

Bioproductos a partir de actinobacterias y hongos: alternativa para el control de fitopatógenos

Melissa Díaz-Oliva^{123*}, Georgina Michelena-Álvarez^{1**}, Eulalia Gómez-Santiesteban¹, Gisela González-Pardo¹

1. Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA)

Vía Blanca, No. 804 y Carretera Central. La Habana, Cuba

2. Universidad de La Habana (UH). La Habana, Cuba

3. Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB)

Calle 3^{era}, No. 40759 / 6^{ta} y Carretera de Tirabeque. La Habana, Cuba

* kirians0909@gmail.com

** georgina.michelena@icidca.azcuba.cu

RESUMEN

Introducción. Actualmente, constituye un reto garantizar la seguridad alimentaria, por el aumento de plagas y enfermedades, que comprometen el rendimiento de los cultivos. El uso intensivo de pesticidas y antibióticos, aunque efectivo a corto plazo, genera resistencia en los patógenos, contaminación ambiental y riesgos para la salud humana, por lo que se necesitan alternativas sostenibles y seguras; sin embargo, la biotecnología presenta nuevas posibilidades para enfrentar el impacto del cambio climático, la pérdida de biodiversidad y la creciente demanda de alimentos.

Objetivos. Evaluar la producción de metabolitos secundarios de actinobacterias (*Streptomyces sp.*) y hongos (*Penicillium sp.*), como alternativa biotecnológica para el control de fitopatógenos e identificar condiciones óptimas de cultivo y enzimas hidrolíticas, asociadas a la actividad antimicrobiana.

Materiales y métodos. Se seleccionaron cepas de *Streptomyces sp.* y *Penicillium sp.* con potencial antimicrobiano. Se evaluó la actividad de compuestos volátiles y extractos libres de células, frente a bacterias y hongos fitopatógenos. Se determinaron las enzimas hidrolíticas producidas por la cepa más activa y se analizaron las condiciones ambientales de fermentación (pH, temperatura, concentración de inóculo) y la cinética de producción de metabolitos.

Resultados y discusión. La cepa *Penicillium sp.* mostró actividad antifúngica frente a todos los hongos fitopatógenos evaluados, con producción de β 1-3 glucanasa y quitinasa. Las condiciones óptimas para maximizar la actividad antifúngica fueron pH 7, 28 °C y un inóculo inicial de 1×10^6 células/mL. Bajo estas condiciones se alcanzó un 87 % de inhibición del crecimiento de *Fusarium sp.* en el sexto día de fermentación.

Conclusiones. Los resultados confirman el potencial de *Penicillium sp.*, como fuente de metabolitos antimicrobianos y enzimas hidrolíticas aplicables en el desarrollo de bioplaguicidas. La optimización de las condiciones de cultivo favorece la eficacia de los extractos y ofrece una alternativa sostenible para reducir el uso de pesticidas químicos y contribuir a la seguridad agroalimentaria.

Palabras clave. Bioproductos, actinobacterias, hongos, control de fitopatógenos, alternativa biotecnológica.

ABSTRACT

Introduction. Ensuring food security is currently a challenge due to the increase in pests and diseases, which compromise crop yields. The intensive use of pesticides and antibiotics, although effective in the short term, generates resistance in pathogens environmental contamination, and risks to human health, creating a need for safe, sustainable alternatives; however, biotechnology offers new possibilities for addressing the impacts of climate change, biodiversity loss, and the growing demand for food.

Objective. To evaluate the production of secondary metabolites by actinobacteria and fungi as a biotechnological alternative for the control of phytopathogens, and to identify optimal culture conditions and hydrolytic enzymes associated with antimicrobial activity.

Materials and methods. Strains of *Streptomyces* sp. and *Penicillium* sp. with antimicrobial potential were selected. The activity of volatile compounds and cell-free extracts against phytopathogenic bacteria and fungi was evaluated. Hydrolytic enzymes produced by the most active strain were identified, and environmental fermentation conditions (pH, temperature, inoculum concentration) as well as metabolite production kinetics were analyzed.

Results and discussion. The *Penicillium* sp. strain exhibited antifungal activity against all the phytopathogenic fungi tested, accompanied by the production of β -1-3-glucanase and chitinase. The optimal conditions for maximizing antifungal activity were pH 7.2, a temperature of 28 °C, and an initial inoculum of 1×10^6 cells/mL. Under these conditions, 87% inhibition of *Fusarium* sp. growth was achieved on the sixth day of fermentation.

Conclusions. The results confirm the potential of *Penicillium* sp. as a source of antimicrobial metabolites and hydrolytic enzymes applicable to the development of biopesticides. Optimizing cultivation conditions enhances the efficacy of the extracts and offers a sustainable alternative to reduce the use of chemical pesticides and contribute to agrifood security.

Keywords. Bioproducts, actinobacteria, fungi, phytopathogen control, biotechnological alternative.

INTRODUCCIÓN

La agricultura contemporánea enfrenta el reto de garantizar seguridad alimentaria en un contexto marcado por el aumento de plagas y enfermedades, que comprometen el rendimiento de los cultivos. El uso intensivo de pesticidas y antibióticos, aunque efectivo a corto plazo, ha generado resistencia en los patógenos, contaminación ambiental y riesgos para la salud humana, lo que evidencia la necesidad de alternativas sostenibles y seguras.

En este escenario, los avances de la biotecnología han abierto nuevas posibilidades. Desde la década de los 90, Cuba ha impulsado la producción de bioproductos como biofertilizantes y bioplaguicidas, para reducir la dependencia de químicos convencionales; sin embargo, el desafío trasciende fronteras: a nivel mundial, la búsqueda de soluciones basadas en microorganismos se ha convertido en una estrategia clave para enfrentar los impactos del cambio climático, la pérdida de biodiversidad y la creciente demanda de alimentos.

Entre los microorganismos de mayor interés destacan las actinobacterias (*Streptomyces*) y los hongos (*Penicillium*), capaces de producir metabolitos secundarios con propiedades antimicrobianas. Estos compuestos no solo inhiben bacterias y hongos fitopatógenos, sino también inducen resistencia en las plantas y refuerzan su capacidad de adaptación. La optimización de las condiciones de cultivo permite potenciar la biosíntesis de enzimas y metabolitos y ofrece herramientas innovadoras para el control biológico.

La presente investigación se orienta a evaluar la actividad antimicrobiana de cepas seleccionadas de *Streptomyces* sp. y *Penicillium* sp. frente a fitopatógenos, así como a determinar las condiciones de cultivo que favorezcan la producción de metabolitos secundarios, aplicables en la agricultura sostenible.

El objetivo de este estudio fue evaluar la producción de metabolitos de *Streptomyces* sp. y *Penicillium* sp., como alternativa para el control de fitopatógenos; y, de manera específica, la investigación se orientó a identificar: cepas con potencial antimicrobiano; analizar la actividad de compuestos volátiles y extractos libres de células; determinar la producción de enzimas hidrolíticas en la cepa más activa; establecer las condiciones óptimas de cultivo y caracterizar la cinética de fermentación, para comprender la dinámica de generación de metabolitos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Microorganismos y condiciones de cultivo

Se emplearon cuatro cepas de *Streptomyces* sp. y una cepa de *Penicillium* sp.1, provenientes de la colección del Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA).

Las actinobacterias se cultivaron en agar de tripticaseína de soja (ATS, pH 7), a 28 °C, durante 7 días. Las fitobacterias (*Clavibacter michiganensis*, *Erwinia amylovora*, *Pseudomonas syringae*, *Xanthomonas axonopodis*, *X. campestris* y *Pectobacterium carotovorum*) se mantuvieron en ATS bajo las mismas condiciones durante 3 días. Los hongos fitopatógenos (*Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Botrytis cinerea* y *Phytophthora sp.*) se cultivaron en agar papa dextrosa (PDA, pH 7), a 28 °C, durante 7 días.

Actividad antagónica contra bacterias fitopatógenas

La actividad de *Streptomyces* se evaluó mediante el método de doble capa modificado (1). Se inocularon suspensiones celulares (1×10^6 células/mL) en ATS y se incubaron 7 días. Posteriormente, se añadió una capa de agar blando (0.6 %) con suspensiones bacterianas (1×10^6 células/mL). Tras 24 h de incubación se midió el diámetro de las zonas de inhibición. Los ensayos se realizaron por triplicado.

Actividad antagónica contra hongos fitopatógenos

La confrontación directa en PDA se realizó, según el método descrito, con ligeras modificaciones (2). Se inocularon las cepas antagonistas en un extremo de la placa y explantes miceliales de 3 días en el opuesto. Tras 7 días de incubación se midió el crecimiento radial y se calculó el porcentaje de inhibición.

El porcentaje de inhibición del fitopatógeno se determinó sobre la base del crecimiento del radio micelial (R_i) de los controles. El porcentaje de inhibición (% I) se calculó con la utilización de la siguiente ecuación:

$$\% I = 100 * (R_c - R_i) / R_c$$

Dónde: R_i es el radio de crecimiento micelial del patógeno, medido en la dirección del inóculo hacia el antagonista de crecimiento. R_c es el radio de crecimiento micelial del patógeno, medido en la dirección del radio máximo, sin la presencia del antagonista de crecimiento.

Todos los experimentos se llevaron a cabo por triplicado. De esta etapa se seleccionó la cepa antagonista de crecimiento, que mostró actividad antimicrobiana y la cepa fitopatógena que presentó mayor inhibición.

Actividad de compuestos orgánicos volátiles (COV)

Se emplearon placas de Petri divididas, se inocularon las cepas en compartimentos independientes. Tras 7 días de incubación, a 28 °C, se midió el crecimiento radial en comparación con los controles (3).

Actividad de extractos libres de células

La cepa seleccionada se cultivó en caldo papa dextrosa (CPD), bajo agitación (130 rpm, 28 °C, 7 días). El sobrenadante se obtuvo por centrifugación y filtración (0.22 μ m) y se mezcló con PDA (20 % v/v). Se inocularon explantes miceliales de 5 días y se evaluó el crecimiento radial frente a controles con agua estéril.

Cuantificación de enzimas hidrolíticas

Las actividades de β -1-3 glucanasa y quitinasa se determinaron en sobrenadantes libres de células de *Penicillium sp.*1, con el empleo de laminarina y quitina coloidal como sustratos. Los azúcares reductores liberados se cuantificaron mediante el método DNS (4, 5).

Condiciones de cultivo y cinética de producción

Se aplicó un diseño factorial 3^2 para evaluar el efecto de pH, temperatura e inóculo sobre la producción de metabolitos antimicrobianos, los resultados obtenidos fueron ordenados en la tabla 1. Los cultivos se realizaron en CPD bajo agitación (130 rpm, 28 °C, 7 días). La actividad de los extractos se evaluó mediante el método de medios envenenados. Para la cinética, se tomaron alícuotas cada 24 h, y se midió la actividad antimicrobiana frente a *F. oxysporum*.

Tabla 1. Niveles de las variables utilizadas en el diseño estadístico factorial completo 3^2 .

Tratamientos	Factor	Nivel bajo(-)	Nivel alto(+)	Unidades
1	pH	5	7	-
2	Temperatura	28	37	°C
3	Inóculo	1×10^6	1×10^8	cel/mL

Diseño experimental y análisis estadístico

Los ensayos se realizaron por triplicado o duplicado, según el caso. Los datos de crecimiento radial e inhibición se analizaron mediante ANOVA de una vía y prueba de Tukey ($p \leq 0.05$), con la utilización del software Estadística 7.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Actividad antagónica contra bacterias y hongos fitopatógenos

En la tabla 2 se muestra la respuesta del crecimiento de bacterias y hongos fitopatógenos en presencia de las cepas *Streptomyces* y *Penicillium*, sometidas al estudio de actividad antimicrobiana.

Tabla 2. Presencia o ausencia de actividad inhibitoria de las cepas en estudio frente a las cepas fitopatógenas

	<i>Streptomyces</i> sp. 03	<i>Streptomyces</i> sp. 01	<i>Streptomyces</i> sp. 02	<i>Streptomyces</i> sp. 04	<i>Penicillium</i> sp. 1
<i>C. michiganensis</i> 2	-	-	-	-	-
<i>E. amylovora</i> 3	+	+	-	-	-
<i>P. syringae</i> 4	-	-	-	-	-
<i>X. axonopodis</i> 5	-	-	-	-	-
<i>X. campestris</i> 6	+	+	-	.	-
<i>P. cerotovororum</i> 7	-	-	-	-	-
<i>F. oxysporum</i> 8	+	-	-	-	+
<i>R. solani</i> 9	-	-	-	-	+
<i>Phytophthora</i> sp. 10	-	-	-	-	+
<i>B. cinerea</i> 11	-	-	-	-	+
<i>C. gloeosporioides</i> 12	+	+	+	+	Mayor espectro antimicrobiano

Leyenda: + evidencia de inhibición, - sin efecto inhibitor.

Solo las cepas de *E. amylovora* 3 y *X. campestris* 6 mostraron inhibición del crecimiento bacteriano frente a *Streptomyces* sp. 03 y *Streptomyces* sp. 01; la inhibición más significativa fue frente a la segunda (de 5 y 3 mm, respectivamente). *Streptomyces* sp. 02 y *Streptomyces* sp. 04 no mostraron actividad antibacteriana.

A pesar de que *Streptomyces* es un género que se conoce por su gran capacidad de producir diferentes compuestos antimicrobianos, es importante tener en cuenta que algunos factores pueden influir de forma negativa en la síntesis de estos metabolitos; y, por tanto, *Streptomyces* no mostrar un efecto antimicrobiano. Algunos de estos factores son: la especificidad de los compuestos antimicrobianos, ya que la actividad de estos compuestos puede ser específica para ciertas cepas de bacterias patógenas y no para otras. Las condiciones de crecimiento, como el medio de cultivo, la temperatura y el pH pueden afectar la producción de compuestos antimicrobianos. Además, las cepas fitopatógenas pueden desarrollar resistencia a los compuestos antimicrobianos. Esto puede hacer que los compuestos producidos por las cepas de *Streptomyces* sean menos efectivos contra estas bacterias patógenas (6, 7).

En contraste, *Penicillium* sp. 1 inhibió significativamente el crecimiento de cuatro hongos fitopatógenos: *F. oxysporum* 8 (87 ± 1 %), *Botrytis cinerea* 11 (76 ± 10 %), *Phytophthora* sp. 10 (57 ± 9 %) y *Rhizoctonia solani* 9 (59 ± 5 %). Estos resultados destacan el potencial antifúngico de *Penicillium* sp. 1, particularmente contra *F. oxysporum*, por lo que fue seleccionado para estudios posteriores.

El género *Penicillium* ha sido reportado, previamente, como agente de biocontrol. Estos resultados son consistentes con estudios que muestran inhibición de *Fusarium* por cepas como *P. chrysogenum* (55 %), *Penicillium* sp. (57 %) y *P. bilaiae* (81 %). La capacidad de *Penicillium* sp. 1 para secretar enzimas hidrolíticas y metabolitos antifúngicos probablemente contribuya a su amplio espectro de acción.

Actividad de compuestos orgánicos volátiles (COV) y extractos libres de células

El filtrado de cultivo libre de células de *Penicillium* sp. 1 (20 % v/v) inhibió el crecimiento radial de *F. oxysporum* 8 en un 48 ± 5 %, tal como se observa en el figura 1, lo que indica la producción de metabolitos antifúngicos termoestables. Sin embargo, los compuestos orgánicos volátiles (COV) producidos por la misma cepa no mostraron actividad inhibitoria significativa, solo un 11 ± 5 %, lo que sugiere que el mecanismo de antagonismo se basa, principalmente, en metabolitos extracelulares solubles.

Este resultado concuerda con los informes de algunos otros investigadores que reportan que las cepas de *Penicillium* producen enzimas que degradan la pared celular y secretan otros compuestos antifúngicos termoestables en el sobrenadante libre de células (8).

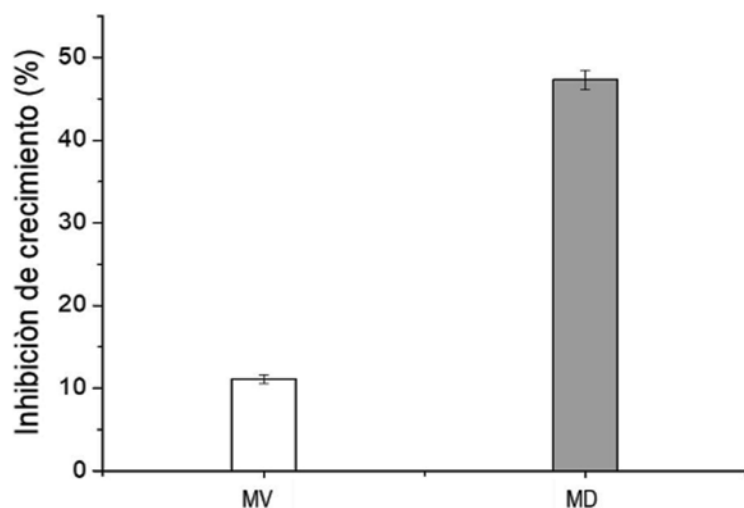


Figura 1. Inhibición de crecimiento de *F. oxysporum* 8 en presencia de compuestos orgánicos volátiles (MV) y filtrados libres de células (MD), producidos por *Penicillium* sp. 1. Diferencias significativas ($p \leq 0.05$).

Los resultados obtenidos confirman que *Penicillium* sp. 1 produce metabolitos antimicrobianos extracelulares, capaces de inhibir el crecimiento de hongos fitopatógenos y que los COV_s producidos por él, no presentan actividad antifúngica.

Cuantificación de enzimas hidrolíticas

Penicillium sp. 1 mostró una elevada actividad extracelular de β -1.3-glucanasa (4.7 U/mg) y quitinasa (9.7 U/mg). Estas enzimas son clave en la degradación de componentes estructurales de la pared celular fúngica (glucano y quitina), lo que podría explicar su efecto inhibitorio sobre fitopatógenos. La producción enzimática registrada supera la reportada en estudios previos con cepas de *Penicillium*, tal como se observa en el figura 2.

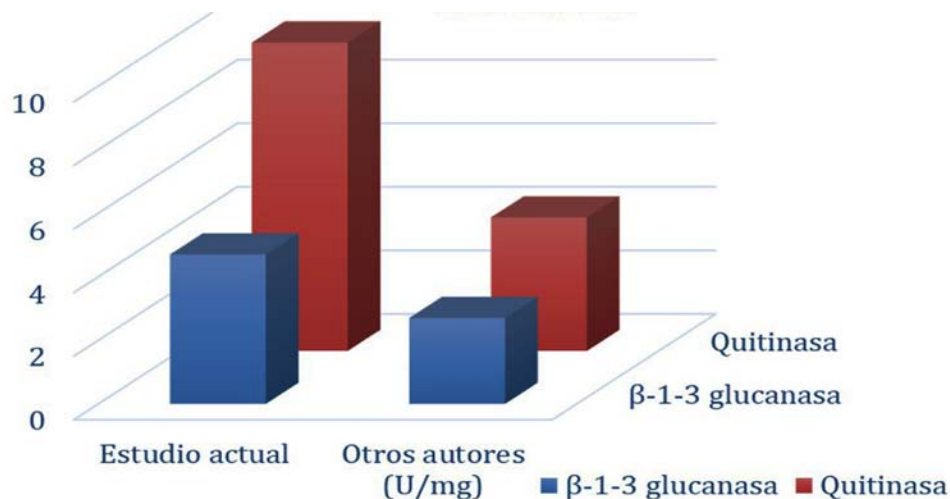


Figura 2. Actividad quitinasa y β 1-3 glucanasa, producida por varias cepas de *Penicillium*.

Estas enzimas juegan un papel importante en el mecanismo de actividad antimicrobiana de los antagonistas, así como en la acción de otras enzimas hidrolíticas (9-11). El glucano y la quitina son los principales componentes estructurales de la pared celular de los hongos fitopatógenos y se considera esencial para la patogenia y transmisión de enfermedades (12); por lo tanto, los microorganismos que pueden hidrolizar estos polímeros pueden alterar la permeabilidad de la pared celular de los hongos patógenos, y provocar la muerte celular que se manifiesta en la inhibición del crecimiento microbiano.

Condiciones de cultivo y cinética de producción

Mediante un diseño experimental factorial se determinó que las condiciones óptimas para la producción de metabolitos antifúngicos fueron: pH 7, temperatura de 28 °C e inóculo inicial de 1×10^6 células/mL. Bajo estas condiciones se alcanzó una inhibición del 87 ± 1 % sobre *F. oxysporum*. El análisis del diagrama de Pareto, que se muestra en la figura 3, confirma que el pH y la temperatura influyen, significativamente, en la actividad inhibitoria.

De manera general se tiene que:

- Los pH neutros favorecen la producción de metabolitos secundarios en *Penicillium* (13-14), mientras que el $\text{pH} \geq 7$ activa el factor de transcripción pacC, que regula positivamente la producción de metabolitos secundarios (14).
- Variaciones en las temperaturas pueden inducir o reprimir la síntesis de metabolitos (15). Asimismo, este factor está directamente relacionado con actividades enzimáticas, expresión de proteínas y estabilidad de las membranas (16).

- Alto nivel de inóculo puede producir demasiada biomasa, que conduce a una ineficiente formación de compuestos antimicrobianos (17).

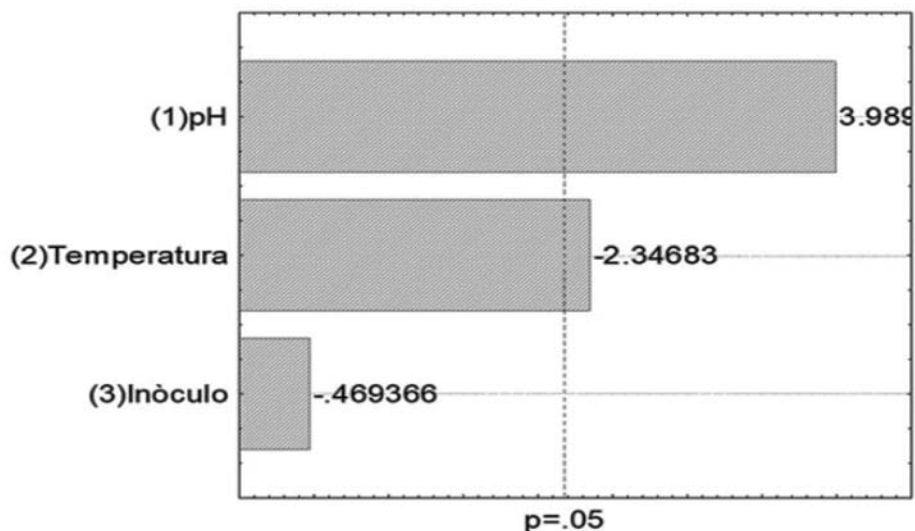


Figura 3. Diagrama de Pareto de tres factores (pH, temperatura de incubación e inóculo, a dos niveles cada uno), que evaluaron el efecto de las condiciones de fermentación sobre la actividad antifúngica de los extractos libres de células, según el diseño.

La máxima inhibición se observó al sexto día de fermentación (74 ± 2 %), que coincidió con la fase estacionaria de crecimiento, típica de la producción de metabolitos secundarios, tal como se muestra en el figura 4. El uso de medio PDA favoreció la producción de compuestos antifúngicos, posiblemente debido a su composición rica en nutrientes.

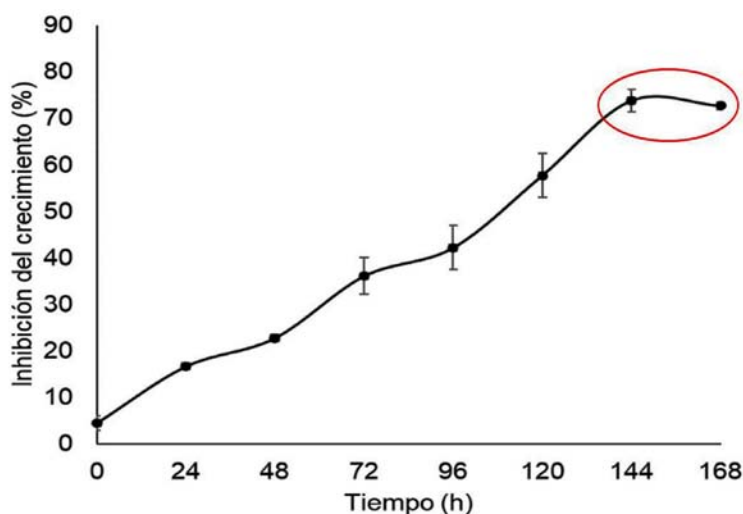


Figura 4. Cinética de producción de metabolitos extracelulares antifúngicos por *Penicillium* sp. R1 contra *F. oxysporum* Fsox C11.

Los metabolitos secundarios se originan luego que ha cesado el crecimiento activo del microorganismo; o, cuando comienza la fase estacionaria. Estos incluyen antibióticos, giberelinas, alcaloides, toxinas, etc. y su producción depende de la temperatura, tiempo de incubación, agitación,

concentración de inóculo, pH y las enzimas activas (18). Además, el medio de cultivo también es un factor a tener en cuenta. En este sentido, el medio CPD se ha reportado como una buena fuente de nutrientes. Se ha utilizado, de forma amplia, para cultivos de hongos y la producción de metabolitos de interés en la industria farmacéutica y agrícola (19-22). Contiene, principalmente, glucosa, vitaminas y nitrógeno, proveniente del extracto de la papa. Hasta la fecha no se han informado los efectos del CPD sobre la producción directa de los metabolitos de los hongos. Algunos autores han reportado que el CPD tiene un gran impacto en el crecimiento, morfología, la biomasa total y la producción de metabolitos de interés (23).

CONCLUSIONES

1. Especies de *Penicillium* demostraron capacidad para producir metabolitos antimicrobianos y enzimas que fortalecen la resistencia de las plantas, frente a patógenos. En particular, la cepa *Penicillium* sp. 1 exhibió una marcada actividad antifúngica contra todos los hongos fitopatógenos evaluados, pues destacó la inhibición significativa del crecimiento de *Fusarium oxysporum* 8, mediante su filtrado libre de células.
2. La producción elevada de β 1-3 glucanasa y quitinasa, por parte de *Penicillium* sp.1, sugiere un mecanismo de acción directo sobre la pared celular de los hongos, que altera su permeabilidad y provoca la muerte celular. Además, se establecieron condiciones óptimas para maximizar la actividad antifúngica (pH 7, 28 °C y concentración inicial de 1×10^6 células/mL), que alcanzó un 87 ± 1 % de inhibición en el sexto día de fermentación.
3. Estos resultados evidencian el potencial biotecnológico de *Penicillium* sp.1, como fuente de compuestos antifúngicos y enzimas hidrolíticas, con aplicaciones prometedoras en el control de enfermedades fúngicas en plantas.
4. Esta investigación demuestra que los metabolitos secundarios producidos por microorganismos biocontroladores, representan una alternativa sostenible y estratégica frente a la dependencia de agroquímicos, pues los compuestos producidos por actinobacterias y hongos actúan como aliados silenciosos en la protección de la seguridad alimentaria y en la construcción de sistemas agrícolas más equitativos y sostenibles.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo del Proyecto del Ministerio de la Agricultura en Cuba PS231LH004-025 “Desarrollo de un producto para control biológico de microorganismos fitopatógenos basado en metabolitos antimicrobianos” y del Proyecto AMEXCID “Bioproductos para el sector agropecuario: una opción de desarrollo compatible con el medioambiente”, del IX Programa de Cooperación Técnica y Científica México-Cuba

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ubillus ,J.A.; *et al.* Actividad antimicrobiana y sinérgica de metabolitos [producidos por](#). *Rev Soc Venez Microbiol.* 2015; 35:13-9.
2. Nguyen, P.A.; *et al.* Study of in vitro interaction between *Fusarium verticillioides* and *Streptomyces* sp. using metabolomics. *Folia Microbiol.* 2020;65(2):303-14.
3. Gotor-Vila ,A.; *et al.* Antifungal effect of volatile organic compounds produced by *Bacillus amyloliquefaciens* CPA-8 against fruit pathogen decays of cherry. *Food Microbiol.* 2017; 64:219-25.

4. Miller, G.L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal Chem.* 1959;31(3):426-8.
5. Suebrasri, T.; *et al.* Plant growth-promoting fungi and arbuscular mycorrhizal fungi enhance rice growth and reduce blast disease. *Biol Control.* 2020; 148: 104305.
6. Bhardwaj, D.; *et al.* Biofertilizers function as key player in sustainable agriculture by improving soil fertility, plant tolerance and crop productivity. *Microb Cell Fact.* 2014; 13:66.
7. Pacios-Michelena, S.; *et al.* Application of *Streptomyces* antimicrobial compounds for the control of phytopathogens. *Front Sustain Food Syst.* 2021; 5:696518.
8. Chiranjeevi, N.; *et al.* Studies on extraction, evaluation of crude metabolite extract from endophytic *Bacillus subtilis* and its mechanistic effect on chickpea dry root rot causing pathogen *Rhizoctonia bataticola* (Taub.) Butler. *Int J Curr Microbiol Appl Sci.* 2021;10(5):898-905.
9. Dave, A.; Ingle, S. *Streptomyces* sp. S-9 promotes plant growth and confers resistance in pigeon pea (*Cajanus cajan*) against *Fusarium* wilt. *3 Biotech.* 2021;11(11):1-13.
10. Wonglom, P.; *et al.* *Streptomyces angustmyceticus* NR8-2 as a potential microorganism for the biological control of leaf spots of *Brassica rapa* subsp. *pekinensis* caused by *Colletotrichum* sp. and *Curvularia lunata*. *Biol Control.* 2019; 138:104046.
11. Zhuang, H.; *et al.* Biodegradation of quinoline by *Streptomyces* sp. N01 immobilized on bamboo carbon supported Fe₃O₄ nanoparticles. *Biochem Eng J.* 2015; 99:44-7.
12. Fesel, P.H.; Zuccaro, A. β -glucan: crucial component of the fungal cell wall and elusive MAMP in plants. *Fungal Genet Biol.* 2015; 78:45-56. DOI:10.1016/j.fgb.2014.12.001.
13. Pan, C.; *et al.* Isolation and antibiotic screening of fungi from a hydrothermal vent site and characterization of secondary metabolites from a *Penicillium* isolate. *Mar Biotechnol.* 2017;19(5):469-79.
14. El Hajj Assaf, C.; *et al.* Regulation of secondary metabolism in the *Penicillium* genus. *Int J Mol Sci.* 2020;21(24):9462.
15. Keller, N.P. Fungal secondary metabolism: regulation, function and drug discovery. *Nat Rev Microbiol.* 2019;17(3):167-80.
16. Zhu, Y. *et al.* PacC mediates spatial regulation of the phospholipid metabolism in the apple fruit-*Penicillium expansum* interaction. *Postharvest Biol Technol.* 2024; 208:112666.
17. Ningsih, I.M.; Sulistyani, N. The effect of inoculum concentration on the growth profile and antibacterial activity of actinomycete (A6K) isolates. *Adv Sci Lett.* 2017;23(12):12039-42.
18. Kumar, K.; Bruheim, P. Nutrient-dependent metabolic switching during batch cultivation of *Streptomyces coelicolor* explored with absolute quantitative mass spectrometry-based metabolite profiling. *3 Biotech.* 2022;12(4):97.
19. Abro, M.A.; *et al.* Biocontrol potential of fungal endophytes against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* causing wilt in cucumber. *Plant Pathol J.* 2019;35(6):598-608.
20. Wu, Y.R.; *et al.* Diversity and function of culturable actinobacteria in the root-associated of *Salvia miltiorrhiza* Bunge. *PeerJ.* 2021; 9:e11749.
21. Attia, M.S.; *et al.* Plant growth-promoting fungi as biocontrol tool against *Fusarium* wilt disease of tomato plant. *J Fungi.* 2022;8(8):775.
22. Mazzotta, E.; *et al.* Control of the *Verticillium* wilt on tomato plants by means of olive leaf extracts loaded on chitosan nanoparticles. *Microorganisms.* 2022;10(1):136.
23. Liu, F.; *et al.* Culture conditions and nutrition requirements for the mycelial growth of *Isaria farinosa* (Hypocreales: Cordycipitaceae) and the altitude effect on its growth and metabolome. *Sci Rep.* 2018;8(1):16325.