, M., ... & Betancourt-Vásquez, M. (2023). Soil predisposing factors to *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* tropical Race 4 on banana crops of la Guajira, Colombia. *Agronomy*, 13(10), 2588. <https://doi.org/10.3390/agronomy13102588>
- Romsang, A., Dubbs, J. M., & Mongkolsuk, S. (2016). The Iron-sulfur Cluster Biosynthesis Regulator IscR Contributes to Iron Homeostasis and Resistance to Oxidants in *Pseudomonas aeruginosa*. In F. J. Bruijn (Ed.). *Stress and Environmental Regulation of Gene Expression and Adaptation in Bacteria*, (pp. 1090-1102). Hoboken, NY, USA: John Wiley & Sons Ltd. <https://doi.org/10.1002/9781119004813.ch106>
- Santos, M., Diáñez, F., Sánchez-Montesinos, B., Huertas, V., Moreno-Gavira, A., Esteban García, B., ... & Gea, F. J. (2023). Biocontrol of diseases caused by *Phytophthora capsici* and *P. parasitica* in pepper plants. *Journal of Fungi*, 9(3), 360. <https://doi.org/10.3390/jof9030360>
- Sebumpun, R., Guirritan, K. R., Suani, M., Abapo, C. J., Bhat, A. H., Machado, R. A., ... & Sumaya, N. H. (2022). Morphological and molecular identification of *Trichoderma asperellum* isolated from a dragon fruit farm in the southern Philippines and its pathogenicity against the larvae of the super worm, *Zophobas morio* (Fabricius, 1776)(Coleoptera: Tenebrionidae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 32(1), 1-7. <https://doi.org/10.1186/s41938-022-00548-0>
- Seddaiu, S., & Linaldeddu, B. T. (2020). First Report of *Phytophthora acerina*, *P. plurivora*, and *P. pseudocryptogea* associated with declining common alder trees in Italy. *Plant Disease*, 104(6), 1874. <https://doi.org/10.1094/PDIS-01-20-0186-PDN>
- Sepp, S. K., Vasar, M., Davison, J., Oja, J., Anslan, S., Al-Quraishy, S., ... & Zobel, M. (2023). Global diversity and distribution of nitrogen-fixing bacteria in the soil. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1100235. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1100235>
- Sharma, L., & Marques, G. (2018). *Fusarium*, an entomopathogen-A myth or reality?. *Pathogens*, 7(4), 93. <https://doi.org/10.3390/pathogens7040093>
- Silva, L. G., Camargo, R. C., Mascarin, G. M., Nunes, P. S. D. O., Dunlap, C., & Bettiol, W. (2022). Dual functionality of *Trichoderma*: Biocontrol of *Sclerotinia sclerotiorum* and biostimulant of cotton plants. *Frontiers in Plant Science*, 13, 983127. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.983127>
- Silva, L. I. D., Pereira, M. C., Carvalho, A. M. X. D., Buttrós, V. H., Pasqual, M., & Dória, J. (2023). Phosphorus-solubilizing microorganisms: a key to sustainable agriculture. *Agriculture*, 13(2), 462. <https://doi.org/10.3390/agriculture13020462>
- Singha, I. M., Kakoty, Y., Unni, B. G., Das, J., & Kalita, M. C. (2016). Identification and characterization of *Fusarium* sp. using ITS and RAPD causing *Fusarium* wilt of tomato isolated from Assam, North East India. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 14(1), 99-105. <https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2016.07.001>
- Soesanto, L., Mugiastuti, E., & Rahayuniati, R. F. (2011). Morphological and Physiological features of *Pseudomonas fluorescens* P60. In 4th International Seminar of Indonesian Society for Microbiology (pp. 22-24). Bajar, Indonesia: ISISM. ISBN: 978-602-9042-86-3
- Sousa, A. M., Machado, I., Nicolau, A., & Pereira, M. O. (2013). Improvements on colony morphology identification towards bacterial profiling. *Journal of Microbiological Methods*, 95(3), 327-335. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2013.09.020>

- Statsoft (2011). *STATISTICA User's Guide. Version 10*. Tulsa, OK, USA: Statsoft Inc.
- Summerell, B. A., Salleh, B., & Leslie, J. F. (2003). A utilitarian approach to *Fusarium* identification. *Plant Disease*, 87(2), 117-128. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2003.87.2.117>
- Sun, L., Wang, W., Zhang, X., Gao, Z., Cai, S., Wang, S., & Li, Y. (2023). *Bacillus velezensis* BVE7 as a promising agent for biocontrol of soybean root rot caused by *Fusarium oxysporum*. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1275986. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1275986>
- Swathy, K., Nisha, V., & Vivekanandhan, P. (2024). Biological control effect of *Trichoderma harzianum* (Hypocreales: Hypocreaceae) against phytopathogens. *Environmental Quality Management*, 34(1), e22227. <https://doi.org/10.1002/tqem.22227>
- Talavera, G., & Castresana, J. (2007). Improvement of phylogenies after removing divergent and ambiguously aligned blocks from protein sequence alignments. *Systematic Biology*, 56(4), 564-577. <https://doi.org/10.1080/10635150701472164>
- Tamura, K., Stecher, G., & Kumar, S. (2021). MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11. *Molecular Biology and Evolution*, 38(7), 3022-3027. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>
- Tavares, T. D., Antunes, J. C., Padrão, J., Ribeiro, A. I., Zille, A., Amorim, M. T. P., ... & Felgueiras, H. P. (2020). Activity of specialized biomolecules against gram-positive and gram-negative bacteria. *Antibiotics*, 9(6), 314. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9060314>
- Tilahun, T., Abate, S., Tilahun, T., & Taye, M. (2024). Morphological variability of *Fusarium oxysporum* f. sp. capsici (FOC) isolates infecting pepper (*Capsicum annum* L.) landraces in West Gojjam Zone, Ethiopia. *Cogent Food & Agriculture*, 10(1), 2322782. <https://doi.org/10.1080/23311932.2024.2322782>
- Torres-Rodriguez, J. A., Reyes-Pérez, J. J., Castellanos, T., Angulo, C., Quiñones-Aguilar, E. E., & Hernandez-Montiel, L. G. (2022a). Identification and morphological characterization of marine actinomycetes as biocontrol agents of *Fusarium solani* in tomato. *Revista de la Facultad de Agronomía de la Universidad del Zulia*, 39(1), e223915. [https://doi.org/10.47280/RevFacAgron\(LUZ\).v39.n1.15](https://doi.org/10.47280/RevFacAgron(LUZ).v39.n1.15)
- Torres-Rodriguez, J. A., Reyes-Pérez, J. J., Quiñones-Aguilar, E. E., & Hernández-Montiel, L. G. (2022b). Actinomycete potential as biocontrol agent of phytopathogenic fungi: Mechanisms, source, and applications. *Plants*, 11(23), 3201. <https://doi.org/10.3390/plants11233201>
- Torres-Rodriguez, J. A., Reyes-Pérez, J. J., Adame, L. H., Llerena-Fuentes, B. L., & Hernandez-Montiel, L. G. (2024a). Marine actinomycetes for biocontrol of *Fusarium solani* in tomato plants: *In vitro* and *in vivo* studies. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 52(2), 13562-13562. <https://doi.org/10.15835/nbha52213562>
- Torres-Rodriguez, J. A., Reyes-Pérez, J. J., Carranza-Patino, M. S., Gaibor-Fernández, R. R., Rivas-García, T., & Rueda-Puente, E. O. (2024b). Chitosan: Biocontrol agent of *Fusarium oxysporum* in tomato fruit (*Solanum lycopersicum* L.). *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 36, 1-9. <https://doi.org/10.3897/ejfa.2024.122211>
- Van-Tran, Q., Ha, C. V., Vvedensky, V. V., & Han, V. C. (2023). Current status and characterization of *Phytophthora* species associated with gummosis of citrus in Northern Vietnam. *Journal of Phytopathology*, 171(9), 478-488. <https://doi.org/10.1111/jph.13204>
- Vignesh, K., Rajamohan, K., Balabaskar, P., & Anandan, R. (2021). In vitro efficacy of PGPR *Pseudomonas fluorescens* against *Fusarium* wilt of tomato caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Plant Archives*, 21(1), 430-436. <https://doi.org/10.51470/PLANTARCHIVES.2021.v21.no1.060>
- Wang, L., Xie, S., Zhang, Y., Kang, R., Zhang, M., Wang, M., ... & Li, H. (2021). The FpPPR1 gene encodes a pentatricopeptide repeat protein that is essential for asexual development, sporulation, and pathogenesis in *Fusarium pseudograminearum*. *Frontiers in Genetics*, 11, 535622. <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.535622>
- Wang, S., Long, H., Hu, X., Wang, H., Wang, Y., Guo, J., ... & Yang, Q. (2024). The co-inoculation of *Trichoderma viridis* and *Bacillus subtilis* improved the aerobic composting efficiency and degradation of lignocellulose. *Bioresource Technology*, 394, 130285. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2023.130285>
- Wells, H. D. (2023). *Trichoderma* as a biocontrol agent. In *Biocontrol of plant diseases* (pp. 71-82). Boca Ratón, FL, USA: CRC press. ISBN: 9780429292330
- Xin, J. (2024). Enhancing soil Health to minimize Cadmium accumulation in agro-products: The role of microorganisms, organic amendments, and nutrients. *Environmental Pollution*, 348, 123890. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2024.123890>
- Yang, J., Han, J., Jing, Y., Li, S., Lan, B., Zhang, Q., & Yin, K. (2024). Virulent *Fusarium* isolates with diverse morphologies show similar invasion and colonization strategies in alfalfa. *Frontiers in Plant Science*, 15, 1390069. <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1390069>
- Yao, X., Guo, H., Zhang, K., Zhao, M., Ruan, J., & Chen, J. (2023). *Trichoderma* and its role in biological control of plant fungal and nematode disease. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1160551. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1160551>
- Yassin, M. T., Mostafa, A. A. F., Al-Askar, A. A., Sayed, S. R., & Rady, A. M. (2021a). Antagonistic activity of *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma viride* strains against some fusarial pathogens causing stalk rot disease of maize, *in vitro*. *Journal of King Saud University-Science*, 33(3), 101363. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2021.101363>
- Yassin, M. T., Mostafa, A. A. F., & Al-Askar, A. A. (2021b). *In vitro* antagonistic activity of *Trichoderma harzianum* and *T. viride* strains compared to carbendazim fungicide against the fungal phytopathogens of *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 31, 1-9. <https://doi.org/10.1186/s41938-021-00463-w>
- Zohara, F., Akanda, M. A. M., Paul, N. C., Rahman, M., & Islam, M. T. (2016). Inhibitory effects of *Pseudomonas* spp. on plant pathogen *Phytophthora capsici* *in vitro* and *in planta*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 5, 69-77. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2015.12.009>