



Identificación molecular de microorganismos en cultivos agrícolas, ornamentales y forestales en Costa Rica, 2009-2018. Parte 2*

Molecular identification of microorganisms in agriculture, ornamental and forest crops in Costa Rica, 2009-2018. Part 2.

Mónica Blanco-Meneses¹

* Recepción: 9 de noviembre, 2023. Aceptación: 14 de febrero, 2024. Este trabajo formó parte de los datos generados a partir del proyecto inscrito en Vicerrectoría de Acción Social ED2811, Universidad de Costa Rica.

¹ Universidad de Costa Rica, Facultad de Ciencias Agroalimentarias, Centro de Investigaciones en Protección de Cultivos, San José, Costa Rica. monica.blancomeneses@ucr.ac.cr (<https://www.orcid.org/0000-0003-2642-3899>).

Resumen

Introducción. La identificación y detección de microorganismos a partir de técnicas moleculares se ha convertido en un insumo de gran ayuda para el diagnóstico de enfermedades, y de microorganismos presentes en los cultivos. Organismos patogénicos, no patogénicos, controladores biológicos y microorganismos utilizados como competidores, antagonistas o mutualistas pueden aislarse de cultivos agrícolas, ornamentales y forestales. **Objetivo.** Identificar a nivel taxonómico mediante técnicas moleculares, bacterias y levaduras patogénicas y no patogénicas en cultivos agrícolas, ornamentales y forestales de Costa Rica, y conservar el material en un banco de muestras de ADN. **Materiales y métodos.** Entre los años 2009 y 2018 el Laboratorio de Técnicas Moleculares del Centro de Investigación en Protección de Cultivos de la Universidad de Costa Rica recibió un total de 181 aislamientos de bacterias y levaduras para detección por medio de PCR tiempo final y tiempo real; e identificación por medio de la secuenciación de regiones específicas. **Resultados.** Del total de muestras el 94,2 % se analizó por medio de secuenciación y el 5,8 % por PCR. Por medio de detección por PCR en el cultivo de arroz se identificaron bacterias como *Burkholderia* spp., *Acidovorax avenae* y *Pseudomonas fuscovaginae*. Por medio de la secuenciación de la región parcial de 16S se identificaron 172 muestras de especies de bacterias, y cinco muestras de especies de levaduras con la región ITS del ARN ribosomal 18S. Se identificaron microorganismos aislados a partir de dieciocho especies de plantas agrícolas, ornamentales y forestales; entre estos *Pseudomonas*, *Bacillus* y *Enterobacter* y en el caso de levaduras *Candida*, *Pichia* y *Wickerthamomyces*. **Conclusión.** Esta investigación permitió identificar a nivel taxonómico bacterias y levaduras provenientes de cultivos de Costa Rica. Además, se desarrolla un insumo de consulta y la posibilidad de utilizar a futuro los microorganismos que se encuentran conservados dentro de un banco de muestras de ADN.

Palabras clave: identificación molecular, oligonucleótidos, bacteria, levadura, microbiota.



Abstract

Introduction. The identification and detection of microorganisms using molecular techniques has become a very helpful tool for the disease diagnosis, and other microorganisms present in crops. Pathogenic, non-pathogenic organisms, biological controllers, and other microorganisms used as competitors, antagonists, or mutualists can be isolated from agriculture, ornamental, and forest crops. **Objective.** Taxonomically identify, using molecular techniques, pathogenic and non-pathogenic bacteria and yeast isolated in agriculture, ornamental, and forest crops in Costa Rica and preserve the material in a DNA bank. **Materials and methods.** Between 2009 and 2018, the Molecular Techniques Laboratory, at the Plant Protection Research Center, Universidad de Costa Rica, received a total of 181 isolates of bacteria and yeast for detection by end-time and real-time PCR; and identification through sequencing of specific regions. **Results.** Of the total samples, 94.2 % were analyzed by sequencing and 5.8 % by PCR. Using PCR, bacteria species were identified in rice, such as *Burkholderia* spp., *Acidovorax avenae*, and *Pseudomonas fuscovaginae*. Through sequencing of the partial 16S region, 172 samples of bacterial species were identified, and five samples of yeast species with the ITS region of the 18S ribosomal RNA. Microorganisms isolated from eighteen species of agricultural, ornamental, and forest plants were identified. The genera most identified were *Pseudomonas*, *Bacillus*, and *Enterobacter*, and in the case of yeast *Candida*, *Pichia*, and *Wickerthamomyces*. **Conclusion.** This research allowed us to taxonomically identify bacteria and yeast from crops in Costa Rica. In addition, a consultation input is developed, and the possibility of future use of the microorganisms that are preserved at the DNA bank.

Keywords: molecular identification, oligonucleotides, bacteria, yeast, microbiota.

Introducción

La rápida detección e identificación de microorganismos en diferentes campos, desde el sector médico hasta el industrial, se ha visto favorecida con el uso de la biología molecular. El campo agrícola no es la excepción, y los programas de manejo integrado para plagas y patógenos se ven beneficiados con técnicas moleculares para la detección rápida y la identificación de los microorganismos relacionados. Hasta hace algunos años los métodos tradicionales o morfológicos se utilizaron como fuente para la identificación de microorganismos, sin embargo, estos son laboriosos y consumen tiempo para generar un resultado preciso, lo cual se facilitó con la rapidez y confiabilidad del análisis molecular. En un contexto general, el mejor análisis debería ser una combinación de ambos métodos, que permita relacionar cualidades morfológicas o bioquímicas con otras más puntuales a nivel genético y relacionadas a la identificación de los ácidos nucleicos. La identificación de comunidades de microorganismos en cultivos agrícolas, ornamentales y forestales (la microbiota), y su relación con lo que lo rodea (el holobionte) juega un rol significativo en la ecología global y la agricultura. Esta comunidad de microorganismos afecta la forma en la que la planta se desarrolla, cómo adquiere nutrientes y cómo se defiende contra plagas y enfermedades, entre otras actividades (Giangacomo et al., 2021). Existe un gran interés en entender como interactúan las plantas y los microorganismos, así como la identificación de estas comunidades por medio de tecnologías cada vez más modernas (Singh et al., 2020).

La información facilitada a través de bases de datos ya sea morfológica, molecular o ambas es una herramienta valiosa de la bioinformática. A nivel global se puede observar bases como la del National Center for Biotechnology Information (NCBI), la cual agrupa un total de 3,6 billones de datos de secuencias genéticas, las cuales se encuentran para consulta (Sayers et al., 2022).

En Costa Rica también hay ejemplos relevantes de contribuciones y aplicaciones de la bioinformática (Campos-Sánchez et al., 2021), tales como el retrato de la riqueza de la biodiversidad nacional, la estructura genética por medio de genealogía de la población humana, y detalladas caracterizaciones fenotípicas de venenos de serpientes o la participación en esfuerzos globales como el proyecto “International Barcoding of Life – iBOL” y la secuenciación del genoma completo (WGS) de familias con esquizofrenia o trastorno bipolar, que son esfuerzos importantes en el avance de la generación y la investigación basada en cantidades masivas de datos (Campos-Sánchez et al., 2021); sin embargo en el campo agrícola el aporte en el desarrollo de estas tecnologías es mucho menor, y hasta el momento no se han creado bases de datos de las mismas.

Las bases de datos generadas a partir del congelamiento del ácido desoxirribonucleico (ADN), permiten mantener material genético de diferentes fuentes por largos periodos de tiempo y que, con las técnicas actuales, puede ser luego analizado (Ceze et al. 2019). El ADN posee la particularidad que puede ser amplificado por procedimientos como la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR por sus siglas en inglés), lo que brinda la opción de crear un sinnúmero de copias a partir de una sola hebra. El procedimiento en síntesis se basa en el congelamiento del material genético en forma de moléculas de ADN (codificación), existencia de secuencias escritas dentro del material genético (síntesis), acondicionamiento físico organizado en librerías por largos periodos de tiempo, y moléculas que pueden ser analizadas (secuenciación) y convertidas en datos digitales (decodificación) (Zhirnov et al., 2016).

En el Laboratorio de Técnicas Moleculares aplicadas a la Fitoprotección del Centro de Investigación en Protección de Cultivos (CIPROC) se utilizan técnicas modernas para la rápida identificación de microorganismos, a partir de técnicas como la PCR y secuenciación (Buszewski et al., 2017; Jeng et al., 2001). En una publicación anterior, se realizó un recuento sobre hongos, oomicetos y protozoa encontrados en cultivos agrícolas, ornamentales y forestales de Costa Rica, lo cual representó la primera parte de esta recopilación de datos (Blanco-Meneses et al. 2022). En el caso específico de las bacterias que se reportan en esta investigación, técnicas como la amplificación del gen 16S ribosomal (16S rRNA) junto con el “Análisis de secuencias multilocus” (MLSA, por sus siglas en inglés), son utilizadas pues permiten generar árboles filogenéticos y poder deducir las filogenias y una identificación más precisa dentro de los géneros, donde el gen 16S, por sí solo, no es suficiente para establecer la identificación (Glaeser & Kämpfer 2015; Suleimanova et al., 2021).

El objetivo de esta investigación fue identificar a nivel taxonómico mediante técnicas moleculares, bacterias y levaduras patogénicas y no patogénicas en cultivos agrícolas, ornamentales y forestales de Costa Rica, y conservar el material en un banco de muestras de ADN.

Materiales y métodos

Material analizado

Un total de 181 aislamientos de bacterias y levaduras, o partes de plantas con síntomas bacteriales, ingresaron en el Laboratorio de Técnicas Moleculares aplicadas a la Fitoprotección (LTM) del Centro de Investigación en Protección de Cultivos (CIPROC), de la Universidad de Costa Rica, entre los años 2009 al 2018, como parte del vínculo remunerado que se establece entre la Universidad de Costa Rica y el sector externo. Los aislamientos utilizados para la identificación de bacterias y levaduras se generaron a partir de partes de plantas sintomáticas (en

la mayoría de los casos se tomó una muestra de la zona de avance), con aislamientos subsecuentes y con la presencia de colonias individuales, que no variaban en morfología o mezclaban diferentes coloraciones. Para cada muestra se creó un registro, con datos como cultivo hospedante, localidad y fecha de ingreso (datos parciales mostrados).

Extracción de ADN

Se realizó mediante la aplicación de tres procedimientos: 1) Metodología CTAB con modificaciones (Murray & Thompson, 1980) para la extracción de ADN del aislamiento o de partes de tejidos vegetal y conservación del ADN a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. 2) En el caso de suelo, se utilizó el Nucleospin Soil de Macherey-Nagel (número de catálogo: 740780.50) o el Soil DNA Isolation Kit de Norgen Biotek (número de catálogo: 64000). 3) Se optimizó una metodología a partir de una dilución de agua destilada junto con una pequeña porción (tomada con la punta de una aguja) de las colonias puras e individuales de las bacterias o levaduras, y luego se realizó el PCR. En este proceso la temperatura del ciclaje entre $94\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $95\text{ }^{\circ}\text{C}$, permitió que la pared externa de la bacteria se desintegre y el ADN se libere en el buffer, para la posterior replicación durante la reacción de PCR.

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y electroforesis

En el caso de la identificación de bacterias y levaduras por medio de PCR, el ADN se amplificó con oligonucleótidos específicos y universales (Cuadro 1). Se utilizó una reacción de amplificación y un perfil térmico estándar para amplificar el ADN (Blanco-Meneses & Ristaino, 2011). La electroforesis se realizó en un gel de agarosa al $0,8\%$ con buffer TBE y se empleó GelRed (Biotium) a $0,5\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$ para la tinción. Los productos de la PCR se compararon con un marcador de peso molecular de 100 bp (Thermo Scientific). La presencia de bandas se visualizó con luz ultravioleta.

Secuenciación

Cada producto de la PCR se purificó con la enzima Exonucleasa I (Thermo Scientific, US). La secuenciación la realizó la empresa MacroGen Inc. (Korea del Sur) en productos de PCR a una concentración de $50\text{ ng }\mu\text{L}^{-1}$ (Sanger, 1977). Se utilizó BioEdit Sequence Alignment Editor Versión 7.0.5.3 (Hall, 1999) para alinear y editar las secuencias. Buscadores como Nucleotide Blast del Gen Bank, EPPO-Q-banky, MycoBank, entre otros, fueron utilizados para identificar las secuencias, a partir de similitudes mayores al 96% .

Resultados

Entre los años 2009 y 2018 se recibió un total de 172 muestras para identificación de bacterias y cinco para identificación de levaduras, de las cuales un $94,2\%$ fue para identificación por medio de secuenciación y un $5,8\%$ para detección de patógenos por medio de PCR tiempo final y tiempo real. La amplificación, en el caso de levaduras, se hizo con la región del ITS del ADN ribosomal. En el caso de bacterias, se utilizó la región parcial del 16S del ADN ribosomal, gen utilizado en publicaciones para taxonomía de bacterias. Otros oligonucleótidos

Cuadro 1. Oligonucleótidos utilizados para la secuenciación de microorganismos en el Laboratorio de Técnicas Moleculares aplicadas a la Fitoprotección, Universidad de Costa Rica. Montes de Oca, San José, Costa Rica. 2009-2018.

Table 1. Oligonucleotides used for sequencing of microorganisms at the Laboratory of Molecular Techniques applied to Plant Protection, Universidad de Costa Rica. Montes de Oca, San José, Costa Rica. 2009-2018.

Gen/patógeno	Cebador	Secuencia del cebador	Tamaño (pb)	Referencia
ARN ribosomal (ITS)	ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC	600	White et al. (1990)
	ITS5	GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG		
ARN ribosomal (16S)	1492R	TACGGYTACCTTGTTACGACTT	1500	Lane et al. (1985)
	F27	AGAGTTTGATCMTGGCTCAG		
<i>Acidovorax avenae</i> subspp.	WFB1	GACCAGCCACACTGGGAC	360	Walcott & Gitaitis (2000)
	WFB2	CTGCCGTACTCCAGCGAT		
<i>Burkholderia glumae</i>	GI13F	ACACGGAACACCTGGGTA	400	Takeuchi et al. (1997)
	GI14R	TCGCTCTCCCGAAGAGAT		
<i>Burkholderia gladioli</i>	GLAD_F	CGAGCTAATACCGCGAAA	300	Furuya et al. (2002)
	GLAD_R	AGACTCGAGTCAACTGA		
<i>Pseudomonas fuscovagine</i>	PIF3	AACGGGTGTACTTGGTCAGG	450	Onasanya et al. (2010)
	PIR3	CTCCGAGATTACCCACAAGC		
<i>Ralstonia solanacearum</i>	Oli -1	GGGGGTAGCTTGCTACCTGCC	281	Ibrahim et al. (2005)
	Y2	CCCCTGCTGCCTCCCGTAGGAGT		
<i>Ralstonia solanacearum</i> race 4	AKIF	AACCGCACGTAATCGTCGACA	165	Horita et al. (2004)
	AKIR	ACGACTGCCCATTCGACGATG		
<i>Xanthomonas campestris</i>	RS21	GCACGCTCCAGATCAGCATCGAGG	1075	Leite et al. (1994)
	RS22	GGCATCTGCATGCGTGCTCTCCGA		

patógeno-específicos, incluidos en este estudio, fueron utilizados para reportar por primera vez la aparición de un microorganismo en una muestra de una planta huésped, en suelo, en agua u en otro sustrato, e inclusive para reportar la presencia del microorganismo por primera vez en el país. Para este análisis se identificaron microorganismos provenientes de 18 especies de plantas agrícolas, ornamentales y forestales (Cuadros 2-7). Dentro de estas, el cultivo del banano fue el más analizado y se logró encontrar un total de 33 géneros de bacterias ligadas a este cultivo. En el caso de la secuenciación a partir del cebador universal 16S los géneros predominantes fueron *Pseudomonas*, *Bacillus* y *Enterobacter*, con 16, 14 y 12 especies, respectivamente, para cada uno de estos géneros. En el caso de levaduras cuatro géneros fueron identificados relacionadas a los cultivos agrícolas analizados.

Cuadro 2. Bacterias identificadas (letras A y B) en el Laboratorio de Técnicas Moleculares aplicadas a la Fitoprotección, Universidad de Costa Rica. Montes de Oca, San José, Costa Rica. 2009-2018.

Table 2. Bacteria identified (letters A and B) at the Laboratory of Molecular Techniques applied to Plant Protection, Universidad de Costa Rica. Montes de Oca, San Jose, Costa Rica. 2009-2018.

Organismo identificado	Hospedante	Boleta ¹	Técnica ²	Año ³	Literatura relacionada
A					
<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	banano	0185	16S	2012	Papan & Arka (2023)
<i>Acidovorax avenae</i>	melón	0118	PCR	2011	Islam et al. (2019)
<i>A. avenae</i>	zuchinni	0473	PCR	2017	Silva et al. (2016)
<i>A. oryzae</i>	arroz	0450	16S	2017	Ahmed et al. (2021)
<i>Acinetobacter baylyi</i>	banano	0244-340	16S	2013-15	Carvalho et al. (2017)
<i>A. baumannii</i>	banano	0340	16S	2015	Suhaimi (2017)
<i>A. calcoaceticus</i>	banano	0154-185-244	16S	2012	Carvalho et al. (2017)
<i>A. nosocomialis</i>	banano	0340	16S	2015	Carvalho et al. (2017)
<i>A. oleivorans</i>	banano	0340	16S	2015	Kim & Park (2015)
<i>A. soli</i>	banano	0244	16S	2013	Samy et al. (2014)
<i>Advenella kashmirensis</i>	jengibre	0391	16S	2016	Abbes et al. (2018)
<i>Agrobacterium</i> spp.	helecho	0174	16S	2013	no descrito en el cultivo
<i>A. spp.</i>	ornamentales	0271	16S	2014	Rangslang et al. (2018)
<i>A. larrymoorei</i>	jengibre	0373	16S	2016	no descrito en el cultivo
<i>A. larrymoorei</i>	tomate	0416	16S	2016	no descrito en el cultivo
<i>Alcaligenes faecalis</i>	banano	0154-244	16S	2012-13	Ijato et al. (2022)
<i>Azospirillum amazonense</i>	arroz	0238	16S	2013	Sahoo et al. (2014)
B					
<i>Bacillus altitudinis</i>	desconocido	0296	16S	2015	Lu et al. (2017)
<i>B. amyloliquefaciens</i>	banano	0244	16S	2013	Wang et al. (2013)
<i>B. anthracis</i>	banano	0244	16S	2013	Marcano et al. (2016)
<i>B. bombysepticus</i>	banano	0244	16S	2013	no descrito en el cultivo
<i>B. cereus</i>	banano	0068-227	16S	2011-13	Zhang et al. (2023)
<i>B. gibsonii</i>	jengibre	0391	16S	2016	Posada et al. (2016)
<i>B. humi</i>	banano	0354	16S	2016	Heyrman et al. (2005)
<i>B. megaterium</i>	desconocido	0107	16S	2011	Freedman et al. (2018)
<i>B. megaterium</i>	banano	0154-157-185	16S	2011-12	Dañez et al. (2020)
<i>B. methylotrophicus</i>	desconocido	0250	16S	2014	Wang et al. (2016)
<i>B. pumilus</i>	desconocido	0296	16S	2015	Dobrzyński et al. (2022)
<i>B. stratosphericus</i>	desconocido	0296	16S	2015	Branquinho et al. (2015)
<i>B. subtilis</i>	banano	0244	16S	2013	Li et al. (2021)
<i>B. subtilis</i>	tomate	0272	16S	2014	Chowdappa et al. (2013)

¹El número de boleta corresponde al código asignado al recibir la muestra en el LTM. / ¹The lab report number corresponds to the code assigned when receiving the sample at the LTM.

²Técnica: Secuenciación con 16S gene o PCR. / ²Technique: Sequencing with 16S gene or PCR.

³ El año de análisis corresponde a la fecha en la cual se recibió el aislamiento en el LTM. / ³The year of analysis corresponds to the date on which the isolation was received at the LTM.

Cuadro 3. Bacterias identificadas (letras B, C, D y E) en el Laboratorio de Técnicas Moleculares aplicadas a la Fitoprotección, Universidad de Costa Rica. Montes de Oca, San José, Costa Rica. 2009-2018.

Table 3. Bacteria identified (letters B, C, D and E) at the Laboratory of Molecular Techniques applied to Plant Protection, Universidad de Costa Rica. Montes de Oca, San Jose, Costa Rica. 2009-2018.

Organismo identificado	Hospedante	Boleta ¹	Técnica ²	Año ³	Literatura relacionada
B					
<i>Bacillus tequilensis</i>	desconocido	0250	16S	2014	Li et al. (2018)
<i>B. thuringiensis</i>	banano	0068	16S	2011	Souza et al. (2014)
<i>Bordetella</i> spp.	desconocido	0415	16S	2016	Hamidou et al. (2017)
<i>Brevundimonas diminuta</i>	banano	0244	16S	2013	Hathout et al. (2016)
<i>Burkholderia ambifaria</i>	desconocidos	0278	16S	2014	Mullins et al. (2019)
<i>B. cenocepacia</i>	banano	0154-278	16S	2012-14	Ho et al. (2015)
<i>B. cepacia</i>	banano	0154	16S	2012	Li et al. (2022)
<i>B. cepacia</i>	arroz	0238	16S	2012	Rojas-Rojas et al. (2019)
<i>B. gladioli</i>	arroz	0158	PCR	2012	Lee et al. (2018)
<i>B. glumae</i>	arroz	FT879	PCR	2009	Ham et al. (2011)
<i>B. metallica</i>	banano	0354	16S	2016	Hall et al. (2015)
<i>B. vietnamiensis</i>	desconocido	0278	16S	2014	Liu et al. (2022)
C					
<i>Cedecea davisae</i>	banano	0244	16S	2013	Thomas & Sekhar (2017)
<i>C. neteri</i>	banano	0340	16S	2015	no descrito en el cultivo
<i>Citrobacter freundii</i>	banano	0154-185	16S	2012	Su et al. (2017)
<i>Comamonas aquatica</i>	banano	0370	16S	2016	no descrito en el cultivo
<i>Cronobacter sakazakii</i>	desconocido	0397	16S	2016	no descrito en el cultivo
D					
<i>Delftia tsuruhatensis</i>	tomate	0272	16S	2014	Prasannakumar et al. (2015)
<i>Dickeya dadantii</i>	banano	0354	16S	2016	Liu et al. (2016)
<i>Duganella nigrescens</i>	banano	0370	16S	2016	no descrito en el cultivo
<i>D. radicis</i>	banano	0370	16S	2016	no descrito en el cultivo
<i>D. violaceinigra</i>	banano	0370	16S	2016	no descrito en el cultivo
E					
<i>Empedobacter brevis</i>	banano	0244	16S	2013	no descrito en el cultivo
<i>Enterobacter aerogenes</i>	banano	0244	16S	2013	no descrito en el cultivo
<i>E. amnigenus</i>	desconocido	0250	16S	2014	Ali (2019)
<i>E. asburiae</i>	banano	0154-157- 185-244- 340	16S	2012-13	Souza et al. (2013)
<i>E. cancerogenus</i>	banano	0185	16S	2012	no descrito en el cultivo

¹El número de boleta corresponde al código asignado al recibir la muestra en el LTM. / ¹The lab report number corresponds to the code assigned when receiving the sample at the LTM.

²Técnica: Secuenciación con 16S gene o PCR. / ²Technique: Sequencing with 16S gene or PCR.

³El año de análisis corresponde a la fecha en la cual se recibió el aislamiento en el LTM. / ³The year of analysis corresponds to the date on which the isolation was received at the LTM.

Cuadro 4. Bacterias identificadas (letras E, L y M) en el Laboratorio de Técnicas Moleculares aplicadas a la Fitoprotección, Universidad de Costa Rica. Montes de Oca, San José, Costa Rica. 2009-2018.

Table 4. Bacteria identified (letters E, L and M) at the Laboratory of Molecular Techniques applied to Plant Protection, Universidad de Costa Rica, Montes de Oca. San Jose, Costa Rica. 2009-2018.

Organismo identificado	Hospedante	Boleta ¹	Técnica ²	Año ³	Literatura relacionada
E					
<i>Enterobacter cloacae</i>	banano	0154	16S	2012	Macedo-Raygoza et al. (2019)
<i>E. cloacae</i>	piña	0283	16S	2014	no descrito en el cultivo
<i>E. hormaechei</i>	banano	0244	16S	2013	Shamsinah & Suhaimi (2017)
<i>E. hormaechei</i>	pitahaya	0255	16S	2014	Retana-Sánchez et al. (2019)
<i>E. ludwigii</i>	banano	0244-340	16S	2013-15	Nyambura et al. (2012)
<i>E. mori</i>	banano	0244	16S	2013	no descrito en el cultivo
<i>E. oryzae</i>	banano	0244	16S	2013	Shamsinah & Suhaimi (2017)
<i>E. oryzae</i>	piña	0306	16S	2015	Weber et al. (2013)
<i>E. radicincitans</i>	desconocido	0250	16S	2014	Berger et al. (2013)
<i>E. sacchari</i>	banano	0244	16S	2013	Zhu et al. (2013)
<i>E. soli</i>	banano	0154	16S	2012	Manter et al. (2011)
<i>Klebsiella michiganensis</i>	desconocido	0397	16S	2016	Mitra et al. (2018)
<i>K. pneumoniae</i>	banano	0154-244	16S	2012-13	Prates et al. (2003)
<i>K. variicola</i>	banano	0154-185-244	16S	2012-13-15	Fan et al. (2016)
<i>K. oxytoca</i>	mango	0183	16S	2012	Estrada-Loera et al. (2019)
<i>K. oxytoca</i>	banano	0370	16S	2016	no descrito en el cultivo
<i>K. oxytoca</i>	jengibre	0391	16S	2016	no descrito en el cultivo
<i>Kocuria rhizophila</i>	banano	0244	16S	2013	Candra et al. (2022)
<i>Kosakonia cowanii</i>	desconocido	0397	16S	2016	Krawczyk et al. (2020)
<i>K. cowanii</i>	chile bloque	0418	16S	2016	no descrito en el cultivo
L					
<i>Leifsonia</i> spp.	banano	0157	16S	2012	no descrito en el cultivo
<i>Leclercia adecarboxylata</i>	banano	0244	16S	2013	Snak et al. (2021)
<i>Leucobacter iarius</i>	banano	0185	16S	2012	Clark & Hodgkin (2015)
<i>L. aridicollis</i>	banano	0244	16S	2013	no descrito en el cultivo
<i>L. chromiireducens</i>	banano	0244	16S	2013	no descrito en el cultivo
<i>L. komagatae</i>	banano	0244	16S	2013	no descrito en el cultivo
<i>Lysinibacillus sphaericus</i>	banano	0244	16S	2013	no descrito en el cultivo
<i>L. fusiformis</i>	banano	0244	16S	2013	Hanh & Mongkolthanaruk (2017)
M					
<i>Metarhizium anisopliae</i>	desconocido	0361	16S	2016	González-Pérez et al. (2022)

¹El número de boleta corresponde al código asignado al recibir la muestra en el LTM. / ¹The lab report number corresponds to the code assigned when receiving the sample at the LTM.

²Técnica: Secuenciación con 16S gene. / ²Technique: Sequencing with 16S gene.

³ El año de análisis corresponde a la fecha en la cual se recibió el aislamiento en el LTM. / ³The year of analysis corresponds to the date on which the isolation was received at the LTM.

Cuadro 5. Bacterias identificadas (letras M, O y P) en el Laboratorio de Técnicas Moleculares aplicadas a la Fitoprotección, Universidad de Costa Rica. Montes de Oca, San José, Costa Rica. 2009-2018.

Table 5. Bacteria identified (letters M, O and P) at the Laboratory of Molecular Techniques applied to Plant Protection, Universidad de Costa Rica, Montes de Oca. San Jose, Costa Rica. 2009-2018.

Organismo identificado	Hospedante	Boleta ¹	Técnica ²	Año ³	Literatura relacionada
M					
<i>Microbacterium</i> spp.	banano	0157	16S	2012	Cordovez et al. (2018)
<i>Myroides odoratimimus</i>	banano	0185	16S	2012	no descrito en el cultivo
<i>Morganella morganii</i> subsp. <i>morganii</i>	banano	0370	16S	2016	no descrito en el cultivo
O					
<i>Ochrobactrum pseudogrignonense</i>	banano	0244	16S	2013	no descrito en el cultivo
P					
<i>Paenibacillus taichungensis</i>	banano	0227	16S	2013	no descrito en el cultivo
<i>P. taiwanensis</i>	banano	0244	16S	2013	Marcano et al. (2016)
<i>P. pabuli</i>	banano	0244	16S	2013	no descrito en el cultivo
<i>Pantoea agglomerans</i>	banano	0154	16S	2012	Khleekorn & Wongrueng (2014)
<i>P. agglomerans</i>	mango	0183	16S	2013	Gutiérrez-Barranquero et al. (2019)
<i>P. ananatis</i>	desconocido	0423	16S	2016	Weller-Stuart et al. (2017)
<i>P. dispersa</i>	banano	0244	16S	2013	Karthik et al. (2017)
<i>P. septica</i>	orquideas	0403	16S	2016	no descrito en el cultivo
<i>P. stewartii</i>	desconocido	0423	16S	2016	Kini et al. (2017)
<i>Phoma glomerata</i>	anona	0341	16S	2015	no descrito en el cultivo
<i>Phomopsis eucalyptorum</i>	árbol de hule	0363	16S	2015	no descrito en el cultivo
<i>Providencia rettgeri</i>	banano	0154-185	16S	2012	no descrito en el cultivo
<i>P. vermicola</i>	banano	0185-244	16S	2012-13	no descrito en el cultivo
<i>Pseudochrobactrum asaccharolyticum</i>	banano	0244	16S	2013	no descrito en el cultivo
<i>Pseudomonas</i> spp.	ornamental	0362	16S	2016	Nordstedt et al. (2020)
<i>P. extremaustralis</i>	jengibre	0391	16S	2016	no descrito en el cultivo
<i>P. fluorescens</i>	tomate	0305	16S	2015	Suresh et al. (2022)
<i>P. fragi</i>	piña	0306	16S	2015	no descrito en el cultivo
<i>P. fuscovaginae</i>	arroz	0153	PCR	2012	Muserimana et al. (2020)
<i>P. geniculata</i>	banano	0244	16S	2013	Lau et al. (2020)
<i>P. hibiscicola</i>	desconocido	0397	16S	2016	Punjabi et al. (2018)
<i>P. marginalis</i>	jengibre	0391	16S	2016	no descrito en el cultivo
<i>P. mendocina</i>	desconocido	0415	16S	2016	Chong et al. (2017)
<i>P. monteirii</i>	banano	0244-185	16S	2012-13	Gechemba et al. (2015)

¹El número de boleta corresponde al código asignado al recibir la muestra en el LTM. / ¹The lab report number corresponds to the code assigned when receiving the sample at the LTM.

²Técnica: Secuenciación con 16S gene o PCR. / ²Technique: Sequencing with 16S gene or PCR.

³ El año de análisis corresponde a la fecha en la cual se recibió el aislamiento en el LTM. / ³The year of analysis corresponds to the date on which the isolation was received at the LTM.

Cuadro 6. Bacterias identificadas (letras P, R y S) en el Laboratorio de Técnicas Moleculares aplicadas a la Fitoprotección, Universidad de Costa Rica. Montes de Oca, San José, Costa Rica. 2009-2018.

Table 6. Bacteria identified (letters P, R and S) at the Laboratory of Molecular Techniques applied to Plant Protection, Universidad de Costa Rica. Montes de Oca, San Jose, Costa Rica. 2009-2018.

Organismo identificado	Hospedante	Boleta ¹	Técnica ²	Año ³	Literatura relacionada
P					
<i>Pseudomonas nitroreducens</i>	banano	0185	16S	2012	Su et al. (2017)
<i>P. oryzihabitans</i>	arroz	0450	16S	2017	Hou et al. (2020)
<i>P. putida</i>	banano	0157	16S	2012	Ghequire et al. (2016)
<i>P. taiwanensis</i>	desconocido	0397	16S	2016	Cheng et al. (2021)
<i>Pseudoxanthomonas helianthi</i>	jengibre	0391	16S	2016	no descrito en el cultivo
R					
<i>Ralstonia mannitolilytica</i>	banano	0154	16S	2012	Fluit et al. (2021)
<i>R. pickettii</i>	jatrofa	0069	16S	2011	Dubey et al. (2017)
<i>R. solanacearum</i>	jengibre	0269	PCR	2013	Merga et al. (2018)
<i>R. solanacearum</i>	tomate	0177	PCR	2014	Ibrahim et al. (2020)
<i>R. solanacearum</i>	heliconia	0342	PCR	2015	no descrito en el cultivo
<i>R. solanacearum</i> raza 4	jengibre	0463	PCR	2017	Kumar et al. (2014)
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	piña	0165	16S	2013	Leneveu-Jenvrin et al. (2020)
S					
<i>Schizophyllum commune</i>	desconocido	0403	16S	2016	Kaur et al. (2018)
<i>Sphingomonas</i> spp.	helecho	0174	16S	2013	Granados-Montero et al. (2014)
<i>S. aeria</i>	orquídeas	0403	16S	2016	no descrito en el cultivo
<i>S. zea</i>	orquídeas	0403	16S	2016	no descrito en el cultivo
<i>Sphingobacterium anhuiense</i>	banano	0154	16S	2012	no descrito en el cultivo
<i>S. composti</i>	banano	0244	16S	2013	no descrito en el cultivo
<i>S. multivorum</i>	banano	0244	16S	2013	no descrito en el cultivo
<i>S. psychroaquaticum</i>	banano	0244	16S	2013	Xu et al. (2020)
<i>S. siyangense</i>	banano	0244	16S	2013	no descrito en el cultivo
<i>S. spiritivorum</i>	banano	0244	16S	2013	no descrito en el cultivo
<i>Sphingobium yanoikuyae</i>	jengibre	0391	16S	2016	no descrito en el cultivo
<i>Sphingomonas panni</i>	desconocido	0006	16S	2010	Li et al. (2023)
<i>S. desiccabilis</i>	desconocido	0006	16S	2010	Asaf et al. (2020)
<i>S. asaccharolytica</i>	desconocido	0006	16S	2010	no descrito en el cultivo
<i>Staphylococcus auricularis</i>	banano	0185	16S	2012	no descrito en el cultivo
<i>S. capitis</i>	jengibre	0391	16S	2016	no descrito en el cultivo
<i>S. epidermidis</i>	jengibre	0391	16S	2016	no descrito en el cultivo
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	café	0019-20-21	16S	2011	Fernandez-Guimac et al. (2023)

¹El número de boleta corresponde al código asignado al recibir la muestra en el LTM. / ¹The lab report number corresponds to the code assigned when receiving the sample at the LTM.

²Técnica: Secuenciación con 16S gene o PCR. / ²Technique: Sequencing with 16S gene or PCR.

³ El año de análisis corresponde a la fecha en la cual se recibió el aislamiento en el LTM. / ³The year of analysis corresponds to the date on which the isolation was received at the LTM.

Cuadro 7. Bacterias identificadas (letras W, X y Y) y levaduras (letras C, M, P y W) en el Laboratorio de Técnicas Moleculares aplicadas a la Fitoprotección, Universidad de Costa Rica. Montes de Oca, San José, Costa Rica. 2009-2018.

Table 7. Bacteria (letters W, X and Y) and yeast (letters C, M, P and W) identified at the Laboratory of Molecular Techniques applied to Plant Protection, Universidad de Costa Rica. Montes de Oca, San Jose, Costa Rica. 2009-2018.

Organismo identificado	Hospedante	Boleta ¹	Técnica ²	Año ³	Literatura relacionada
W					
<i>Wautersiella falsenii</i>	banano	0185-244	16S	2012-13	no descrito en el cultivo
X					
<i>Xanthomonas campestris</i>	chile dulce	0430	PCR	2016	Esyanti et al. (2020)
<i>Xylella fastidiosa</i>	phoenix	0317	16S	2015	Oriana et al. (2015)
Y					
<i>Yokenella regensburgei</i>	banano	0244	16S	2013	Nyambura et al. (2012)
Levaduras					
C					
<i>Candida carpophila</i>	desconocido	395	ITS	2016	Liu et al. (2023)
<i>Candida intermedia</i>	desconocidos	395	ITS	2016	Huang et al. (2011)
M					
<i>Meyerozyma caribbica</i>	desconocido	395	ITS	2016	Bautista-Rosales et al. (2013)
P					
<i>Pichia caribbica</i>	desconocido	395	ITS	2016	Mahunu et al. (2016)
W					
<i>Wickerthamomyces anomalus</i>	banano	0165	ITS	2013	no descrito en el cultivo
<i>Wickerthamomyces anomalus</i>	piña	0185-211	ITS	2013	Castro-Chinchilla & Umaña-Rojas (2019)

¹El número de boleta corresponde al código asignado al recibir la muestra en el LTM. / ¹The lab report number corresponds to the code assigned when receiving the sample at the LTM.

²Técnica: Secuenciación con 16S, ITS y PCR. / ²Technique: Sequencing with 16S, ITS and PCR.

³El año de análisis corresponde a la fecha en la cual se recibió el aislamiento en el LTM. / ³The year of analysis corresponds to the date on which the isolation was received at the LTM.

Discusión

Mediante esta investigación se utilizaron herramientas relacionadas a técnicas moleculares, entre estas, la detección de microorganismos por medio de oligonucleótidos específicos y universales, y la identificación taxonómica por medio de secuenciación de regiones parciales del genoma, en específico del 16S y 18S. Esto permitió identificar a nivel taxonómico un gran número de microorganismos que se encuentran en cultivos agrícolas, ornamentales y forestales de Costa Rica. Se identificó un mayor número de bacterias en cultivos de importancia agrícola como el banano y arroz; algunas ornamentales como orquídeas y helechos; y forestales como jatropa y el árbol de hule, además, hubo un menor número de levaduras identificadas, en dos cultivos del país (banano y piña). Las bacterias se encuentran presentes en ambientes agrícolas, tanto bacterias patogénicas como

no patogénicas, y representan el mayor grupo de microorganismos (Flemming & Wuertz, 2019) que se encuentran en el planeta con cerca de $1,2 \times 10^{29}$ especies conocidas en suelo, y por ende, esto repercute en la alta presencia de bacterias en los cultivos analizados.

El género de bacterias que fue más identificado a nivel de cultivos agrícolas, y que tuvo un mayor número de especies identificadas fue *Pseudomonas*. Las especies patogénicas de este género son conocidas por producir serios daños en diversos cultivos, entre estas, especies reportadas como *P. corrugata* que causan necrosis a nivel de tallo en cultivos como tomate, chile dulce y algunas ornamentales, *P. savastanoi* que causa defoliación y pérdida de frutos en olivos y *P. syringae* que produce tizones, canchros y lesiones varias, tanto en plantas herbáceas como leñosas (Palacio-Bielsa et al., 2009). Sin embargo, si se considera el género *Pseudomonas sensu stricto*, este posee intereses a nivel fitopatológico, médico y ambiental. Especies como *P. corrugata*, una bacteria que está reportada como patogénica, también pueden ser un controlador biológico para bacterias patogénicas y hongos (Catara, 2007). Otras especies, como *P. fluorescens* o *P. poae* son bacterias promotoras del crecimiento de plantas y pueden favorecer la floración en condiciones de estrés, tales como sequía y condiciones deficientes en la presencia de nutrientes (Nordstedt et al., 2020).

Una mayor presencia dentro del grupo de bacterias identificadas, también se dio con integrantes del género *Bacillus*. Estas especies pueden ser utilizadas como antagonistas o agentes de biocontrol, que es el caso de *B. amyloliquefaciens* en el control del patógeno *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* raza 4 en banano (Wang et al., 2013). En algunos casos concretos, como en los géneros *Pseudomonas* y *Pantoea*, la identificación de algunas especies es preliminar, debido a la poca especificidad que existe en el 16S para la identificación a nivel de las especies que han sido reportadas. Se recomienda establecer un análisis multilocus (MLSA) que permita una mayor resolución de estos géneros, o en los casos donde se requiera un estudio más pormenorizado.

Para los cultivos analizados, el banano fue el cultivo agrícola donde se encontró una mayor variación en el número de especies de bacterias. En la investigación de Marcano et al. (2016) en el cultivo de banano, se encontró un total de 261 aislamientos de bacterias asociadas a las raíces, donde predominaban las especies *Pseudomonas*, *Bacillus* y *Enterobacter*, especies conocidas como promotoras del crecimiento en plantas, otras mejorando la calidad del fruto y también como controladoras en la incidencia de enfermedades.

En el caso de las especies de levaduras identificadas por medio de este estudio, estas poseen funciones variadas en el ecosistema, géneros como *Candida* pueden estar relacionadas a producción de biofumigantes (Huang et al., 2011) y otros géneros como *Meyerozyma* tiene acción como posibles biocontroladores ante la presencia de patógenos (Bautista-Rosales et al., 2013) o en el caso del género *Pichia* que logra ejercer un control a nivel poscosecha (Mahunu et al., 2016). Se recomienda la consulta de los artículos indicados en este estudio para un mejor entendimiento de los grupos de bacterias y levaduras identificados, y su relación con el entorno. El desarrollo de un banco de ADN y de material genético proveniente de los microorganismos aislados, genera un insumo valioso para el país y para el desarrollo de nuevas investigaciones en el campo agrícola, que permitan un fácil acceso a materiales que se han colectado a lo largo de los años en diferentes ambientes.

Conclusiones

Esta investigación permitió identificar a nivel taxonómico las bacterias y levaduras provenientes de cultivos de Costa Rica, entre los años 2009 y 2018. Se brindó información sobre especies patogénicas, no patogénicas, controladores biológicos en campo y poscosecha, y otros microorganismos utilizados como antagonistas, los cuales pueden ser aislados de diferentes cultivos agrícolas, ornamentales y forestales. Además, se brinda un insumo de consulta y la posibilidad de realizar investigaciones a futuro a partir de los microorganismos que se encuentran conservados dentro del banco de muestras de ADN.

Agradecimiento

Especial agradecimiento a los técnicos (as) Freddy Benavides, Catherine Jiménez y Alejandro Sebiani que colaboraron con la implementación de las metodologías desarrolladas. A la Vicerrectoría de Acción Social por facilitar el desarrollo y continuidad del proyecto ED-2811 de la Clínica de Diagnóstico: Técnicas Moleculares aplicadas a la Fitoprotección del Centro de Investigación en Protección de Cultivos.

Referencias

- Abbes, C., Mansouri, A., Werfelli, N., & Landoulsi, A. (2018). Aerobic Biodegradation of DDT by *Advenella Kashmirensis* and its Potential Use. *Soil Bioremediation, Soil and Sediment Contamination: An International Journal*, 27(6), 455-468. <https://doi.org/10.1080/15320383.2018.1485629>
- Ahmed, T., Noman, M., Shahid, M., Shahid, M. S., & Li, B. (2021). Antibacterial potential of green magnesium oxide nanoparticles against rice pathogen *Acidovorax oryzae*. *Materials Letters*, 282, Article 128839. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2020.128839>
- Ali, B. (2019). Functional and Genetic Diversity of Bacteria Associated with the Surfaces of Agronomic Plants. *Plants*, 8, Article 91. <https://doi.org/10.3390/plants8040091>
- Asaf, S., Numan, M., Khan, A., & Al-Harrasi, A. (2020). *Sphingomonas*: from diversity and genomics to functional role in environmental remediation and plant growth. *Critical Reviews in Biotechnology*, 40(2), 138-152. <https://doi.org/10.1080/07388551.2019.1709793>
- Berger, B., Brock, A. K., & Ruppel, S. (2013). Nitrogen supply influences plant growth and transcriptional responses induced by *Enterobacter radicincitans* in *Solanum lycopersicum*. *Plant Soil*, 370, 641–652. <https://doi.org/10.1007/s11104-013-1633-0>
- Blanco-Meneses, M., & Ristaino, J. (2011). Detection and quantification of *Peronospora tabacina* using a Real-time Polymerase Chain Reaction assay. *Plant Disease*, 95(6), 673-682. <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-10-0333>
- Branquinho, R., Günter, K., Kämpfer, P., & Peixe, L. (2015). The status of the species *Bacillus aerophilus* and *Bacillus stratosphericus*. Request for an Opinion. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 65, Article 1101. <https://doi.org/10.1099/ijms.0.000004>
- Bautista-Rosales, P., Calderon-Santoyo, M., Servín-Villegas, R., Ochoa-Álvarez, N., & Ragazzo-Sánchez, J. (2013). Action mechanisms of the yeast *Meyerozyma caribbica* for the control of the phytopathogen *Colletotrichum gloeosporioides* in mangoes. *Biological Control*, 65(3), 293-301. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2013.03.010>
- Buszewski B., Rogowska, A., Pomastowski, P., Złoch, M., & Railean-Plugaru, V. (2017). Identification of Microorganisms by Modern Analytical Techniques. *Journal of AOAC International*, 100(6), 1607–1623. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.17-0207>
- Campos-Sánchez, R., Flores-Cruz, A., Molina-Mora, J. A., Mora, R., Rodríguez, C., Gatica-Arias, A., & Guzmán-Verri, C. (2021). Avances de la bioinformática en Costa Rica: vista retrospectiva y perspectivas. *Revista de Biología Tropical*, 69(4), 1204-1223. <https://doi.org/10.15517/rbt.v69i4.46873>
- Candra, R. T., Prasasty, V. D., & Karmawan, L. U. (2022). Biochemical Analysis of Banana Plants in Interaction between Endophytic Bacteria *Kocuria rhizophila* and the Fungal Pathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race

- (Foc TR4). *Biology and Life Sciences Forum*, 11, Article 84. <https://doi.org/10.3390/IECPS2021-11990>
- Carvalho, A., Silva, J., & Teixeira, P. (2017). Lettuce and fruits as a source of multidrug resistant *Acinetobacter* spp. *Food Microbiology*, 64, 119-125. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2016.12.005>
- Castro-Chinchilla, J. & Umaña-Rojas, G. (2019). Yeasts and bacteria associated with pineapple fruit during postharvest handling. *Acta Horticulturae*, 1239, 77-84. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2019.1239.9>
- Catara, V. (2007). *Pseudomonas corrugata*: plant pathogen and/or biological resource?. *Molecular Plant Pathology*, 8(3), 233-244. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2007.00391.x>
- Ceze, L., Nivala, J. & Strauss, K. (2019). Molecular digital data storage using DNA. *Nature Reviews Genetics*, 20, 456-466. <https://doi.org/10.1038/s41576-019-0125-3>
- Cheng, C., Wang, Q., Wang, Q. X., He, L. Y., & Sheng, X. (2021). Wheat-associated *Pseudomonas taiwanensis* WRS8 reduces cadmium uptake by increasing root surface cadmium adsorption and decreasing cadmium uptake and transport related gene expression in wheat. *Environmental Pollution*, 268, Article 115850. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115850>
- Chong, T. M., Chen, J. W., See-Too, W. S., Yu, C., Ang, G. Y., Lim, Y., Yin, W., Grandclement, C., Faure, D., Dessaux, Y., & Chank, K. (2017). Phenotypic and genomic survey on organic acid utilization profile of *Pseudomonas mendocina* strain S5.2, a vineyard soil isolate. *AMB Express*, 7, Article 138. <https://doi.org/10.1186/s13568-017-0437-7>
- Chowdappa, P., Kumar, S.P., Lakshmi, M.J., & Upreti, K.K. (2013). Growth stimulation and induction of systemic resistance in tomato against early and late blight by *Bacillus subtilis* OTPB1 or *Trichoderma harzianum* OTPB3. *Biological Control*, 65(1), 109-117. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2012.11.009>
- Clark, L. C., & Hodgkin, J. (2015). *Leucobacter musarum* subsp. *musarum* sp. nov., subsp. nov., *Leucobacter musarum* subsp. *japonicus* subsp. nov., and *Leucobacter celer* subsp. *astrifaciens* subsp. nov., three nematopathogenic bacteria isolated from Caenorhabditis, with an emended description of *Leucobacter celer*. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 65(11), 3977–3984. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.000523>
- Cordovez, V., Schöp, S., Hordijk, K., Dupré de Boulois, H., Coppens, F., Hanssen, I., Raaijmakers, J., & Carrion, V. (2018). Priming of Plant Growth Promotion by Volatiles of Root-Associated *Microbacterium* spp. *Applied and Environmental Microbiology*, 84(22), Article e01865-18. <https://doi.org/10.1128/AEM.01865-18>
- Dañez, J., Requiso, P., Alfafara, C., Nayve, F., & Ventura, J. (2020). Optimization of Fermentation Factors for Polyhydroxybutyrate (PHB) Production Using *Bacillus megaterium* PNCM 1890 in Simulated Glucose-Xylose Hydrolysates from Agricultural Residues. *Philippine Journal of Science*, 149(1), 163-175.
- Dobrzyński, J., Jakubowska, Z., & Dybek, B. (2022). Potential of *Bacillus pumilus* to directly promote plant growth. *Frontiers in Microbiology*, 13, Article 1069053. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1069053>
- Dubey, G., Kollah, B., Ahirwar, U., Mandal, A., Thakur, J., Patra, A., & Mohanty, S. (2017). Phylloplane bacteria of *Jatropha curcas*: diversity, metabolic characteristics, and growth-promoting attributes towards vigor of maize seedling. *Canadian Journal of Microbiology*, 63(10), 822-833. <https://doi.org/10.1139/cjm-2017-0189>
- Estrada-Loera, R., Gallegos-Robles, M., Orona-Castillo, I., García-Hernandez, J., Osuna-García, J., Sánchez-Lucio, R., Ríos-Plaza, J., & Vasquez-Vasquez, C. (2019). Prevalencia de bacterias patógenas en mango (*Mangifera indica* L.) cv. Tommy Atkins. *Biocencia*, 21(1), 5-12. <https://biocencia.unison.mx/index.php/biocencia/article/view/807>
- Esyanti, R. R., Farah, N., Bajra, B. D., Nofitasari, D., Martien, R., Sunardi, & Safitri, R. (2020). Comparative study of nano-

- chitosan and synthetic bactericide application on chili pepper (*Capsicum annum* L.) infected by *Xanthomonas campestris*. *AGRIVITA Journal of Agricultural Science*, 42(1), 13–23. <https://doi.org/10.17503/agrivita.v42i1.1283>
- Fan, H. C., Zeng, L., Yang, P. W., Guo, Z. X., & Bai, T. T. (2016). First Report of Banana Soft Rot Caused by *Klebsiella variicola* in China. *Plant Disease*, 100(2), 517-517. <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-15-0586-PDN>
- Fernandez-Guimac, S., Peraz, J., Mendoza, J., Bustamante, D., & Calderon, M. S. (2023). Exploring the diversity of microorganisms and potential pectinase activity isolated from wet fermentation of coffee in northeastern Peru. *Food Science and Technology*, 43, Article e81922. <https://doi.org/10.1590/fst.81922>
- Flemming, H. C., & Wuertz, S. (2019). Bacteria and archaea on Earth and their abundance in biofilms. *Nature Reviews Microbiology*, 17, 247–260 <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0158-9>
- Fluit, A. C., Bayjanov, J. R., Aguilar, M. D., Cantón, R., Tunney, M., Elborn, S., van Westreenen, M., & Ekkelenkamp, M. (2021). Characterization of clinical *Ralstonia* strains and their taxonomic position. *Antonie van Leeuwenhoek*, 114, 1721–1733. <https://doi.org/10.1007/s10482-021-01637-0>
- Freedman, A., Peet, K., Boock, J., Penn, K., Prather, K., & Thompson, J. (2018). Supercritical carbon dioxide, Bioprospecting, Strain isolation, *Bacillus megaterium*, bioprocessing, bacterial spore germination, Bacterial Genomics. *Frontiers in Microbiology*, 9, Article 2152. <http://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02152>
- Furuya, N., Ura, H., Iiyama, K., Matsumoto, M., Takeshita, M., & Takanami, Y. (2002). Specific oligonucleotide primers based on sequences of the 16s-23s rDNA spacer region for the detection of *Burkholderia gladioli* by PCR. *Journal of General Plant Pathology*, 68, 220-224. <http://doi.org/10.1007/PL00013080>
- Gechemba, O., Budambula, N., Makonde, H., Mugweru, J., & Matiru, V. (2015). Potentially beneficial rhizobacteria associated with banana plants in Juja, Kenya. *Research & Reviews: Journal of Microbiology and Biotechnology*, 7, 181-188.
- Ghequire, M., Swings, T., Michiels, J., Gross, H., & De Mot, R. (2016). Draft Genome Sequence of *Pseudomonas putida* BW11M1, a Banana Rhizosphere Isolate with a Diversified Antimicrobial Armamentarium. *Genome Announcement*, 4(2), Article e00251-16. <https://doi.org/10.1128/genomeA.00251-16>
- Giangacomo, C., Mohseni, M., Kovar, L., & Wallace, J. G. (2021). Comparing DNA Extraction and 16S rRNA Gene Amplification Methods for Plant-Associated Bacterial Communities. *Phytobiomes Journal*, 5(2), 190-201. <https://doi.org/10.1094/PBIOMES-07-20-0055-R>
- Glaeser, S., & Kämpfer, P. (2015). Multilocus sequence analysis (MLSA) in prokaryotic taxonomy. *Systematic and Applied Microbiology*, 38(4), 237-245. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2015.03.007>
- González-Pérez, E., Ortega-Amaro, M. A., Bautista, E., Delgado-Sánchez, P., & Jiménez-Bremont, J. F. (2022). The entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* enhances *Arabidopsis*, tomato, and maize plant growth. *Plant Physiology and Biochemistry*, 176, 34-43. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2022.02.008>
- Granados-Montero, M., Sánchez-Chacón, E., Vargas-Montero, M., & Barboza-Aguilar, C. (2014). Hallazgos ultraestructurales en lesiones foliares asociadas a ‘vena roja’ en helecho hoja de cuero. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 5(1), 37-48.
- Gutiérrez-Barranquero, J., Cazorla, F., Torés, J., & de Vicente, A. (2019). *Pantoea agglomerans* as a new etiological agent of a bacterial necrotic disease of mango trees. *Phytopathology*, 109(1), 17-26. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-06-18-0186-R>

- Hall, T. A. (1999). BioEdit: A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41, 95–98. https://doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-14998u1.29
- Hall, C. M., Busch, J. D., Shippy, K., Allender, C. J., Kaestli, M., Mayo, M., Sahl, J., Schupp, J., Colman, R., Keim, P., Currie, B., & Wagner, D. (2015). Diverse *Burkholderia* Species Isolated from Soils in the Southern United States with No Evidence of *B. pseudomallei*. *PLOS ONE*, 10(11), Article 0143254. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0143254>
- Ham, J. H., Melanson, R. A. & Rush, M. C. (2011). *Burkholderia glumae*: next major pathogen of rice? *Molecular Plant Pathology*, 12, 329-339. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2010.00676.x>
- Hamidou, I., Bodo, L., & Harvill, E. (2017). *Bordetella*, environmental strains, ecological niches, extra-host adaptation, environmental origin. *Frontiers in Microbiology*, 8, Article 28. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00028>
- Hanh, H., & Mongkolthananuk, W. (2017). Correlation of growth and IAA production of *Lysinibacillus fusiformis* UD 270. *Journal of Applied and Physical Sciences*, 3(3), 98-106. https://tafpublications.com/gip_content/paper/Japs-3.3.3.pdf
- Hathout, A., el-nekeety, A., Hamed, A., Bassem, S., Abelaziz, M., Ghareeb, M., & Aly, S. (2016). Novel Egyptian bacterial strains exhibiting antimicrobial and anti-aflatoxigenic activity. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 6(12), 001-010. <https://doi.org/10.7324/japs.2016.601201>
- Heyrman, J., Rodríguez-Díaz, M., Joke, D., Andreas, F., Niall, L., & De Vos, P. (2005). *Bacillus arenosi* sp. nov., *Bacillus arvi* sp. nov. and *Bacillus humi* sp. nov., isolated from soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55(1), 111-117. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.63240-0>
- Ho, Y. N., Chiang, H., Chao, C., Su, C., Hsu, H., Guo, C., Hsieh, L., & Huang, C. (2015). *In planta* biocontrol of soilborne *Fusarium* wilt of banana through a plant endophytic bacterium, *Burkholderia cenocepacia* 869T2. *Plant Soil*, 387, 295–306. <https://doi.org/10.1007/s11104-014-2297-0>
- Horita, M., Yano, K. & Tsuchiya, K. (2004). PCR-based specific detection of *Ralstonia solanacearum* race 4 strains. *Journal of General Plant Pathology*, 70, 278–283. <https://doi.org/10.1007/s10327-004-0126-7>
- Hou, Y., Zhang, Y., Yu, L., Ding, X., Liu, L., Wang, L., & Huang, S. (2020). First Report of *Pseudomonas oryzae* causing rice panicle blight and grain discoloration in China. *Plant Disease*, 104(11), Article 3055. <https://doi.org/10.1094/PDIS-10-19-2186-PDN>
- Huang, R., Li, G. Q., Zhang, J., Yang, L., Che, H., Jiang, D., & Huang, H. (2011). Control of Postharvest Botrytis Fruit Rot of Strawberry by Volatile Organic Compounds of *Candida intermedia*. *Phytopathology*, 101(7), 859-869. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-09-10-0255>
- Ibrahim, Y. E., Balabel, N. M., Saleh, A. A., & Farag, N. (2020). Determination of differences in *Ralstonia solanacearum* phylotype II, sequevar 1 forms as related to their colony characteristics on Kelman medium and pathogenesis. *Journal of Plant Pathology*, 102, 59–66. <https://doi.org/10.1007/s42161-019-00372-w>
- Ibrahim, M. A., Metry, E. A., Moustafa, S. A., Tawfik, A. E., & NasrEl-Din, T. M. (2005). Morphological and molecular diagnosis of commercial potato cultivars infected with *Ralstonia solanacearum*. *Arabian Journal of Biotechnology*, 8(2), 211-222.
- Ijato, J. Y., Olajide, O. O., & Ojo, B. O. (2022). *Rhizoctonia solani*, *Aspergillus niger*, *Streptococcus pyrogenes*, *Alcaligenes faecalis* and *Proteus vulgaris* selectively associated with two varieties of banana and effects of storage conditions on nutritional composition of banana. *International Journal of Frontline*, 01(01), 007-013. <https://doi.org/10.56355/ijfrr.2022.1.1.0002>

- Islam, M. R., Hossain, M. R., Kim, H. T., Jesse, D. M. I., Abuyusuf, M., Jung, H. J. Park, J. I., & Nou, I. S. (2019). Development of Molecular Markers for Detection of *Acidovorax citrulli* Strains Causing Bacterial Fruit Blotch Disease in Melon. *International Journal of Molecular Science*, 20, Article 2715. <https://doi.org/10.3390/ijms20112715>
- Jeng, R. S., Svircev, A. M., Myers, A. L., Beliaeva, L., Hunter, D. M., & Hubbes, M. (2001). The use of 16S and 16S-23S rDNA to easily detect and differentiate common Gram-negative orchard epiphytes. *Journal of Microbiological Methods*, 44(1), 69-77. [https://doi.org/10.1016/s0167-7012\(00\)00230-x](https://doi.org/10.1016/s0167-7012(00)00230-x)
- Karthik, M., Pushpakanth, P., Krishnamoorthy, R., & Senthilkumar, M. (2017). Endophytic bacteria associated with banana cultivars and their inoculation effect on plant growth. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 92(6), 568-576. <https://doi.org/10.1080/14620316.2017.1310600>
- Kaur, M., Chadha, P., Kaur, S., Kaur, A., Kaur, R., Kumar, A., & Kaur, R. (2018). *Schizophyllum commune* induced genotoxic and cytotoxic effects in *Spodoptera litura*. *Scientific Reports*, 8, Article 4693. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-22919-0>
- Khleekorn, S., & Wongrueng, S. (2014). Evaluation of antagonistic bacteria inhibitory to *Colletotrichum musae* on banana. *Journal of Agricultural Technology*, 10(2), 383-390.
- Kim, J., & Park, W. (2015). Indole: a signaling molecule or a mere metabolic byproduct that alters bacterial physiology at a high concentration? *Journal of Microbiology*, 53, 421-428. <https://doi.org/10.1007/s12275-015-5273-3>
- Kini, K., Agnimonhan, R., Afolabi, O., Milan, B., Soglonou, B., Gbogbo, V., Koebnik, R., & Silué, D. (2017). First Report of a New Bacterial Leaf Blight of Rice Caused by *Pantoea ananatis* and *Pantoea stewartii* in Benin. *Plant Disease*, 101(1), 242. <https://doi.org/10.1094/PDIS-06-16-0940-PDN>
- Krawczyk, K., & Borodynko-Filas, N. (2020). *Kosakonia cawonii* as the New Bacterial Pathogen Affecting Soybean (*Glycine max* Willd.). *European Journal of Plant Pathology*, 157, 173-183. <https://doi.org/10.1007/s10658-020-01998-8>
- Kumar, A., Prameela, T. P., Suseelabhai, R., Siljo, A., Anandaraj, M., & Vinatzer, B. A. (2014). Host specificity and genetic diversity of race 4 strains of *Ralstonia solanacearum*. *Plant Pathology*, 63, 1138-1148. <https://doi.org/10.1111/ppa.12189>
- Lane, D. J., Pace, B., Olsen, G. J., Stahl, D. A., Sogin, M. L., & Pace, N. R. (1985). Rapid determination of 16S ribosomal RNA sequences for phylogenetic analyses. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 82(20), 6955-6959. <https://doi.org/10.1073/pnas.82.20.6955>
- Lau, E., Tani, A., Khew, C., Chua, Y., & Hwang, S. (2020). Plant growth-promoting bacteria as potential bio-inoculants and biocontrol agents to promote black pepper plant cultivation. *Microbiological Research*, 240, Article 126549. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126549>
- Lee, C., Lee, H. H., Mannaa, M., Kim, N., Park, J., Kim, J., & Seo, Y. S. (2018). Genomics-based Sensitive and Specific Novel Primers for Simultaneous Detection of *Burkholderia glumae* and *Burkholderia gladioli* in Rice Seeds. *Plant Pathology Journal*, 34(6), 490-498. <https://doi.org/10.5423/PPJ.OA.07.2018.0136>
- Leite J., R. P., Minsavage, G. V., Bonas, U., & Stall R. E. (1994). Detection and identification of phytopathogenic *Xanthomonas* strains by amplification of DNA sequences related to the hrp genes of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *Applied and Environmental Microbiology*, 60(4), 1068-1077. <https://doi.org/10.1128/aem.60.4.1068-1077.1994>
- Leneveu-Jenvrin, C., Quentin, B., Assemat, S., Hoarau, M., Meile, J., & Remize, F. (2020). Changes of Quality of Minimally-Processed Pineapple (*Ananas comosus*, var. 'Queen Victoria') during Cold Storage: Fungi in the Leading

- Role. *Microorganisms*, 8(2), Article 185. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8020185>
- Li, C., Cheng, P., Zheng, L., Li, Y., Chen, Y., Wen, S., & Yu, G. (2021). Comparative genomics analysis of two banana Fusarium wilt biocontrol endophytes *Bacillus subtilis* R31 and TR21 provides insights into their differences on phyto-beneficial trait. *Genomics*, 113(3), 900-909. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2021.02.006>
- Li, H., Guan, Y., Dong, Y., Zhao, L., Rong, S., Chen, W., Lv, M., Xu, H., Gao, X., Chen, R., Li, L., & Xu, Z. (2018). Isolation and evaluation of endophytic *Bacillus tequilensis* GYLH001 with potential application for biological control of *Magnaporthe oryzae*. *PLOS ONE*, 13(10), Article e0203505. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0203505>
- Li, Z., Henawy, A. R., Halema, A. A., Fan, Q., Duanmu, D., & Huang, R. A. (2022). Wild Rice Rhizobacterium *Burkholderia cepacia* BRDJ Enhances Nitrogen Use Efficiency in Rice. *International Journal of Molecular Science*, 23, Article 10769. <https://doi.org/10.3390/ijms231810769>
- Li, Q., Xiang, P., Li, L., Zhang, T., Wu, Q., Bao, Z., Tu, W., & Zhao, C. (2023). Phosphorus mining activities alter endophytic bacterial communities and metabolic functions of surrounding vegetables and crops. *Plant Soil*, (2023). <https://doi.org/10.1007/s11104-023-05961-4>
- Liu, M., Hong, G., Li, H., Bing, X., Chen, Y., Jing, X., Gershenzon, J., Lou, Y., Baldwin, I., & Li, R. (2023). Sakuranetin protects rice from brown planthopper attack by depleting its beneficial endosymbionts. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 120 (23), Article e2305007120. <https://doi.org/10.1073/pnas.2305007120>
- Liu, M., Philp, J., Wang, Y., Hu, J., Wei, Y., Li, J., Ryder, M., Toh, R., Zhou, T., Denton, M., Wu, Y., & Yang, H. (2022). Plant growth-promoting rhizobacteria *Burkholderia vietnamiensis* B418 inhibits root-knot nematode on watermelon by modifying the rhizosphere microbial community. *Scientific Reports*, 12, Article 8381. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-12472-2>
- Liu, Q., Xiao, W., Wu, Z., Li, S., Yuan, Y., & Li, H. (2016). Identification of *Dickeya dadantii* as a causal agent of banana bacterial sheath rot in China. *Journal of Plant Pathology*, 98(3), 503-510.
- Lu, X., Zhou, D., Chen, X., Zhang, J., Huang, H., & Wei, L. (2017). Isolation and characterization of *Bacillus altitudinis* JSCX-1 as a new potential biocontrol agent against *Phytophthora sojae* in soybean [*Glycine max* (L.) Merr.]. *Plant Soil*, 416, 53–66. <https://doi.org/10.1007/s11104-017-3195-z>
- Macedo-Raygoza, G., Valdez-Salas, B., Prado, F., Prieto, K., Yamaguchi, L., Kato, M., Canto-Canché, B., Carrillo-Beltrán, M., Di Mascio, P., White, J., & Beltrán-García, M. (2019). *Enterobacter cloacae*, an endophyte that establishes a nutrient-transfer symbiosis with banana plants and protects against the black sigatoka pathogen. *Frontiers in Microbiology*, 10, Article 804. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00804>
- Mahunu, G., Zhang, H., Yang, Q., Zhang, X., Li, D., & Zhou, Y. (2016). Improving the biocontrol efficacy of *Pichia caribbica* with phytic acid against postharvest blue mold and natural decay in apples. *Biological Control*, 92, 172-180. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2015.10.012>
- Manter, D.K., Hunter, W.J. & Vivanco, J. M. (2011). *Enterobacter soli* sp. nov.: A Lignin-Degrading γ -Proteobacteria Isolated from Soil. *Current Microbiology*, 62, 1044–1049. <https://doi.org/10.1007/s00284-010-9809-9>
- Marcano, I., Díaz-Alcántara, C., Urbano, B., & González-Andrés, F. (2016). Assessment of bacterial populations associated with banana tree roots and development of successful plant probiotics for banana crop. *Soil Biology and Biochemistry*, 99, 1-20. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2016.04.013>
- Mena-Violante, H., & Olalde-Portugal, V. (2007). Alteration of tomato fruit quality by root inoculation with plant growth-

- promoting rhizobacteria (PGPR): *Bacillus subtilis* BEB-13bs. *Scientia Horticulturae*, 113(1), 103-106. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2007.01.031>
- Merga, J., Habtamu, T., & Eshetu D. (2018) Integrated management of bacterial wilt (*Ralstonia solanacearum*) of ginger (*Zingiber officinale*) in Southwestern Ethiopia. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 51(15-16), 834-851. <https://doi.org/10.1080/03235408.2018.1504374>
- Mitra, S., Pramanik, K., Kumar, P., Soren, T., Sarkar, A., Sundar, R., Pandey, S., & Maiti, T. (2018). Characterization of Cd-resistant *Klebsiella michiganensis* MCC3089 and its potential for rice seedling growth promotion under Cd stress. *Microbiological Research*, 210, 12-25. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.03.003>
- Mullins, A. J., Murray, J., Bull, M. J., Jenner, M., Jones, C., Webster, G., Green, A., Neill, D., Connor, T., Parkhill, J., Challis, G., & Mahenthiralingam, E. (2019). Genome mining identifies cepacin as a plant-protective metabolite of the biopesticidal bacterium *Burkholderia ambifaria*. *Nature Microbiology*, 4, 996–1005. <https://doi.org/10.1038/s41564-019-0383-z>
- Murray, M. G., & Thompson, W. F. (1980). Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. 1980. *Nucleic Acids Research*, 8 (19), 4321–4326. <https://doi.org/10.1093/nar/8.19.4321>
- Musonierimana, S., Bez, C., Licastro, D., Habarugira, G., Bigirimana, J., & Venturi, V. (2020). Pathobiomes Revealed that *Pseudomonas fuscovaginae* and *Sarocladium oryzae* are Independently Associated with Rice Sheath Rot. *Microbial Ecology*, 80, 627–642. <https://doi.org/10.1007/s00248-020-01529-2>
- Nordstedt, N., Chapin, L., Taylor, C., & Michelle, J. (2020). Identification of *Pseudomonas* spp. That Increase Ornamental Crop Quality During Abiotic Stress. *Frontiers in Plant Science*, 10, Article 1754. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01754>
- Nyambura, C., Njeri, V., Tani, A., & Wangari C. (2012). Isolation and identification of endophytic bacteria of bananas (*Musa* spp.) in Kenya and their potential as biofertilizers for sustainable banana production. *African Journal of Microbiology Research*, 6(34), 6414-6422. <https://doi.org/10.5897/AJMR12.1112>
- Onasanya, A., Basso, A., Somado, E.A., Gasore, E.R., Nwilene, F.E., Ingelbrecht, J., & Onasanya, R.O. (2010). Development of a combined molecular diagnostic and DNA fingerprinting technique for rice bacteria pathogens in Africa. *Biotechnology*, 9(2), 89-105. <https://doi.org/10.3923/biotech.2010.89.105>
- Oriana, P., Susca, L., Loconsole, G., Saponari, M., Boscia, D., Savino, V., & Martelli, G. P. (2015). Survey for the presence of *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca* (strain CoDiRO) in some forestry and ornamental species in the Salento Peninsula. *Journal of Plant Pathology*, 97(2), 373-376. <https://doi.org/10.4454/JPP.V97I2.031>
- Palacio-Bielsa, A., Cambra, M. A., & López, M. M. (2009). PCR detection and identification of plant-pathogenic bacteria: updated review of protocols (1989-2007). *Journal of Plant Pathology*, 91(2), 249-297.
- Papan, C., & Arka, P. C. (2023). *New report of endophytic bacterium Achromobacter xylosoxidans from root tissue of Musa paradisiaca*. Research Square. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-2879522/v1>
- Posada, L., Ramírez, M., Ochoa-Gómez, N., Cuellar-Gaviria, T., Argel-Roldan, L., Ramírez, C., & Villegas-Escobar, V. (2016). Bioprospecting of aerobic endospore-forming bacteria with biotechnological potential for growth promotion of banana plants. *Scientia Horticulturae*, 212, 81-90. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.09.040>
- Prasannakumar, S., Gowtham, H., Hariprasad, P., Shivaprasad, K., & Niranjana, S. (2015). *Delftia tsuruhatensis* WGR–UOM–BT1, a novel rhizobacterium with PGPR properties from *Rauwolfia serpentina* (L.) Benth. *Ex Kurz* also suppresses fungal phytopathogens by producing a new antibiotic—AMTM. *Letters in Applied Microbiology*, 61(5), 460-468. <https://doi.org/10.1111/lam.12479>

- Prates, T., Nietsche, S., Costa, M., Xavier, A. A., Gomes, D., & Toledo, M. C. (2016). Potential use of endophytic bacteria to promote the plant growth of micropropagated banana cultivar Prata Anã. *African Journal of Biotechnology*, 12(31), 4915-4919. <https://doi.org/10.5897/AJB2012.2958>
- Punjabi, K., Mehta, S., Yedurkar, S., Jain, R., Mukherjee, S., Kale, A., & Deshpande, S. (2018). Extracellular synthesis of silver nanoparticle by *Pseudomonas hibiscicola* – Mechanistic approach. *Advances in Nano Research*, 6(1), 81-92. <http://dx.doi.org/10.12989/anr.2018.6.1.081>
- Rangslang, R., Liu, Z., Lutken, H., & Trevenzoli, B. (2018). *Agrobacterium* spp. Genes and ORFs: Mechanisms and applications in plant science. *Ciencia e Agrotecnologia*, 42(5), 453-463. <https://doi.org/10.1590/1413-70542018425000118>
- Retana-Sánchez, K., Castro-Zúñiga, O., Blanco-Meneses, M., & Quesada-González, A. (2019). Etiología de las pudriciones en el tallo de *Hylocereus costaricensis*, provocadas por *Enterobacter hormaechei*, en Costa Rica. *Agronomía Costarricense*, 43(2), 61-73. <https://doi.org/10.15517/rac.v43i2.37949>
- Rojas-Rojas, F., López-Sánchez, D., Meza-Radilla, G., Méndez-Canarios, A., Ibarra, A., & Estrada-de los Santos, P. (2019). El controvertido complejo *Burkholderia cepacia*, un grupo de especies promotoras del crecimiento vegetal y patógenas de plantas, animales y humanos. *Revista Argentina de Microbiología*, 51(1), 84-92. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2018.01.002>
- Sahoo, R. K., Ansari, M. W., Pradhan, M., Dangar, T., Mohanty, S., & Tuteja, N. (2014). Phenotypic and molecular characterization of native *Azospirillum* strains from rice fields to improve crop productivity. *Protoplasma*, 251, 943–953. <https://doi.org/10.1007/s00709-013-0607-7>
- Sanger, F., Nicklen, S., & Coulson, A. R. (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 74(12), 5463-5467. <https://doi.org/10.1073/pnas.74.12.5463>
- Samy, A., Rajkuberan, C., Prabukumar, S., & Sivaramakrishnan, S. (2014). Evaluation of selective *Rhizobacteria* as a Bioinoculant on Green gram (*Vigna radiate* L.) R. Wilczek. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(8), 988-998. <https://www.ijcmas.com/vol-3-8/A.Anthoni%20Samy,%20et%20al.pdf>
- Sayers, E. W., Bolton, E. E., Brister, J. R., Canese, K., Chan, J., Comeau, D. C., Connor, R., Funk, K., Kelly, C., Kim, S., Madej, T., Marchler-Bauer, A., Lanczycki, C., Lathrop, S., Lu, Z., Thibaud-Nissen, F., Murphy, T., Phan, L., Skripchenko, Y., ... Sherry, S. T. (2022). Database resources of the national center for biotechnology information. *Nucleic Acids Research*, 50(D1), D20-D26. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab1112>
- Shamsinah, N., & Suhaimi, M. (2017). Diversity of bacterial communities in bacterial wilt-diseased banana plants [Tesis de doctorado, no publicada]. University of Malaya.
- Singh, B. K., Trivedi, P., Egidi, E., Macdonald, C., & Delgado-Baquerizo, M. (2020). Crop microbiome and sustainable agriculture. *Nature Reviews of Microbiology*, 18, 601–602. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00446-y>
- Silva, K., Silva, A., Siquiera, M., Bernardi, N., Castanho, M., Ramos, R., & Barbosa, E. (2016). Polyphasic analysis of *Acidovorax citrulli* strains from northeastern Brazil. *Scientia Agricola*, 73 (3), 252-259. <https://doi.org/10.1590/0103-9016-2015-0088>
- Snak, A., Vendruscolo, E., Santos, M., Fiorini, A., & Mesa, D. (2021). Genome sequencing and analysis of plant growth-promoting attributes from *Leclercia adecarboxylata*. *Genetics and molecular biology*, 44(1), Article e20200130. <https://doi.org/10.1590/1678-4685-GMB-2020-0130>
- Souza, A., Cruz, J. C., Sousa, N., Procopio, A., & Silva, G. F. (2014). Endophytic bacteria from banana cultivars and their

- antifungal activity. *Genetics and Molecular Research*, 12(4), 8661-8670. <http://dx.doi.org/10.4238/2014.October.27.6>
- Souza, S., Xavier, A., Costa, M., Cardoso, A., Pereira, M., & Nietsche, S. (2013). Endophytic bacterial diversity in banana "Prata Ana" (*Musa* spp.) roots. *Genetics and Molecular Biology*, 36(2), 252-264. <https://doi.org/10.1590/S1415-47572013000200016>
- Su, L., Shen, Z., Ruan, Y., Tao, C., Chao, Y., Li, R., & Shen, Q. (2017). Isolation of antagonistic endophytes from banana roots against *meloidogyne javanica* and their effects on soil nematode community. *Frontiers in Microbiology*, 8, Article 2070. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02070>
- Suhaimi, N. (2017). *Diversity of bacterial communities in bacterial wilt-diseased banana plants*. [Tesis de doctorado, no publicada]. University of Malaya.
- Suleimanova, A. D., Itkina, D. L., Pudova, D. S., & Sharipova, M. R. (2021). Identification of *Pantoea* Phytate-Hydrolyzing Rhizobacteria Based on Their Phenotypic Features and Multilocus Sequence Analysis (MLSA). *Microbiology*, 90, 87-95. <https://doi.org/10.1134/S0026261721010112>
- Suresh, P., Shanmugaiah, V., Rajagopal, R., Muthusamy, K., & Ramamoorthy, V. (2022). *Pseudomonas fluorescens* VSMKU3054 mediated induced systemic resistance in tomato against *Ralstonia solanacearum*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 119, Article 101836. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2022.101836>
- Takeuchi, T., Sawada, H., Suzuki, F., & Matsuda, I. (1997). Specific detection of *Burkholderia plantarii* and *B. glumae* by PCR using primers selected from the 16S 23S rDNA spacer regions. *Japanese Journal of Phytopathology*, 63(6), 455-462. <https://doi.org/10.3186/jjphytopath.63.455>
- Thomas, P., & Sekhar, A. C. (2017). Cultivation Versus Molecular Analysis of Banana (*Musa* sp.) Shoot-Tip Tissue Reveals Enormous Diversity of Normally Uncultivable Endophytic Bacteria. *Microbial Ecology*, 73, 885-899. <https://doi.org/10.1007/s00248-016-0877-7>
- Walcott, R. R., & Gitaitis, R. D. (2000). Detection of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* in watermelon seed using immunomagnetic separation and the polymerase chain reaction. *Plant Disease*, 84(4), 470-474. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2000.84.4.470>
- Wang, B., Yuan, J., Zhang, J., Shen, Z., Zhang, M., Li, R., Ruan, Y., & Shen, Q. (2013). Effects of novel bioorganic fertilizer produced by *Bacillus amyloliquefaciens* W19 on antagonism of *Fusarium* wilt of banana. *Biology and Fertility of Soils*, 49, 435-446. <https://doi.org/10.1007/s00374-012-0739-5>
- Wang, C., Kim, Y., Singh, P., Mathiyalagan, R., Jin, Y., & Yang, D. (2016). Green synthesis of silver nanoparticles by *Bacillus methylotrophicus*, and their antimicrobial activity. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 44(4), 1127-1132. <https://doi.org/10.3109/21691401.2015.1011805>
- Weber, O., Videira, S., & Simoes, J. (2013). Identification of culturable endophytes in "Champaka" pineapple grown in an organic system. *African Journal of Agricultural Research*, 8(26), 3422-3430. <https://academicjournals.org/journal/AJAR/article-full-text-pdf/C6FF84F36400>
- Weller-Stuart, T., De Maayer, P., & Coutinho, T. (2017). *Pantoea ananatis*: genomic insights into a versatile pathogen. *Molecular Plant Pathology*, 18, 1191-1198. <https://doi.org/10.1111/mpp.12517>
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S., & Taylor, J. (1990). *Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. PCR Protocols: a guide to methods and applications*. Academic Press.

- Xu, L., Zhang, H., Xing, Y. T., Li, N., Wang, S., & Sun, J. (2020). Complete genome sequence of *Sphingobacterium psychroaquaticum* strain sj-25, an aerobic bacterium capable of suppressing fungal pathogens. *Current Microbiology*, 77, 115–122. <https://doi.org/10.1007/s00284-019-01789-3>
- Zhang, L., Hu, Y., Chen, Y., Qi, D., Cai, B., Zhao, Y., Li, Z., Wang, Y., Nie, Z., Xie, J., & Wang, W. (2023). Cadmium-tolerant *Bacillus cereus* 2–7 alleviates the phytotoxicity of cadmium exposure in banana plantlets. *Science of The Total Environment*, 903, Article 166645. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.166645>
- Zhirnov, V., Zadegan, R. M., Sandhu, G. S., Church, G. M., & Hughes, W. L. Nucleic acid memory. *Nature Materials*, 15(4), 366-370. <https://doi.org/10.1038/nmat4594>. PMID: 27005909; PMCID: PMC6361517
- Zhu, B., Zhou, Q., Lin, L., Hu, C., Shen, P., Yang, L., An, Q., Xie, G., & Li, Y. (2013). *Enterobacter sacchari* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium associated with sugar cane (*Saccharum officinarum* L.). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 63(7), 2577-2582. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.045500-0>

Manuscrito aceptado