La complementariedad funcional de consorcios microbianos vincula al antagonismo de *Phytophthora palmivora* y respuestas de genes PR en cacao

Functional Complementarity of Bacterial Consortia Links Broad-Spectrum Antagonism, Phytophthora palmivora Suppression, and PR-Gene Responses in Cacao

Laura Ximena Rivera Medina [1]· Maryeimy Varón López[2] y Paola Zuluaga Cruz[3]

[1]Estudiante de Maestría en Ciencias Biológicas, Universidad del Tolima, Ibagué; [2]Profesora ssociada, Departamento de Biología, Universidad del Tolima, Ibagué, Colombia; [3]Investigadora asociada AGROSAVIA, CI, Mosquera, Bogotá, Colombia
mvaronl@ut.edu.co

Resumen

Phytophthora palmivora constituye uno de los principales agentes asociados a la pudrición negra del cacao y su manejo continúa dependiendo de prácticas químicas y culturales cuya eficacia puede ser variable. Los consorcios bacterianos ofrecen una alternativa de control biológico al integrar mecanismos funcionales complementarios; sin embargo, su capacidad para conectar antagonismo directo con supresión de enfermedad y respuestas moleculares del hospedero permanece insuficientemente caracterizada en cacao. En este estudio se evaluaron cuatro bacterias benéficas —Paenibacillus taichungensis (B19), Pseudomonas juntendi (B06), Bacillus megaterium (DB1) y Bacillus velezensis (BB1)— mediante ensayos de proteólisis, celulólisis, producción de sideróforos y antagonismo frente a *Diaporthe sp., Neofusicoccum sp., Lasiodiplodia theobromae y P. palmivora*. Las cepas se integraron en dos consorcios y su capacidad protectora fue evaluada en plántulas de *Theobroma cacao* L. desafiadas con *P. palmivora*. La severidad se estimó mediante una escala diagramática y análisis digital del área foliar lesionada, mientras que las respuestas de defensa se evaluaron por qPCR de los genes PR1, PR3, PR4 y PR10. *B. velezensis* mostró el perfil antagonista más consistente, con 56,1–63,5 % de inhibición frente al panel de fitopatógenos. En planta, el consorcio 1A, conformado por *P. taichungensis* y *P. juntendi* y aplicado junto con fertilización reducida, presentó la menor afectación entre los tratamientos infectados y redujo significativamente la severidad frente a los testigos fertilizados. Los genes PR fueron activados principalmente por la presencia de *P. palmivora*; la respuesta transcripcional fue mayor en plantas infectadas sin consorcio y menor en plantas tratadas con 1A, lo que indica que la protección fenotípica no puede atribuirse únicamente a una mayor inducción de los marcadores PR evaluados. En conjunto, los resultados apoyan un modelo de biocontrol en el que la complementariedad funcional bacteriana se asocia con antagonismo directo y menor severidad de la enfermedad, mientras que la contribución de la defensa inducida requiere una caracterización molecular más amplia.

Palabras clave: antagonismo; biocontrol; cacao; consorcio bacteriano; defensa vegetal; *Phytophthora palmivora*; proteínas PR.

Abstract.
P. palmivora is a major causal agent of black pod disease in cacao, and its management still relies on chemical and cultural practices with variable efficacy. Bacterial consortia provide a promising biological-control platform because they can integrate complementary mechanisms; however, the extent to which direct antagonism, disease suppression, and host molecular responses are connected remains poorly resolved in cacao. Here, four beneficial bacteria—Paenibacillus taichungensis B19, Pseudomonas juntendi B06, Bacillus megaterium DB1, and Bacillus velezensis BB1—were evaluated for proteolysis, cellulolysis, siderophore production, and antagonism against Diaporthe sp., Neofusicoccum sp., Lasiodiplodia theobromae, and P. palmivora. The strains were assembled into two consortia and tested in Theobroma cacao L. seedlings challenged with P. palmivora. Disease severity was quantified using a diagrammatic scale and digital lesion-area analysis, whereas host defense responses were assessed by qPCR of PR1, PR3, PR4, and PR10. B. velezensis displayed the broadest antagonistic phenotype, inhibiting all tested pathogens by 56.1–63.5%. In planta, consortium 1A, composed of P. taichungensis and P. juntendi and applied under reduced fertilization, showed the lowest disease impact among infected treatments and significantly reduced severity relative to fertilized controls. PR genes were induced primarily by P. palmivora infection; transcriptional signals were highest in infected plants without the consortium and lower in 1A-treated plants, indicating that phenotypic protection cannot be attributed solely to stronger induction of the four PR markers. Together, the results support a multimechanistic biocontrol model in which bacterial functional complementarity is associated with direct antagonism and reduced disease severity, while the contribution of host-mediated induced defense requires broader molecular validation.

Keywords: antagonism; bacterial consortium; biocontrol; cacao; host defense; pathogenesis-related genes; Phytophthora palmivora.

Recibido: Febrero de 2026
Aceptado: Agosto de 2026

Introducción

La pudrición negra causada por especies de *P. palmivora* es una de las enfermedades más importantes del cacao a escala mundial. *P. palmivora* puede colonizar diferentes tejidos de *Theobroma cacao* L. y desencadenar respuestas de defensa complejas, cuya intensidad depende del genotipo, el estado fisiológico del tejido y la fase de infección del patógeno. Estudios de expresión dirigida, han demostrado que familias de genes relacionados con la patogénesis, entre ellas PR1, PR3, PR4 y PR10, responden a la colonización por *P. palmivora* y constituyen marcadores útiles para estudiar la interacción cacao–oomiceto (Fister et al., 2016; Ali et al., 2017; Coles et al., 2021).

El control de *P. palmivora* en cacao está mediado principalmente en prácticas sanitarias, manejo agronómico y fungicidas. Aunque estas herramientas son necesarias dentro de programas integrados, el uso reiterado de insumos químicos puede incrementar costos, afectar microorganismos benéficos y ejercer presión de selección sobre poblaciones de patógenos. En este escenario, los consorcios microbianos conformados por microorganismos promotores del crecimineto vegetal, representan una plataforma de biocontrol efectiva, debido a que pueden actuar simultáneamente mediante antibiosis, competencia por hierro, producción de

enzimas hidrolíticas, colonización del hospedero y modulación de respuestas defensivas de la planta (Choudhary & Johri, 2009; Santoyo et al., 2019).

Entre las bacterias con mayor interés para protección vegetal se encuentran especies de *Bacillus, Pseudomonas* y *Paenibacillus*. *Bacillus velezensis*, en particular, ha mostrado antagonismo de amplio espectro frente a hongos y oomicetos fitopatógenos y capacidad para reducir la severidad de enfermedades bajo condiciones controladas. Estudios recientes con *P. palmivora*, *P. infestans* y otros, respaldan su potencial como agente de biocontrol mediante metabolitos antimicrobianos y actividades enzimáticas múltiples (Wang et al., 2022; Microorganisms, 2025). No obstante, una cepa con alta actividad antagonista no necesariamente aporta todas las funciones requeridas para una protección estable. La construcción de consorcios puede ampliar el repertorio funcional al combinar microorganismos con capacidades complementarias de competencia, nutrición y antagonismo.

En cacao, los trabajos con microorganismos benéficos han demostrado reducción de enfermedades causadas por *P. palmivora* y efectos positivos del establecimiento microbiano en vivero y campo (Gómez-de la Cruz et al., 2023; Neeraja et al., 2025). Sin embargo, todavía son escasos los estudios que integran, dentro del mismo experimento, la caracterización funcional de las cepas, un panel de antagonismo frente a diferentes patógenos, la evaluación fenotípica de *P. palmivora* en plántulas y la expresión de genes de defensa del hospedero. Esta integración es necesaria para diferenciar entre protección asociada a antagonismo directo y respuestas compatibles con mecanismos mediados por la planta.

Por tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar el potencial de biocontrol de dos consorcios bacterianos mediante la integración de atributos funcionales, antagonismo in vitro, severidad de enfermedad causada por *P. palmivora* y expresión de los genes PR1, PR3, PR4 y PR10 en plántulas de cacao. Se planteó que la complementariedad funcional de las cepas podría disminuir la severidad de la enfermedad, aunque la protección fenotípica no necesariamente estaría acompañada por una mayor expresión de todos los marcadores PR evaluados.

Materiales y métodos

Cepas bacterianas y conformación de consorcios

Se seleccionaron cuatro cepas bacterianas del banco de microorganismos del Laboratorio de Microbiología y Micorrizas de la Universidad del Tolima. *Paenibacillus taichungensis* B19 y *Pseudomonas juntendi* B06 habían sido previamente caracterizadas por atributos asociados a promoción vegetal; *Bacillus megaterium DB1* (PV133310) *y Bacillus velezensis* BB1 (PV133309) fueron identificadas mediante secuenciación de genoma completo. Las cepas se agruparon en dos consorcios: 1A (P. taichungensis B19 + P. juntendi B06) y 2A (B. megaterium DB1 + B. velezensis BB1). Para los ensayos, los inóculos bacterianos fueron preparados en caldo BHI, ajustados aproximadamente a 1×10^8 UFC mL^{-1} y verificados por recuento en placa.

Caracterización funcional y antagonismo in vitro

Las cepas se evaluaron individualmente para actividad proteolítica, actividad celulolítica y producción de sideróforos. El antagonismo se determinó frente a *Diaporthe sp., Neofusicoccum sp., L. theobromae* y *P. palmivora* mediante cultivo pareado. Un disco de 5 mm del fitopatógeno se ubicó en el

centro de placas de agar papa dextrosa y, a 3 cm, se dispusieron discos de papel filtro impregnados con suspensión bacteriana. Las placas se incubaron durante ocho días a 28 °C. El porcentaje de inhibición del crecimiento radial se calculó como PICR = [(R1 − R2)/R1] × 100, donde R1 corresponde al crecimiento radial del control y R2 al crecimiento en dirección a la bacteria.

Material vegetal, inoculación bacteriana y desafío con *P. palmivora*

Se utilizaron plántulas de T. cacao del clon ICM-67® mantenidas en vivero. Las semillas fueron expuestas a los consorcios bacterianos desde el establecimiento y las plántulas recibieron reinoculaciones periódicas. Para el desafío, *P. palmivora* se cultivó en agar V8 y posteriormente en medio ARV (arveja)durante 15–17 días a 23 ± 2 °C. Se preparó una suspensión de 1 × 10^8 esporangios mL^{-1} y la liberación de zoosporas se estimuló mediante choque térmico (4 °C, 30 min; 30 °C, 30 min). La inoculación se realizó en el envés del tercio medio de hojas jóvenes de madurez comparable.

Para la evaluación de enfermedad se consideraron tratamientos con los consorcios 1A y 2A bajo fertilización reducida, testigos con fertilización al 50 % y 100 %, y controles correspondientes. Cada tratamiento contó con plantas infectadas y, cuando correspondió, homólogos no infectados. La severidad fue registrada a 0, 36 y 60 h posinoculación mediante una escala diagramática de 0 a 5: 0 = sin daño; 1 = 1–5 %; 2 = 5–15 %; 3 = 15–30 %; 4 = 30–70 %; y 5 = 70–100 % de área afectada. La estimación de área foliar lesionada fue apoyada mediante análisis digital en ImageJ.

Cuantificación de genes relacionados con defensa

Se recolectó tejido foliar en los tiempos definidos del desafío y se conservó a −80 °C. El ARN total fue extraído con Plant/Fungi Total RNA Purification Kit (Norgen Biotek); su concentración y pureza se evaluaron por NanoDrop 2000. Tras la eliminación de ADN genómico, el cDNA se sintetizó con ProtoScript II First Strand cDNA Synthesis Kit. La qPCR se realizó con Luna Universal qPCR Master Mix en un sistema Applied Biosystems StepOne utilizando cebadores descritos por Fister et al. (2016) para PR1, PR3, PR4 y PR10. La tubulina fue utilizada como gen de referencia. Para este manuscrito, las señales se interpretan como expresión normalizada relativa entre tratamientos; antes del envío final deberá confirmarse el procedimiento de normalización con los archivos crudos de Cq y, de ser posible, recalcularse mediante un método ΔCq/ΔΔCq validado.

Análisis estadístico

La normalidad se verificó con Shapiro–Wilk. Las variables que cumplieron los supuestos paramétricos se analizaron mediante ANOVA y comparación de medias de Tukey; cuando los supuestos no se cumplieron se emplearon alternativas no paramétricas. Para las variables de severidad y expresión génica se consideraron diferencias entre tratamientos con $p \leq 0,05$. La interpretación molecular se basó en el efecto de tratamiento y en los patrones temporales observados, evitando inferir causalidad de resistencia inducida cuando la interacción tratamiento × tiempo no estuvo respaldada estadísticamente.

Resultados

Todas las cepas presentaron al menos un atributo funcional relevante para la interacción planta–microorganismo. B. megaterium DB1 registró la mayor actividad proteolítica (2,16 ± 0,06), mientras que B. velezensis BB1 presentó la mayor actividad celulolítica (48,87 ± 5,64). P. taichungensis B19 mostró la mayor producción de sideróforos (23,31 ± 0,95 mm) y una actividad

celulolítica intermedia. En contraste, P. juntendi B06 presentó valores bajos para estas variables. Los perfiles evidencian una distribución no redundante de funciones entre las cepas, fundamento para su combinación en consorcios (Tabla 1).

Tabla 1. Perfil funcional de las cepas bacterianas. IH: índice de hidrólisis. Los valores deben verificarse contra la tabla maestra final antes del envío.

Cepa	Proteólisis (IH)	Celulólisis (IH)	Sideróforos (mm)	Rol funcional dominante
P. taichungensis B19	1,52 ± 0,10	26,51 ± 3,10	23,31 ± 0,95	Competencia por Fe / función complementaria
P. juntendi B06	0,00	0,00	3,51 ± 0,68	Componente de consorcio; antagonismo selectivo
B. megaterium DB1	2,16 ± 0,06	0,00	2,35 ± 0,13	Proteólisis / antagonismo intermedio
B. velezensis BB1	1,53 ± 0,05	48,87 ± 5,64	2,09 ± 0,29	Antagonismo amplio / celulólisis

B. velezensis BB1 fue la cepa con mayor actividad antagonista frente a todos los fitopatógenos evaluados, con inhibiciones de 63,4 % frente a Diaporthe sp., 63,5 % frente a Neofusicoccum sp., 58,7 % frente a L. theobromae y 56,1 % frente a P. palmivora. B. megaterium DB1 mostró actividad intermedia, especialmente frente a Neofusicoccum sp. (42,2 %), mientras que P. juntendi B06 inhibió principalmente Neofusicoccum sp. (35,8 %) y P. palmivora (17,3 %). P. taichungensis B19 presentó antagonismo directo mínimo (0–2,4 %). Esta distribución confirma que la contribución potencial de cada integrante del consorcio no depende de un único mecanismo (Tabla 2).

Tabla 2. Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de fitopatógenos por cepas bacterianas.

Cepa	Diaporthe sp.	Neofusicoccum sp.	L. theobromae	P. palmivora

P. taichungensis B19	0 %	0 %	2,4 %	0 %
P. juntendi B06	0 %	35,8 %	2,0 %	17,3 %
B. megaterium DB1	3,1 %	42,2 %	3,6 %	14,6 %
B. velezensis BB1	63,4 %	63,5 %	58,7 %	56,1 %

La inoculación con P. palmivora produjo lesiones foliares claramente detectables en los tratamientos infectados, mientras que los homólogos no infectados permanecieron sin lesión. Entre los tratamientos desafiados, los testigos con fertilización completa y reducida presentaron las mayores áreas afectadas. El consorcio 1A bajo fertilización reducida presentó el menor nivel de afectación entre los tratamientos infectados y difirió significativamente de los testigos de mayor severidad (Figurs 1). El tratamiento con 2A mostró una respuesta intermedia. El control sin fertilización produjo una lesión relativamente baja, pero no fue incluido en la comparación principal debido a que la hoja inoculada no cumplió el criterio de madurez foliar establecido a priori.

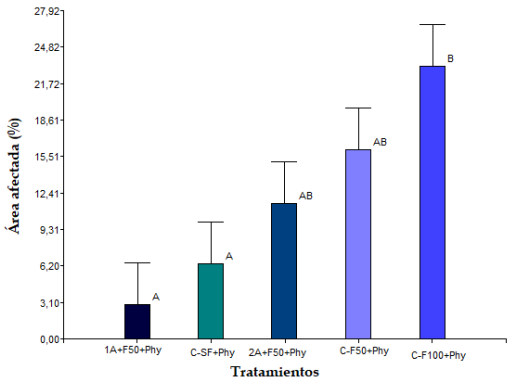


Figura 1. Área foliar afectada por *P. palmivora* en los diferentes tratamientos.

En consecuencia, la evidencia fenotípica más robusta corresponde a la reducción de severidad asociada con 1A bajo condiciones nutricionales comparables.

La infección, más que el consorcio, domina la respuesta de PR1, PR3, PR4 y PR10

Los cuatro genes evaluados mostraron expresión prácticamente nula en ausencia del patógeno y una inducción clara en plantas infectadas. Los tratamientos con fertilización reducida e infección, pero sin consorcio, presentaron las señales normalizadas más altas para los genes evaluados. En contraste, las plantas tratadas con 1A, fertilizadas e infectadas mostraron niveles intermedios o menores, aun cuando presentaron menor severidad foliar. PR4 mostró una tendencia de incremento hacia 60 h en el tratamiento infectado sin consorcio, mientras que PR10 alcanzó su mayor respuesta alrededor de 36 h. No se detectaron diferencias temporales consistentes para todos los genes, por lo que los datos no permiten afirmar que 1A induzca resistencia sistémica a través de una mayor expresión de estos cuatro marcadores (Figura 2).

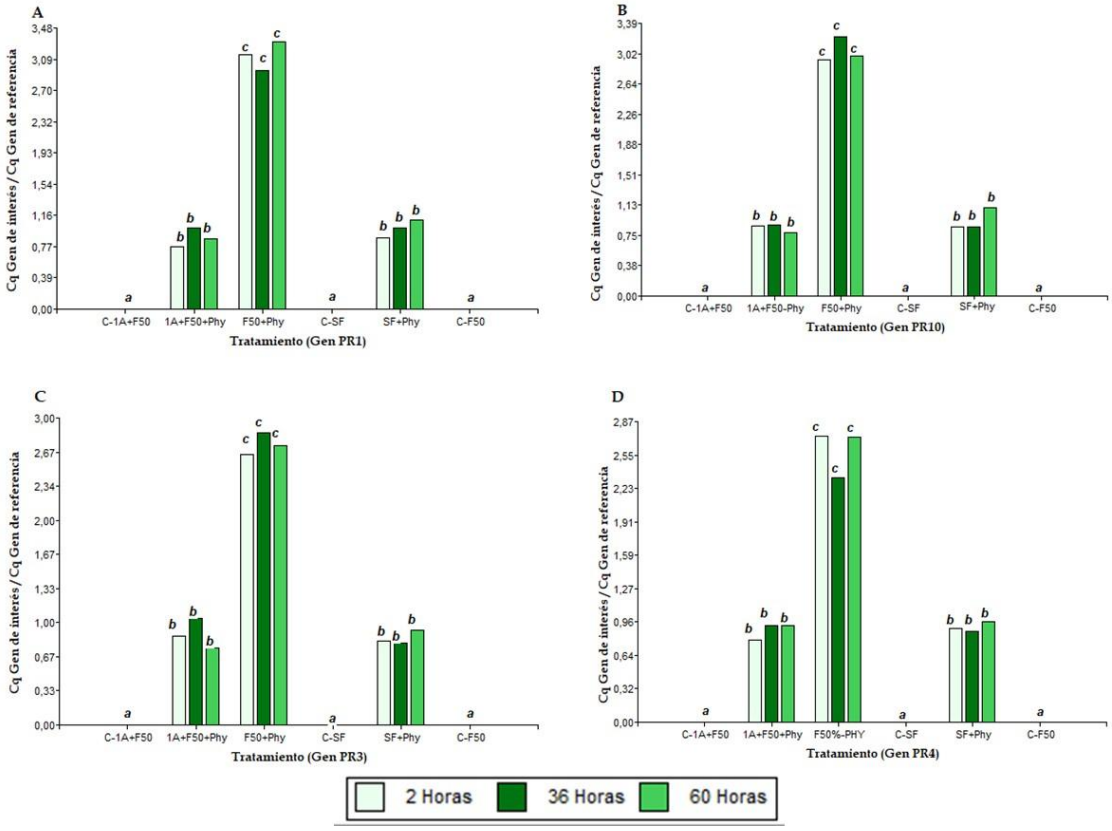


Figura 2. Respuesta normalizada de PR1, PR3, PR4 y PR10 a 2, 36 y 60 h.

Discusión

El hallazgo central de este estudio es que la protección frente a P. palmivora no puede explicarse por un único atributo microbiano. B. velezensis BB1 fue, individualmente, el antagonista más potente del panel ensayado, mientras que P. taichungensis B19 aportó principalmente competencia por hierro y actividad celulolítica. Este patrón respalda el concepto de complementariedad funcional: la utilidad de un consorcio no depende de que todos sus integrantes presenten el mismo fenotipo, sino de que el conjunto amplíe el repertorio de mecanismos disponibles. La capacidad de B. velezensis para inhibir oomicetos coincide con estudios recientes que muestran antagonismo frente a *P. palmivora*. y reducción de enfermedad en otros cultivos, apoyando el potencial del género Bacillus como plataforma de biocontrol de amplio espectro.

Sin embargo, el tratamiento con mejor respuesta fenotípica frente a P. palmivora fue 1A, conformado por P. taichungensis y P. juntendi, y no el consorcio que contenía B. velezensis. Esta aparente discrepancia es científicamente relevante porque sugiere que el antagonismo medido en placa no predice por sí solo la protección in planta. La colonización, persistencia, competencia por micronutrientes, interacción con el estado nutricional del hospedero y comunicación planta–microorganismo pueden alterar profundamente el desempeño de una cepa una vez aplicada al sistema vegetal. En

consecuencia, la selección de consorcios exclusivamente a partir del porcentaje de inhibición in vitro podría descartar combinaciones con alto desempeño biológico en planta.

La reducción de severidad en 1A ocurrió sin una mayor acumulación de las señales normalizadas de PR1, PR3, PR4 y PR10 respecto al tratamiento infectado sin consorcio. Este resultado debe interpretarse con cautela. Una respuesta PR elevada puede reflejar una mayor presión de infección y no necesariamente una planta mejor protegida. Si el consorcio limita el establecimiento del patógeno de manera temprana, el hospedero podría requerir una respuesta transcripcional de menor magnitud. Alternativamente, la protección puede depender de vías no representadas por los cuatro marcadores seleccionados, incluyendo NPR1, LOX, ERF, PDF1.2, TLP u otros reguladores de señalización salicílica, jasmonato/etileno y priming. Por ello, los resultados no demuestran una ISR clásica mediada por 1A, pero sí muestran que la respuesta fenotípica y la transcripcional no son equivalentes.

Este desacoplamiento entre severidad y marcadores PR constituye una fortaleza conceptual del estudio. La literatura de cacao muestra que las familias PR responden intensamente a P. palmivora y que diferentes miembros presentan patrones temporales y genotipo-dependientes (Fister et al., 2016; Ali et al., 2017; Coles et al., 2021). En este contexto, utilizar solo cuatro genes como sustitutos de 'resistencia sistémica' puede resultar insuficiente. Estudios futuros deberían incorporar paneles de expresión más amplios, genes de señalización hormonal, cuantificación del patógeno por qPCR, metabolómica dirigida y seguimiento de colonización de las cepas para discriminar antagonismo directo, priming e inmunidad inducida.

Desde una perspectiva aplicada, la combinación de un ensayo de antagonismo multiespecie con un desafío in planta y una lectura molecular ofrece un marco más robusto para seleccionar bioinoculantes destinados a cacao. La cepa BB1 emerge como candidato fuerte para biocontrol directo, mientras que 1A destaca por su desempeño en planta. Estos fenotipos diferentes podrían ser explotados en una segunda generación de consorcios racionalmente diseñados, siempre que se evalúe compatibilidad entre cepas, estabilidad de formulación, colonización y eficacia bajo presión natural de enfermedad.

Conclusiones

Las bacterias evaluadas presentaron funciones complementarias relevantes para biocontrol. B. velezensis BB1 fue el antagonista directo más consistente, mientras que otras cepas aportaron rasgos asociados con competencia por nutrientes y actividades enzimáticas. En condiciones de vivero, el consorcio 1A se asoció con una reducción significativa de la severidad por P. palmivora respecto a los testigos fertilizados, demostrando que el desempeño in planta no puede predecirse exclusivamente a partir del antagonismo in vitro. PR1, PR3, PR4 y PR10 respondieron principalmente al desafío con P. palmivora; la menor expresión observada en plantas protegidas con 1A indica que estos marcadores no sustentan, por sí solos, una conclusión de resistencia sistémica inducida por el consorcio. En conjunto, los resultados apoyan el desarrollo de consorcios bacterianos como herramientas

multimecanísticas de manejo de *P. palmivora* en cacao y justifican estudios posteriores que integren colonización, cuantificación del patógeno, redes de señalización hormonal y validación en campo.

Fortalezas, limitaciones y siguientes pasos

La principal fortaleza del estudio es la integración de cuatro niveles de evidencia: rasgos funcionales bacterianos, antagonismo frente a un panel de fitopatógenos, supresión de enfermedad en plántulas y respuesta molecular del hospedero. Sus principales limitaciones son el número limitado de marcadores de defensa, la ausencia de cuantificación directa de biomasa de P. palmivora, la necesidad de verificar la normalización de qPCR y el uso de condiciones de vivero. Para elevar el manuscrito a una revista de alto impacto se recomienda: (1) reanalizar qPCR con eficiencia de cebadores y ΔΔCq; (2) cuantificar P. palmivora por qPCR; (3) incorporar genes de SA/JA/ET y priming; (4) confirmar colonización de cada cepa; y (5) validar los consorcios en un ensayo independiente y posteriormente en campo.

Agradecimientos

La investigación se llevó a cabo en el marco del programa «Productos y procesos tecnológicos con microorganismos de la rizosfera para la restauración de suelos degradados en ecosistemas agroforestales y agrícolas», financiado por el Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación (MinCiencias), Contrato n.º 450 de 2021, con recursos del Fondo Francisco José de Caldas. Se contó con el apoyo adicional de la Universidad del Tolima a través de la Convocatoria n.º 07-2023, código de proyecto n.º 200224.

Referencias

Ali, S. S., Shao, J., Lary, D. J., Kronmiller, B. A., Shen, D., Strem, M. D., Amoako-Attah, I., Akrofi, A. Y., Begoude, B. A. D., ten Hoopen, G. M., Coulibaly, K., Kebe, B. I., Melnick, R. L., Guiltinan, M. J., Tyler, B. M., & Meinhardt, L. W. (2017). Phytophthora megakarya and P. palmivora, causal agents of black pod rot, induce similar plant defense responses late during infection of susceptible cacao pods. Frontiers in Plant Science, 8, 169. https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00169

Choudhary, D. K., & Johri, B. N. (2009). Interactions of Bacillus spp. and plants—With special reference to induced systemic resistance (ISR). Microbiological Research, 164(5), 493–513. https://doi.org/10.1016/j.micres.2008.08.007

Fister, A. S., Mejia, L. C., Zhang, Y., Herre, E. A., Maximova, S. N., & Guiltinan, M. J. (2016). Theobroma cacao L. pathogenesis-related gene tandem array members show diverse expression dynamics in response to pathogen colonization. BMC Genomics, 17, 363. https://doi.org/10.1186/s12864-016-2693-3

Gómez-de la Cruz, I., Chávez-Ramírez, B., Avendaño-Arrazate, C. H., Morales-García, Y. E., Muñoz-Rojas, J., & Estrada-de los Santos, P. (2023). Optimization of Paenibacillus sp. NMA1017 application as

a biocontrol agent for Phytophthora tropicalis and Moniliophthora roreri in cacao-growing fields in Chiapas, Mexico. Plants, 12(12), 2336. https://doi.org/10.3390/plants12122336

Hipólito-Romero, E., Carcaño-Montiel, M. G., Ramos-Prado, J. M., Vázquez-Cabañas, E. A., López-Reyes, L., & Ricaño-Rodríguez, J. (2017). Efecto de inoculantes bacterianos edáficos mixtos en el desarrollo temprano de cultivares mejorados de cacao (Theobroma cacao L.) en un sistema agroforestal tradicional del norte de Oaxaca, México. Revista Argentina de Microbiología, 49(4), 356–365. https://doi.org/10.1016/j.ram.2017.04.003

Jones, J. D. G., & Dangl, J. L. (2006). The plant immune system. Nature, 444, 323–329. https://doi.org/10.1038/nature05286

Neeraja, B., Kumari, V. P., Gopal, K., Madhu, G. S., Kumar, K. V., Madhumathi, T., Rao, N. B. V. C., & Sayiprathap, B. R. (2025). Indigenous plant growth-promoting rhizobacteria for cocoa growth enhancement and Phytophthora pod rot management in coastal Andhra Pradesh, India. BMC Plant Biology, 25, 1258. https://doi.org/10.1186/s12870-025-07166-6

Neuhoff, D., Neumann, G., & Weinmann, M. (2023). Testing plant growth promoting microorganisms in the field—a proposal for standards. Frontiers in Plant Science, 14, 1324665. https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1324665

Santoyo, G., Sánchez-Yáñez, J. M., & de los Santos-Villalobos, S. (2019). Methods for detecting biocontrol and plant growth-promoting traits in rhizobacteria. In Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Agricultural Sustainability (pp. 133–149). Springer. https://doi.org/10.1007/978-981-13-5767-1_8

Shapiro, S. S., & Wilk, M. B. (1965). An analysis of variance test for normality (complete samples). Biometrika, 52(3–4), 591–611. https://doi.org/10.1093/biomet/52.3-4.591

Wang, et al. (2022). [Reference cited in the thesis for Bacillus velezensis antagonism against Phytophthora spp.; complete author list and bibliographic details should be exported from the thesis reference manager before submission.]

Biocontrol Potential of Bacillus velezensis RS65 Against Phytophthora infestans: A Sustainable Strategy for Managing Tomato Late Blight. (2025). Microorganisms, 13(3), 656. https://doi.org/10.3390/microorganisms13030656

Coles, D. W., Bithell, S. L., Jeffries, T., Cuddy, W. S., & Plett, J. M. (2021). Changes in gene expression in leaves of cacao genotypes resistant and susceptible to Phytophthora palmivora infection. Frontiers in Plant Science, 12, 780805. https://doi.org/10.338Ramos-Trejo, O., Canul-Solis, J. R., & Ku-Vera, J. C. (2016). Forage yield of Gliricidia sepium as affected by harvest heigh and frequency in Yucatan, Mexico. Revista Bio Ciencias, 4(2), 116–123.

Sierra, A. B., Rodríguez, P. R., & Delgado, J. M. (2016). Conocimiento local de especies leñosas y herbáceas usadas en alimentación de ovinos en el norte del Tolima. 25–33.

Tarazona, A. M., Ceballos, M. C., Cuartas, C. A., Naranjo, J. F., Murgueitio, E., & Barahona, R. (2013). The relationship

between nutritional status and bovine welfare associated with adoption of intensive silvopastoral systems in tropical conditions. ResearchGate, August 2014, 69–78.

Urbano, D., Dávila, C., & Moreno, P. (2006). Efecto de las leguminosas arbóreas y la suplementación con concentrado sobre la producción de leche y cambio de peso en vacas doble propósito. Zootecnia Tropical, 24(1), 1–8.