

Rizobacterias y Extractos Celulares con Potencial Antagónico Sobre *Phytophthora palmivora* en *Theobroma cacao* CCN-51 Rhizobacteria and Cell Extracts with Antagonistic Potential on *Phytophthora palmivora* in *Theobroma cacao* CCN-51

Hayron Fabricio Canchignia-Martínez¹ , Cristhian John Macías-Holguín¹ ,
Rolando David Zurita-Segovia¹ , Luis Fernando Vera-Benites¹ ,
Hugo Gabriel Ortiz-Almea¹ y Dayanara Nicolle Tapia-Quintana¹

¹ Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Departamento de Biotecnología, Laboratorio de Microbiología Molecular. Vía Quevedo-El Empalme km 7, Campus "La María". 120501 Quevedo, Los Ríos, Ecuador; (H.F.C.M.), (C.J.M.H.), (A.V.C.M.), (L.F.V.B.), (H.G.O.A.), (D.N.T.Q.).
[†] Autora para correspondencia: dayanara.tapia2016@uteq.edu.ec

RESUMEN

Phytophthora palmivora agente causal de la enfermedad mazorca negra, que ocasiona grandes pérdidas económicas en el cultivo. El empleo de rizobacterias permite disminuir la proliferación de patógenos y reduciendo el uso de agroquímicos. El objetivo de la investigación es determinar el potencial antagonismo de las rizobacterias sobre la estructura de resistencia y propagación de *P. palmivora*. La investigación se ejecutó en el Laboratorio de Microbiología y Biología Molecular de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo (UTEQ), Ecuador. Se seleccionó la cepa de *P. palmivora* L8-1 y las rizobacterias *Klebsiella variicola* (BO3-4), *Enterobacter asburiae* (BA4-19 y PM3-14), *Pseudomonas putida* (BMR2-4 y PB3-6) y *Pseudomonas* spp. (PM4-13) el ensayo se dividió en tres fases: 1) Antagonismo de extractos celulares sobre las estructuras de resistencias y diseminación; 2) Niveles de infección en mazorcas y 3) Mecanismo de protección de plantas de cacao. Los resultados indicaron que a las 72 h después de la aplicación, los extractos celulares de PM3-14 y BA4-19 presentó lisis en clamidosporas (80%), además inhibieron la germinación y lisis de zoosporas (68%). La aplicación de los extractos celulares de BA4-19 disminuyó el avance de infección de *P. palmivora* (50%) sobre la corteza de la mazorca. A los 65 días posteriores a la inoculación (dpi), de las rizobacterias PM3-14 y BMR2-4 reduce la mortalidad de plántulas de CCN-51 al (100%) en presencia de *P. palmivora*. La aplicación de las cepas de rizobacterias PM3-14, BA4-19 y BMR2-4 demostraron ser altamente efectivas en el control de *P. palmivora*, logrando inhibir su desarrollo y proporcionar una protección completa al cacao CCN-51, además de promover su crecimiento.

Palabras claves: antagonismo, control biológico, clamidosporas, lisis de zoosporas, metabolitos secundarios, PGPR's.

SUMMARY

Phytophthora palmivora causal agent of the black ear disease, which causes great economic losses in the crop. The use of rhizobacteria allows reducing the proliferation of pathogens and reducing the use of agrochemicals. The objective of the research is to determine the potential antagonism of rhizobacteria on the resistance structure and propagation of *P. palmivora*. The research was carried out at the Microbiology and Molecular Biology Laboratory of the State Technical University of Quevedo (UTEQ), Ecuador. *P. palmivora* strain L8-1 and the rhizobacteria *Klebsiella variicola* (BO3-4), *Enterobacter asburiae* (BA4-19 and PM3-14), *Pseudomonas putida* (BMR2-4 and PB3-6) and *Pseudomonas* spp. (PM4-13), the trial was divided into three



Cita recomendada:

Canchignia-Martínez, H. F., Macías-Holguín, C. J., Zurita-Segovia, R. D., Vera-Benites, L. F., Ortiz-Almea, H. G., & Tapia-Quintana, D. N. (2025). Rizobacterias y Extractos Celulares con Potencial Antagónico Sobre *Phytophthora palmivora* en *Theobroma cacao* CCN-51. *Terra Latinoamericana*, 43, 1-11. e2009. <https://doi.org/10.28940/terra.v43i.2009>

Recibido: 19 de junio de 2024.
Aceptado: 16 de enero de 2025.
Artículo. Volumen 43.
Mayo de 2025.

Editor de Sección:
Dr. Fernando Abasolo Pacheco



Copyright: © 2025 by the authors.
Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY NC ND) License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

phases: 1) Antagonism of cell extracts on resistance and dissemination structures; 2) Infection levels in pods and 3) Mechanism of protection of cocoa plants. The results indicated that 72 h after application, cell extracts of PM3-14 and BA4-19 presented lysis of chlamydospores (80%), and inhibited germination and lysis of zoospores (68%). The application of cell extracts of BA4-19 decreased the advance of infection of *P. palmivora* (50%) on the cob bark. At 65 days after inoculation (dpi), PM3-14 and BMR2-4 rhizobacteria reduced the mortality of CCN-51 seedlings (100%) in the presence of *P. palmivora*. The application of rhizobacterial strains PM3-14, BA4-19 and BMR2-4 proved to be highly effective in controlling *P. palmivora*, inhibiting its development and providing complete protection to cocoa CCN-51, in addition to promoting its growth.

Index words: *antagonism, biological control, chlamydospores, lysis of zoospores, secondary metabolites, PGPR's.*

INTRODUCCIÓN

Phytophthora palmivora, causante de la enfermedad de pudrición en mazorca negra, es responsable de pérdidas en rendimiento del 40% a la cosecha mundial del cacao *Theobroma cacao* L (Alomía, Alomía y Vega, 2021). Además de infectar más de 200 especies vegetales. (Bailey, Evans, Phillips, Ali y Meinhardt, 2018; Schmidt, Puig, DuVal y Pfeufer, 2023). La presencia de *Phytophthora* en países tropicales corresponde en su mayoría a especies de: *P. capsici*, *P. citrophthora*, *P. megakarya*, *P. hevea*, y *P. palmivora*, esta última es la más frecuente y agresiva en los cultivos hortícolas y frutales (Bahia et al., 2015). El género de patógenos *Phytophthora* spp. incluye especies que causan enfermedades en plantas y destacan por su capacidad de adaptarse a diversos ambientes. Sus características morfológicas varían según factores climáticos y ambientales, lo que le permite sobrevivir, infectar diferentes plantas y dificultar su control en la agricultura (Liu et al., 2022). La pared celular de este patógeno está compuesto por glucanos y celulosa que genera protección de agentes antagonista y efectos climáticos (Wang et al., 2009). La diseminación de este patógeno se basa en su rápida dispersión de sus zoosporas, contenidos dentro de los esporangios y liberándose en ambientes acuosos (Schroeder et al., 2013).

El mecanismo de infección se produce por sus estructuras de resistencia, donde sus clamidosporas poseen paredes gruesas que permite sobrevivir grandes periodos de tiempo en el suelo, en condiciones de humedad y sequía (McCarren, McComb, Shearer y Hardy, 2005) Diseminando sus zoosporas biflageladas que tienen la capacidad de colonizar los tejidos vegetales (raíz, tallo y hojas) (Hardham, 2001). El cacao es particularmente vulnerable a *P. palmivora*, un patógeno que provoca diversas afecciones, como manchas necróticas en plántulas y mazorcas, chancros en el tallo y pudrición de los granos (Bailey y Meinhardt, 2016).

Control de *P. palmivora* se emplean fungicidas cúpricos, sugieren 6 aplicaciones por año (Opoku, Akrofi, Appiah y Owusu, 2000) y el sulfato de cobre genera contaminación ambiental de (suelo y agua) (Cornu, Huguenot, Jézéquel, Lollier y Lebeau, 2017). El incremento del grado de tolerancia y su efectividad es variable durante la alta proliferación de la enfermedad en estación húmeda (Guest, 2006). Como alternativas al control de *Phytophthora* se ha empleado hongos endófitos *Colletotrichum gloeosporioides* que disminuye la incidencia de enfermedad en la mazorca (Mejía et al., 2008). Aplicaciones de formulaciones en campo de aceite agrícola con *Trichoderma asperellum* PR11 constituye una alternativa potencial al control de *P. megakarya* en *T. cacao* (Mbarga et al., 2020).

En las alternativas al control de *Phytophthora* spp, está el empleo de Rizobacterias Promotoras del Crecimiento en Plantas (Plant Growth Promoting Rhizobacteria, PGPR, por sus siglas en inglés), que induce la resistencia a patógenos oomicetos, incluido *Phytophthora* (Zhang et al., 2010). Aplicaciones de *Streptomyces cameroonensis* en cacao promueve el desarrollo y protege a *P. megakarya* (Boudjeko et al., 2017). La actividad antagónica de las rizobacterias está vinculado a compuestos volátiles como: cianuro de hidrógeno (HCN), proteasa (PR), antibióticos pirrolnitrina (Prn) y ácido fenazina-1-carboxílico (PCA) estos metabolitos antagónicos actúan en la inhibición de fitopatógenos al alterar sus membranas, metabolismo y respiración celular (Fischer, Jofré, Cordero, Gutiérrez y Mori, 2010). La presencia de PR y HCN por *P. fluorescens* UTPF5 tiene efecto inhibitorio al desarrollo micelial de *Rhizoctonia solani* influenciadas en el rol a la degradación de la pared celular y bloquea la respiración celular al interrumpir la actividad de la citocromo c oxidasa (Afsharmanesh, Ahmadzadeh, Javan-Nikkhah y Behboudi, 2010; Canchignia-Martínez et al., 2024a). Las PGPR son estudiadas por promover la resistencia sistémica inducida (Induced Systemic Resistance, ISR, por sus siglas en inglés) (Zhang et al., 2010). El empleo de rizobacterias suprime eficazmente varios patógenos fúngicos, por una activación rápida y coordinada de genes en defensa de las plantas (genes R) que normalmente expresan susceptibilidad al patógeno (Goswami, Dhandhukia y Thakker, 2016). El objetivo se basó en determinar la eficiencia antagónica de las rizobacterias a *P. palmivora* sobre sus estructuras de resistencia, propagación y su potencial protección a CCN-51.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se ejecutó en el Laboratorio de Microbiología y Biología Molecular de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo (UTEQ), localizado en la Finca Experimental "La María" en el km 7.5 de la Vía Quevedo - El Empalme, cantón Mocache, provincia de Los Ríos. Sus coordenadas geográficas 01° 06' S y 79° 29'O, a 75 m de altura. El estudio tuvo lugar durante un período de experimentación que abarcó desde septiembre de 2021 hasta junio de 2022.

Obtención de Estructuras de Resistencias y Propagación de *P. Palmivora*

Phytophthora palmivora cepa (L8-1) procedente de Cerecita provincia del Guayas, se caracteriza por mayor grado de agresividad, seleccionadas del Banco de Germoplasma del Laboratorio de Microbiología y Biología Molecular de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo (UTEQ). El hongo se incubó en placas Petri que contenían el medio V8 (Jugo V8 200 ml L⁻¹, carbonato de calcio 0.5 g L⁻¹ y 15 g L⁻¹ de agar) a (12 h luz por 12 h oscuridad) por 10 días.

Para estimular la generación de estructuras resistencia y propagación (clamidosporas y zoosporas). Al final de su incubación en placas Petri, se añadieron 10 mL de H₂O con Tween al 0.01% para mejorar la visualización y sectorización del mayor contenido de clamidosporas dentro de placa Petri. Recuperando los discos miceliales de (1 cm Ø) con un promedio de (10.000 U) de sus organelos diferenciados.

La recuperación de zoosporas se realizó con la metodología propuesta por Cedeño-Moreira *et al.* (2020), el patógeno creció en agar V8 por fotoperiodo antes mencionado, se adicionaron 10 mL de H₂O e incubado a 4 °C por 10 min, sometiendo a ondas de choque por ultrasonido (Diamond Back 3Q) / 10 min, para la liberación de zoosporas y recuperando 1 mL y con 20 µL de azul de tripán para su inmovilización, determinando un volumen de suspensión de zoosporas 4×10⁵ del patógeno, verificado bajo conteo por cámara de Neubauer.

Recuperación de los Extractos Celulares de Rizobacterias

Del Banco de Germoplasma del Laboratorio de Microbiología de la UTEQ, se seleccionaron seis rizobacterias productoras de enzimas hidrolíticas (Cuadro 1). Las bacterias se incubaron a 120 rpm a 27 °C por 48 h en un agitador (Benchmark, Incu-Shaker), con 50 mL del medio líquido King B [(g L⁻¹): peptona de carne, 20.0; glicerol, 15 mL; K₂HPO₄, 1.5; MgSO₄ × 7H₂O, 1.5; agar, 15; agua destilada (pH 7.2)], suplementado con chloramphenicol (13 µg mL⁻¹) y ampicilina (40 µg mL⁻¹) (King, Ward y Raney, 1954), hasta alcanzar la concentración de 1×10⁹ (UFC × mL). Se recuperó 15 mL del cultivo celular y se centrifugo a 6.000 rpm durante 5 min (Centrifuge 800-B), proceso se realizó en triplicado. Recuperando el sobrenadante y re-suspendidas en un mismo volumen de H₂O. Las muestras se filtraron por Nalgene Syringe de 0.2 µm y sometidos a choque térmico de 15 min a 90 °C en (Memmert WNB 22) y 15 min a - 40 °C en el ultra congelador (Eppendorf-Innova U725) y almacenados a 4 grados centígrados.

Cuadro 1. Rizobacterias productoras de enzimas hidrolíticas.

Table 1. Antagonistic metabolite producing and mineral solubilizing rhizobacteria.

No.	Organismos	Cepas	Metabolitos antagónicos			Sideróforos	Producción AIA	Solubilización	
			PR	HCN	Prn			P	K
1	<i>Klebsiella variicola</i>	BO3-4	+	+	+	+		+	+
2	<i>Enterobacter asburiae</i>	BA4-19	+			+	+	+	+
3	<i>Enterobacter asburiae</i>	PM3-14	+	+	+	+	++	+	+
4	<i>Pseudomonas spp.</i>	PM4-13				+			
5	<i>Pseudomonas putida</i>	BMR2-4			+	+	+	+	+
6	<i>Pseudomonas putida</i>	PB3-6	+	+	-	+	++	+	+

Productoras de metabolitos secundarios y solubilizadoras de minerales: PR-Proteasa, HCN-cianuro de hidrógeno, Prn-pirrolnitrina, sideróforos, AIA-ácido indol-3-acético, P-fósforo, K-potasio (Chávez, Guato, Peñafiel, Mestanza y Canchignia, 2018; Canchignia-Martínez *et al.*, 2024b).

Secondary metabolite producers and mineral solubilizers: PR-Protease, HCN-hydrogen cyanide, Prn-pyrrolnitrin, siderophores, IAA-indole-3-acetic acid, P-phosphorus, K-potassium (Chávez, Guato, Peñafiel, Mestanza, and Canchignia, 2018; Canchignia-Martínez *et al.*, 2024b).

Antagonismo de Extractos Celulares sobre las Estructuras de Resistencias y Diseminación de *P. Palmivora*

Se adicionó 500 uL de extractos celulares de las rizobacterias al 20%, sobre discos miceliales del hongo de (1 cm Ø), con sus organelos diferenciados a la presencia de clamidosporas. Incubados en placas de cultivo celular de 24 pocillos de (1.9 cm² × 3.4 mL). al final de los tiempos de exposición los discos miceliales se evaluó la generación de lisis en clamidosporas. Observadas en porta objeto añadiendo 0.5 uL de azul de tripán sobre el micelio y fijando la muestra con mechero hasta desaparecer el agar nutritivo, empleando un microscópico OLYMPUS (ocular 10X y objetivo 40X).

Se recuperó 50 uL de un contenido de 4×10^5 zoosporas y expuesta a un volumen similar de los extractos celulares al 20%, contenidos en tubos Eppendorf de 2 mL. Al final de la evaluación ese recuperó 20 uL para evaluar la inhibición en germinación y lisis de zoosporas por cámara de Neubauer a un campo de 70X. Todos los ensayos de actividad antagonista de los estratos celulares de las rizobacterias se evaluaron a 24, 48 y 72 h, he incubado a 28 °C. Los tratamientos contenían cinco réplicas y cada una con tres unidades experimentales. Se evaluó: % lisis = (clamidosporas y zoosporas lisadas × 100) / total de clamidosporas y zoosporas observadas a (24, 48 y 72 h).

Niveles de Infección por *P. palmivora* en Mazorcas de Cacao

Se evaluaron los niveles de infección en mazorcas sanas de CCN-51 con 18 semanas de edad. Se realizó la desinfección con H₂O destilada y jabón. Las mazorcas se sumergieron a NaClO al 10% durante 10s. Los materiales biológicos se incubaron en bolsas de polipropileno más papel absorbente con 10 mL de H₂O estéril para generar cámara húmeda. Se aplicó 20 mL de los extractos celulares por mazorca bajo pulverización. Se recuperó discos miceliales de (1 cm Ø), con un promedio de (10.000 U) de esporangios, ubicados en los extremos de la mazorca y almacenadas a temperatura ambiente por (12 h luz y 12 h oscuridad). El avance de infección a (24, 48 y 72 h) posterior a la incubación del hongo. Se evaluó el porcentaje de inhibición micelial por los extractos celulares, desde el borde del disco micelial hasta el crecimiento del hongo en (mm). Los tratamientos contenían cuatro réplicas y cada una con 3 unidades experimentales.

Mecanismo de Protección de *T. cacao* a *P. palmivora* por Aplicación Edáfica de PGPR

Los ensayos de protección por aplicación de las rizobacterias en plantas de CCN-51 al patógeno se realizó acorde a la metodología de Cedeño-Moreira *et al.* (2020) las semillas de cacao se desinfectaron y escarificación para la inoculación de 10 uL de rizobacterias a una concentración de 1×10^9 (UFC × mL). Se realizaron aplicaciones por aspersión al suelo de 1 mL de suspensión celular individual de (PB3-6, PM3-14, BMR2-4, BA4-19, PM4-13, BO3-4) a (20 y 35 días). Se mantuvieron en invernadero con humedad relativa al 75 % a 28 ± 2 °C, por un fotoperiodo de (12 h luz y 12 h oscuridad) y las plántulas control sin inoculante bacteriano.

A los 40 días post-inoculación (dpi) con las rizobacterias se inoculó 20 µL de zoosporas con una concentración superior a (2×10^5) al ápice de plántulas de CCN-51 con la cepa L8-1. Las plántulas se trasladaron a cámara húmeda para asegurar la supervivencia de las zoosporas. A los 70 dpi se evaluó los niveles de protección y peso fresco de planta. Los tratamientos contenían cinco réplicas y cada una con cuatro unidades experimentales.

Análisis de Datos

Los valores para cada condición se presentan como el promedio individual ± desviación estándar. Los datos fueron analizados mediante ANOVA para evaluar la varianza y, posteriormente, se aplicó el procedimiento de comparación múltiple de Tukey (SD) con un nivel de significancia de ($P \leq 0.05$), utilizando el software statgraphics (Statgraphics Technologies, 2005).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Degradación de las Estructuras de Resistencia Clamidosporas por Efecto de Extractos Celulares de Rizobacterias

Los extractos celulares ocasionan lisis en las estructuras de resistencias (clamidosporas) de (PM3-14; BMR2-4; PB3-6; BA4-19; PM4-13). Se evidenció una diferencia significativa entre los extractos celulares en función a los tiempos de exposiciones. A las 24 h, se observa una respuesta temprana del extractor celular de PM3-14 que ocasiona el 40% de lisis celular de las clamidosporas. A las 48 h se incrementan entre (69 y 71%) de lisis celular por las exposiciones con los extractos de (BA4-19 y PM4-13). A 72 h de exposiciones con los extractos celulares de PM3-14 y BA4-19 superan el 80% de efectividad (Figura 1). La ruptura de la pared celular de las clamidosporas de *P. palmivora* es provocada por la degradación de la pared celular de compuestos como HCN y PRn (Villarreal-Delgado, Villa, Cira y Estrada, 2018).

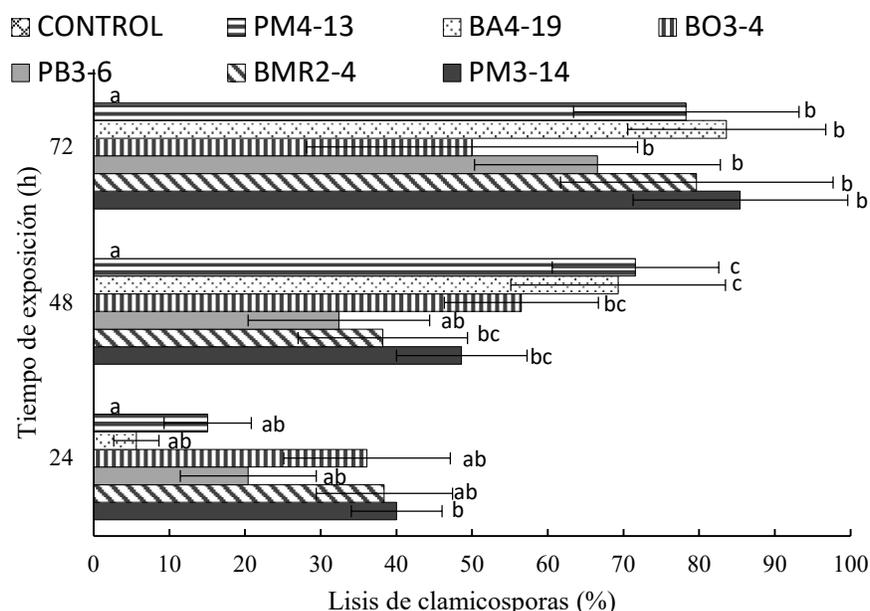


Figura 1. Degradación de las clamidosporas de *P. palmivora* por aplicación de extractos celulares de PGPR. Evaluación de la actividad antagónica a 24, 48 y 72 h al 20% que ocasionan lisis en clamidosporas. Los valores con letras similares no presentan diferencias estadísticas significativas al nivel de ($P \leq 0.05$), por el procedimiento de comparación múltiple de Tukey. Las barras indican el ES individual para tratamiento (\pm).

Figure 1. Degradation of *P. palmivora* chlamydo-spores by application of PGPR cell extracts. Evaluation of the antagonistic activity at 24, 48 and 72 h at 20% causing lysis in chlamydo-spores. Values with similar letters do not present significant statistical differences at the level of ($P \leq 0.05$), by Tukey's multiple comparison procedure. The bars indicate the individual ES for treatment (\pm).

La producción de metabolitos de actividad antagónica por las rizobacterias ejerce deformaciones y lisis sobre la pared celular de las clamidosporas durante el tiempo exposiciones. Se han reportado pocos estudios sobre el biocontrol de clamidosporas de *P. palmivora* de cacao, sin embargo, se evidencia que *Chromobacterium* sp. JH7 y *P. aurantiaca* ST-TJ4 tienen la potencialidad de inhibir la formación de clamidosporas y micelio en *Cylindrocarpon destructans* y *P. cinnamomi* por la producción de 2,4 diacetilfloroglucinol (DAPG), proteasas, sideróforos y fenazinas (Han, Park y Kim, 2017; Zhang, Kong, Wu y Li, 2022). La efectividad antagónica de los extractos celulares de las rizobacterias (PM3-14 y BA4-19), se relacionan por la capacidad de producir compuestos antimicrobianos como: (pirrolnitrina, sideróforos y cianuro de hidrógeno) que estaría asociado al biocontrol de las clamidosporas (Figura 2).

Antagonismo de Extractos Celulares de PGPR Sobre las Estructuras de Diseminación Zoosporas

Las exposiciones directas de los extractos celulares en las zoosporas ocasionaron pérdida en la movilidad de las mismas, alterando el proceso de germinación. Evidenciando diferencia significativa de ($P \leq 0.05$), entre los extractos celulares en función a los tiempos de exposiciones. El tiempo de exposiciones a 24 h de los extractos celulares de (PB3-6 y BA4-19) incidieron con el 15% de lisis de sus zoosporas. A 48 h se incrementó la cantidad de lisis en zoosporas entre (30 y 31%) por aplicación de los extractos celulares de (BO3-4 y PB3-6). Al final de su evaluación, los extractos celulares ejercieron su actividad antagónica ocasionando lisis celular de las zoosporas superiores al 50% por aplicación de los extractos celulares (Figura 3a).

Los extractos celulares inhibieron la formación de su flagelo a diferencia de las células no tratadas llegando a su estado de germinación. Estos resultados sugieren que los metabolitos antagónicos (PR, HCN y PRn) producidos por las rizobacterias (BA4-19 y PM3-14) son fundamentales para el biocontrol de estructuras de proliferación de *P. palmivora* (Figura 3b). Estos compuestos generan un desequilibrio en la integridad y permeabilidad de la membrana de las zoosporas (Rivera, Martínez, Osorio y Martínez, 2010).

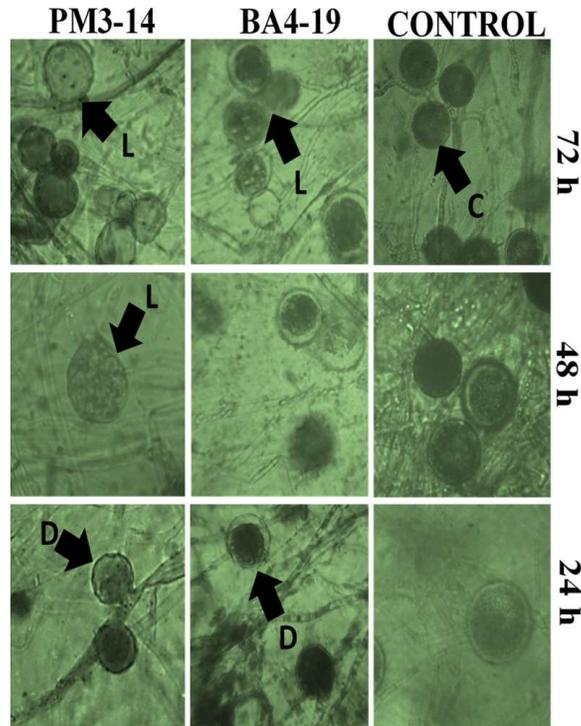


Figura 2. Clamidosporas bajo el efecto de sobrenadantes bacterianos durante 24, 48 y 72 h. (D = deformaciones de clamidosporas; L = lisis; C= clamidosporas sin extractos celulares).

Figure 2. Chlamydospores under the effect of bacterial supernatants for 24, 48 and 72 h. (D =chlamydospore deformations; L = lysis; C = chlamydospores without cell extracts).

Los ensayos *in vitro* de los extractos celulares a inhibir la germinación de las zoosporas nos aproximan a un proceso de reducción de la diseminación de *P. palmivora* e iniciar con perspectivas al control biológico. Siendo una de las estrategias para incrementar los niveles de protección de las plantas (Khatun *et al.*, 2018). Se evidencia que la rizobacteria *E. asburiae* ObRS-5 suprime la formación de esporangios y germinación de zoosporas en *Phytophthora drechsleri* con 66.7%, reduciendo la movilidad e infección de células epidérmicas en plantas (Lee, Ahn, Han y Park, 2020). La aplicación de metabolitos secundarios de *P. aeruginosa* (ácido fenazina-1-carboxílico, 2.4-diacetilfloroglucinol, oomicina, pioluteorina, pirrolnitrina, kanosamina y pantocina) ocasionó lisis e inmovilización de zoosporas en *P. capsici* (Khatun *et al.*, 2018; Kenawy *et al.*, 2019). Se deduce que las rizobacterias en estudio, al producir estos metabolitos minimizan la proliferación de zoosporas siendo una medida de biocontrol y estrategias a la aplicación en campo.

Reducción de Infección de *P. palmivora* en Mazorcas por Aplicaciones de Extractos Celulares

Las aplicaciones de los extractos celulares en mazorcas de *T. cacao* CCN-51, reduce el avance de infección por *P. palmivora* (mazorca negra). Los niveles de infección del patógeno a 24 h, de mazorcas tratadas con extractos celulares mantienen una diseminación similar de la enfermedad entre (0.51 y 0.58 mm), a diferencia del control la colonización del hongo en la mazorca de 0.68 mm. El nivel de infección a 48 h, en mazorcas no tratadas se incrementa con 6 mm de expansión del patógeno sobre la corteza de la mazorca. Los extractos celulares de las cepas BA4-19 y PB3-6 inhibe el avance del patógeno sobre la corteza de la mazorca entre (2.23 y 2.61 mm). El patógeno presenta una ligera expansión entre (3.56 y 4.47 mm) sobre la corteza de la mazorca bajo las aplicaciones de los extractos celulares de las cepas (PM4-13; BO3-4; BMR2-4 y PM3-14). La incubación del patógeno a 72 h, presenta un desarrollo acelerado sobre la corteza de la mazorca con la expansión de 7.87 mm. El extracto celular de BA4-19 detuvo el progreso de infección del hongo con un crecimiento mínimo de 3.96 mm sobre la corteza de la mazorca (Figura 4).

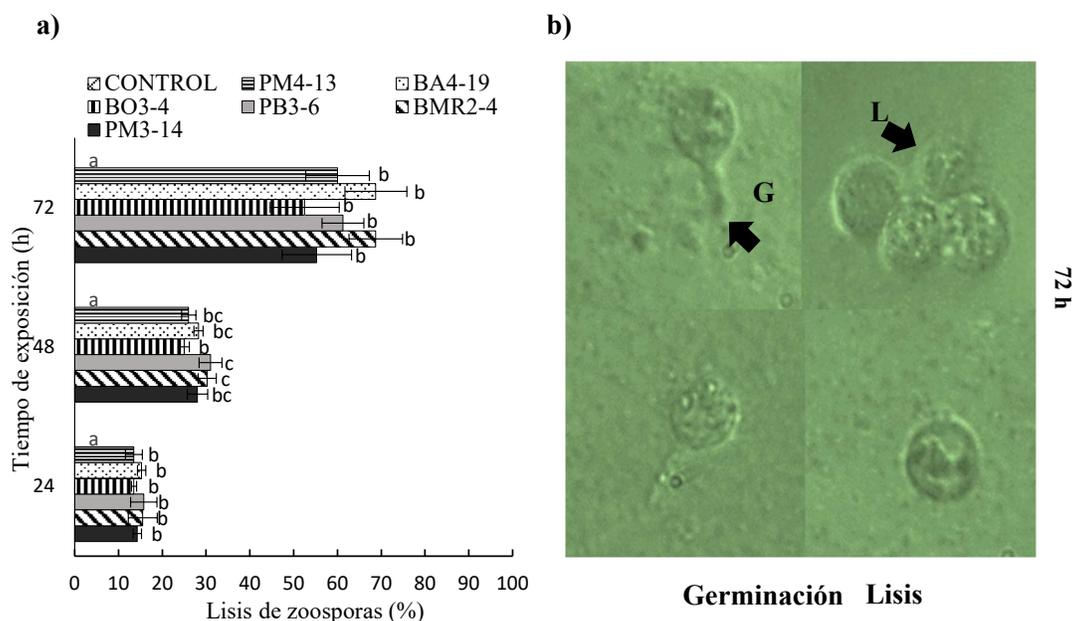


Figura 3. Respuesta diferencial de extractos celulares en zoosporas de *P. palmivora*. A) Actividad antagonista producida por sobrenadantes bacterianos a 24, 48 y 72 h, causando lisis en zoosporas. (G = germinación de zoosporas; L = lisis y zoosporas sin germinación). Los valores con letras similares no presentan diferencias estadísticas significativas al nivel de ($P \leq 0.05$), por el procedimiento de comparación múltiple de Tukey. Las barras indican el ES individual para tratamiento (\pm). B) Inhibición a germinación y lisis de Zoosporas bajo efecto de sobrenadantes bacterianos a 72 h.

Figure 3. Differential response of cell extracts on zoospores of *P. palmivora*. A) Antagonistic activity produced by bacterial supernatants at 24, 48 and 72 h, causing lysis in zoospores (G = germination of zoospores; L = lysis and zoospores without germination). Values with similar letters do not show significant statistical differences at the level of ($P \leq 0.05$), by Tukey's multiple comparison procedure. Bars indicate individual ES for treatment (\pm). B) Inhibition to germination and lysis of Zoospores under the effect of bacterial supernatants at 72 h.

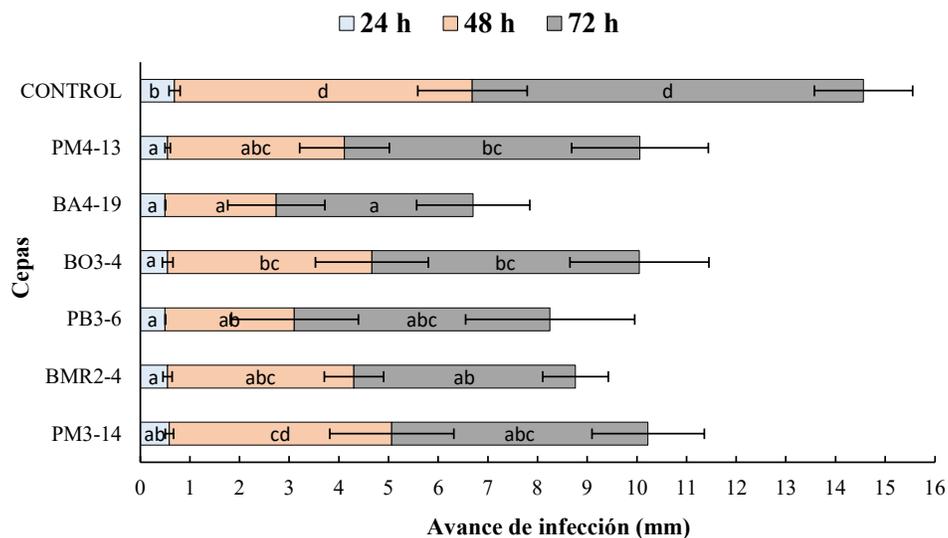


Figura 4. Niveles de protección a *P. palmivora* en mazorcas de cacao en respuesta de extractos celulares. Evaluación del avance de necrosis sobre la corteza de mazorcas de cacao a 24, 40 y 72 h. Los valores con letras similares no presentan diferencias estadísticas significativas al nivel de ($P \leq 0.05$), por el procedimiento de comparación múltiple de Tukey. Las barras indican el ES individual para tratamiento (\pm).

Figure 4. Levels of protection against *P. palmivora* in cocoa pods in response to cell extracts. Evaluation of necrosis progress on the bark of cocoa pods at 24, 40 and 72 h. Values with similar letters do not present significant statistical differences at the level of ($P \leq 0.05$), by Tukey's multiple comparison procedure. Bars indicate individual ES for treatment (\pm).

El proceso de diseminación del patógeno a 72 h genera la formación necrótica sobre la corteza de mazorcas y el avance de la enfermedad al interior de ella. Esto ocasiona daño sobre la almendra de cacao a diferencia de la aplicación del extracto celular de la cepa BA4-19, deteniendo la formación necrótica en la corteza y el avance de la enfermedad a la almendra de cacao (Figura 5). La condición de infección en mazorcas sometidas a condiciones de alta humedad incrementa la diseminación y proliferación del patógeno (Cedeño-Moreira *et al.*, 2020). Las mazorcas de cacao inoculadas con *Phytophthora* tratadas con *P. aeruginosa* y *Chryseobacterium proteolyticum* disminuye la infección en comparación al control, a la producción de enzimas hidrolíticas (proteasa y lipasa), compuestos volátiles y antibióticos (pirrolnitrina, pioluteorina y cianuro de hidrógeno) (Alsultan *et al.*, 2019; Aras *et al.*, 2018; Miguelez-Sierra, Acebo, El Jaziri, Bertin y Hernández, 2019; Sritongon, Boonlue, Mongkoltharuk, Jogloy y Riddech, 2023). Es posible que la rizobacteria BA4-19 disminuya el avance del *P. palmivora* a las 72 h por producción de proteasa y sideróforos, por tal motivo ejerce una acción de protección en las mazorcas (Chávez, Guato, Peñafiel, Mestanza y Canchignia, 2018).

Reducción de Infección de *P. palmivora* en Plantas de CCN-51 por Aplicación de PGPR

La reducción de infección por el patógeno a la aplicación individual de (*E. asburiae* PM3-14 y *P. putida* BMR2-4) lograron un nivel de protección completo del 100% frente a *P. palmivora* en plantas de *T. cacao* CCN-51 (Figura 6a). Esto contrastó con el control sin la presencia de inóculo bacteriano, el 70% de las plantas experimentaron mortalidad. Los agentes de biocontrol también pueden inducir respuestas de las plantas mediante la secreción de metabolitos secundarios (Lucke, Correa y Levy, 2020). La aplicación de rizobacterias productoras de HCN, AIA y peroxidasa disminuyó la severidad de la enfermedad (20%) de *Phytophthora* en plantas de cacao (Syamsuddin, Marlina, Chamzurni y Maulidia, 2021). La adaptabilidad de las rizobacterias en distintos cultivares de cacao permite proveer a través de sus compuestos antimicrobianos actividades inhibitorias contra el crecimiento del micelio, la esporulación y la germinación de zoosporas. El mecanismo de protección en especies vegetales los microorganismos promueven su desarrollo y mejorando así sus relaciones beneficiosas con las ellas (Volynchikova y Kim, 2022).

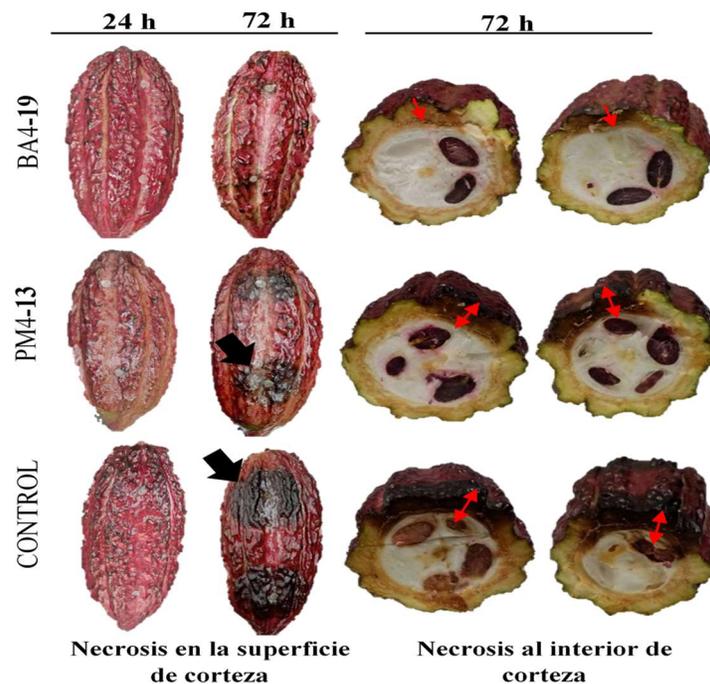


Figura 5. Formación de necrosis en mazorcas de cacao en respuesta de extractos celulares. Inhibición de formación de necrosis mazorcas de cacao a 24 y 72 h por aplicación de extracto celular de BA4-19 y PM4-13. Las flechas negras indican la formación necrótica en la superficie y (flechas rojas) al interior de la mazorca a 72 horas.

Figure 5. Necrosis formation in cocoa pods in response to cell extracts. Inhibition of necrosis formation in cocoa pods at 24 and 72 h by application of cell extracts of BA4-19 and PM4-13. The (black arrows) indicate the necrotic formation on the surface and (red arrows) inside the cob at 72 hours.

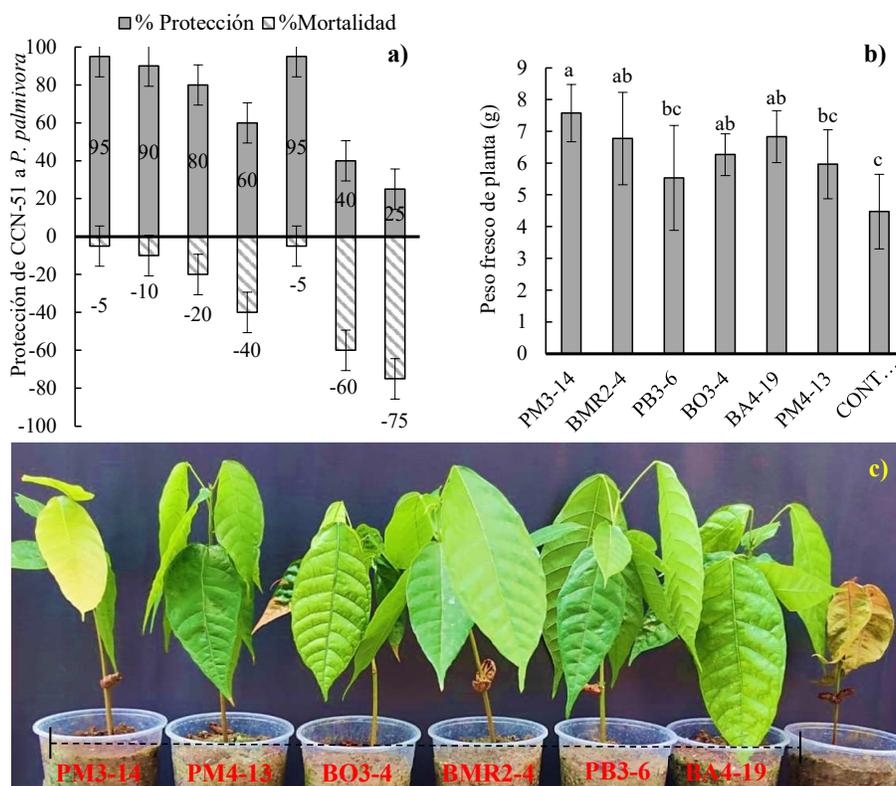


Figura 6. Efecto de la aplicación de rizobacterias en plantas de cacao frente a *P. palmivora* durante 70 dpi. a) Niveles de protección en plantas de cacao CCN-51. b) Peso fresco de la planta. Las barras indican el ES individual para tratamiento (\pm). c) Protección del tejido foliar al patógeno.

Figure 6. Effect of rhizobacteria application on cocoa plants against *P. palmivora* during 70 dpi. a) Levels of protection in CCN-51 cocoa plants. b) Fresh weight of the plant. Bars indicate individual ES for treatment (\pm). c) Protection of leaf tissue to the pathogen by PGPR application.

Los niveles de protección se relacionan con el incremento del peso de la planta de (7.5 g) por la aplicación de la rizobacteria PM3-14. A diferencia del control sin aplicaciones de rizobacterias el peso se reduce a (4.5 g), siendo un indicativo de protección contra patógenos (Figura 6b). Las inoculaciones de cepas de rizobacterias al género: *Pseudomonas*, *Serratia*, *Acinetobacter* incrementaron la biomasa en plantas de cacao por la producción de auxinas y citoquininas (Cedeño-Moreira *et al.*, 2020; Akhtyamova *et al.*, 2023; Macías-Holguín *et al.*, 2023). Las rizobacterias disminuyen la mortalidad de plantas de *T. cacao* CCN-51 causadas por *Phytophthora palmivora* durante los 70 días posteriores a la inoculación (dpi) y, además, muestran un efecto sinérgico al aumentar el peso fresco de las plantas (Figura 6c). Este efecto positivo en la estimulación y el crecimiento de las plantas está relacionado con la capacidad de las rizobacterias para influir en las concentraciones de hormonas vegetales y solubilizar nutrientes minerales, mejorando su disponibilidad para las plantas (Asari *et al.*, 2017).

CONCLUSIONES

Las cepas de rizobacterias PM3-14 y BA4-19 controlaron eficazmente las estructuras de resistencia y de *P. palmivora* con (80 y 68%).

Las cepas BMR2-4 y BA4-19 lograron inhibir a *P. palmivora* en la sección externa de la mazorca con (50%) de la mazorca de cacao. Estas bacterias promovieron el crecimiento de plantas de cacao CCN-51 y protección contra el patógeno del 100%.

La aplicación de rizobacterias en plántulas y mazorcas de cacao combinó su capacidad para promover el crecimiento de las plantas con la supresión de la enfermedad. Este efecto se debe a la acción de los metabolitos secundarios y a la producción de hormonas de crecimiento. Sin embargo, es fundamental realizar estudios de campo adicionales para evaluar el impacto de estas cepas en la producción del cultivo de cacao.

DECLARACIÓN DE ETICA

No aplicable.

CONSENTIMIENTO PARA PUBLICACIÓN

No aplicable.

DISPONIBILIDAD DE DATOS

No aplicable.

CONFLICTO DE INTERESES

No aplicable.

FINANCIACIÓN

No aplicable.

CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

Investigación, conceptualización, validación, administración del proyecto, adquisición de fondo: H.F.C.M. Escritura, revisión y edición: D.N.T.Q Investigación, metodología: H. G. O. A. Escritura: preparación del borrador original, escritura: revisión y edición: C.J.M.H. Curación de datos, análisis de datos: Á.V.C.M. Escritura, revisión, análisis formal: L.F.V.B.

AGRADECIMIENTOS

Al Fondo Competitivo de Investigación Científica y Tecnológica (FOCICYT) novena convocatoria de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo por el financiamiento del trabajo de investigación.

LITERATURA CITADA

- Afsharmanesh, H., Ahmadzadeh, M., Javan-Nikkhah, M., & Behboudi, K. (2010). Characterization of the antagonistic activity of a new indigenous strain of *Pseudomonas fluorescens* isolated from onion rhizosphere. *Journal of Plant Pathology*, 92(1), 187-194.
- Akhtyamova, Z., Martynenko, E., Arkhipova, T., Seldimirova, O., Galin, I., Belimov, A., & Kudoyarova, G. (2023). Influence of plant growth-promoting rhizobacteria on the formation of apoplastic barriers and uptake of water and potassium by wheat plants. *Microorganisms*, 11(5), 1227. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11051227>
- Alomía, J., Alomía, C., & Vega, B. (2021). Carmenta foraseminis Eichlin y Phytophthora palmivora en frutos de *Theobroma cacao* L. en Satipo, Perú. *Manglar*, 18(3), 283-288. <https://dx.doi.org/10.17268/manglar.2021.037>
- Alsultan, W., Vadamalai, G., Khairulmazmi, A., Saud, H. M., Al-Sadi, A. M., Rashed, O., & Nasehi, A. (2019). Isolation, identification and characterization of endophytic bacteria antagonistic to *Phytophthora palmivora* causing black pod of cocoa in Malaysia. *European Journal of Plant Pathology*, 155, 1077-1091. <https://doi.org/10.1007/s10658-019-01834-8>
- Aras, S., Arıkan, Ş., İpek, M., Eşitken, A., Pırlak, L., Dönmez, M. F., & Turan, M. (2018). Plant growth promoting rhizobacteria enhanced leaf organic acids, FC-R activity and Fe nutrition of apple under lime soil conditions. *Acta Physiologiae Plantarum*, 40, 1-8. <https://doi.org/10.1007/s11738-018-2693-9>
- Asari, S., Tarkowská, D., Rolčík, J., Novák, O., Palmero, D. V., Bejai, S., & Meijer, J. (2017). Analysis of plant growth-promoting properties of *Bacillus amyloliquefaciens* UCMB5113 using *Arabidopsis thaliana* as host plant. *Planta*, 245, 15-30. <https://doi.org/10.1007/s00425-016-2580-9>
- Bahia, R., Aguilar, C., Luz, E., Lopes, U., Machado, R., & Corrêa, R. (2015). Resistance to Black Pod Disease in a Segregating Cacao Tree Population. *Tropical Plant Pathology*, 40(1), 13-18. <https://doi.org/10.1007/s40858-014-0003-7>
- Bailey, B. A., & Meinhardt, L. W. (2016). *Cacao Diseases: A History of Old Enemies and New Encounters*. Cham Switzerland: Springer. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-24789-2>
- Bailey, B. A., Evans, H. C., Phillips-Mora, W., Ali, S. S., & Meinhardt, L. W. (2018). *Moniliophthora roreri*, causal agent of cacao frosty pod rot. *Molecular Plant Pathology*, 19(7), 1580-1594. <https://doi.org/10.1111/mpp.12648>
- Boudjeko, T., Mouafo, R., Zitouni, M., Tchatchou, M., Lerat, S., & Beaulieu, C. (2017). *Streptomyces cameroonensis* sp. nov., a Geldanamycin Producer That Promotes *Theobroma cacao* Growth. *Microbes and Environments*, 32(1), 24-31. <https://doi.org/10.1264/jsme2.ME16095>
- Canchignia-Martínez, H. F., Vera-Benites, L. F., Tapia-Quintana, D. N., Cedeño-Moreira, Á. V., García-Intriago, E., & Macías-Holguín, C. J. (2024a). Caracterización Bioquímica de Rizobacterias Endófitas con Actividad Biocontroladora Contra *Phytophthora palmivora* y *Lasiodiplodia theobromae*. *Terra Latinoamericana*, 42, 1-10. <https://doi.org/10.28940/terra.v42i0.1807>
- Canchignia-Martínez, H. F., Tapia-Quintana, D. N., Auhing-Arcos, J. A., Macías-Holguín, C. J., Cedeño-Moreira, Á. V., & Vera-Benites, L. F. (2024b). Bioformulados para mantener la viabilidad de rizobacterias y su aplicación en *Theobroma cacao* L. CCN-51. *Agronomía Mesoamericana*, 35, 1-21. <https://doi.org/10.15517/am.2024.56868>
- Cedeño-Moreira, Á. V., Romero-Meza, R. F., Auhing-Arcos, J. A., Mendoza-León, A. F., Abasolo-Pacheco, F., & Canchignia-Martínez, H. F. (2020). Characterization of *Phytophthora* spp. And application of rhizobacteria with biocontrol potential in black pod disease in *Theobroma cacao* variety CCN-51. *Scientia Agropecuaria*, 11(4), 503-512. <https://doi.org/10.17268/SCI.AGROPECU.2020.04.05>

- Chávez, K., Guato, J., Peñafiel, M., Mestanza, C., & Canchignia, H. (2018). Bacterias fluorescentes productoras de metabolitos antagónicos de cultivos nativos de *Musa* sp. y su diversidad filogenética al gen ARNr 16S. *Revista Ciencia y Tecnología*, 11(2), 17-29. <https://doi.org/10.18779/cyt.v11i2.232>
- Cornu, J. Y., Huguenot, D., Jézéquel, K., Lollier, M., & Lebeau, T. (2017). Bioremediation of copper-contaminated soils by bacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 33(2), 1-9. <https://doi.org/10.1007/s11274-016-2191-4>.
- Fischer, S., Jofré, E., Cordero, P., Gutiérrez, F., & Mori, G. (2010). Survival of native *Pseudomonas* in soil and wheat rhizosphere and antagonist activity against plant pathogenic fungi. Antonie van Leeuwenhoek. *International Journal of General and Molecular Microbiology*, 97(3), 241-251. <https://doi.org/10.1007/s10482-009-9405-9>
- Goswami, D., Dhandukia, P., & Thakker, J. (2016). Expanding the Horizons for the Use of *Paenibacillus* Species as PGPR for Sustainable Agriculture. In *Bacilli and Agrobiotechnology* (pp. 281-307). Heidelberg, Germany: Springer Nature. https://doi.org/10.1007/978-3-319-44409-3_12
- Guest, D. (2006). Black Pod: Diverse pathogens with a global impact on cocoa yield. *The American Phytopathological Society*, 2(1), 1650-1653. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-97-12-1650>
- Han, J. H., Park, G. C., & Kim, K. S. (2017). Antagonistic Evaluation of *Chromobacterium* sp. JH7 for Biological Control of Ginseng Root Rot Caused by *Cylindrocarpon destructans*. *Mycobiology*, 45(4), 370-378. <http://dx.doi.org/10.5941/MYCO.2017.45.4.370>
- Hardham, A. (2001). The cell biology behind Phytophthora pathogenicity. *Australasian Plant Pathology*, 30(4), 91-98. <https://doi.org/10.1071/AP01006>
- Kenawy, A., Dailin, D. J., Abo-Zaid, G. A., Malek, R. A., Ambehatabi, K. K., Zakaria, K. H. N., ... & El Enshasy, H. A. (2019). Biosynthesis of antibiotics by PGPR and their roles in biocontrol of plant diseases. In *Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Sustainable Stress Management: Volume 2: Rhizobacteria in Biotic Stress Management* (pp. 1-35). Heidelberg, Germany: Springer Nature. https://doi.org/10.1007/978-981-13-6986-5_1
- Khatun, A., Farhana, T., Sabir, A. A., Islam, S. M. N., West, H. M., Rahman, M., & Islam, T. (2018). *Pseudomonas* and *Burkholderia* inhibit growth and asexual development of *Phytophthora capsici*. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 73(3-4), 123-35. <http://dx.doi.org/10.1515/znc-2017-0065>
- King, E., Ward, M., & Raney, D. (1954). Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 44(2), 301-307.
- Lee, S. Y., Ahn, S. H., Han, J. H., & Park, J. W. (2020). Biological control of gom-chwi (*Ligularia fischeri*) Phytophthora root rot with *Enterobacter asburiae* ObRS-5 to suppress Zoospore formation and zoospores germination. *The Plant Pathology Journal*, 36(3), 244. <https://doi.org/10.5423/PPJ.OA.11.2019.0283>
- Liu, H., Yu, H., Zhang, Z., Bi, X., Yang, Z., Chen, Y., & Wen, J. (2022). The adaptability of *Phytophthora sojae* to different types of soil determines the distribution of *Phytophthora* root rot of soybean in Heilongjiang Province of China. *European Journal of Plant Pathology*, 1-12. <https://doi.org/10.1007/s10658-021-02387-5>
- Lucke, M., Correa, M. G., & Levy, A. (2020). The role of secretion systems, effectors, and secondary metabolites of beneficial rhizobacteria in interactions with plants and microbes. *Frontiers in Plant Science*, 11, 589416. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.589416>
- Macías-Holguín, C. J., Canchignia-Martínez, H. F., Delgado-Basurto, V. D., Paucar-Nieto, F. P., Arellano-Ibarra, K. V., & Cedeño-Moreira, Á. V. (2023). Efectos de la co-inoculación de Bioformulados (PGPR) s sobre el porcentaje de germinación y promover el crecimiento en plántula de papaya (*Carica papaya* L.). *Manglar*, 20(2), 149-155.
- Mbarga, J. B., Begoude, B. A. D., Ambang, Z., Meboma, M., Kuate, J., Ewbank, W., & Hoopen, G. M. (2020). Field testing an oil-based *Trichoderma asperellum* formulation for the biological control of cacao black pod disease, caused by *Phytophthora megakarya*. *Crop Protection*, 132, 105134. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2020.105134>
- McCarren, K. L., McComb, J. A., Shearer, B. L., & Hardy, G. E. S. J. (2005). The role of chlamydospores of *Phytophthora cinnamomi*. *Australasian Plant Pathology*, 34(3), 333-338. <https://doi.org/10.1071/AP05038>
- Mejía, L. C., Rojas, E. I., Maynard, Z., Van Bael, S., Arnold, A. E., Hebbbar, P., ... & Herre, E. A. (2008). Endophytic fungi as biocontrol agents of *Theobroma cacao* pathogens. *Biological Control*, 46(1), 4-14. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2008.01.012>
- Migueluez-Sierra, Y., Acebo-Guerrero, Y., El Jaziri, M., Bertin, P., & Hernández-Rodríguez, A. (2019). *Pseudomonas chlororaphis* CP07 strain reduces disease severity caused by *Phytophthora palmivora* in genotypes of *Theobroma cacao*. *European Journal of Plant Pathology*, 155, 1133-1143. <https://doi.org/10.1007/s10658-019-01842-8>
- Opoku, J., Akrofi, A., Appiah, A., & Owusu, G. (2000). *Phytophthora megakarya*: A potential threat to the cocoa industry in Ghana. *Journal of the Ghana Science Association*, 2(3), 237-248. <https://doi.org/10.4314/gjas.v33i2.1876>
- Rivera, H., Martínez, E., Osorio, J., Martínez, E. (2010). Evaluation of Biosurfactants Produced by *Pseudomonas fluorescens* for Potato Late Blight Control (*Phytophthora infestans* (Mont) de Bary) Under Controlled Conditions. *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 11(1), 21-30.
- Schmidt, J. E., Puig, A. S., DuVal, A. E., & Pfeufer, E. E. (2023). Phyllosphere microbial diversity and specific taxa mediate within-cultivar resistance to *Phytophthora palmivora* in cacao. *Mosphere*, 8(5), e00013-23. <https://doi.org/10.1128/msphere.00013-23>
- Schroeder, K. L., Martin, F. N., de Cock, A. W. A. M., Lévesque, C. A., Spies, C. F. J., Okubara, P. A., & Paulitz, T. C. (2013). Molecular detection and quantification of pythium species: Evolving taxonomy, new tools, and challenges. *Plant Disease*, 97(1), 4-20. <https://doi.org/10.1094/PDIS-03-12-0243-FE>
- Sritongon, N., Boonlue, S., Mongkolthananuk, W., Jogloy, S., & Riddech, N. (2023). The combination of multiple plant growth promotion and hydrolytic enzyme producing rhizobacteria and their effect on Jerusalem artichoke growth improvement. *Scientific Reports*, 13(1), 5917. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-33099-x>
- Statgraphics Technologies (2005). *Statgraphics Centurion XV User's Manual*. The Plains, VA, USA: Statgraphics Inc.
- Syamsuddin, S., Marlina, M., Chamzurni, T., & Maulidia, V. (2021). Indigenous Rhizobacteria treatment in controlling diseases *Phytophthora palmivora* and increasing the viability and growth of cocoa seedling. *Jurnal Natural*, 21(2), 105-113. <https://doi.org/10.24815/jn.v21i2.21216>
- Villarreal-Delgado, F., Villa-Rodríguez, D., Cira-Chávez, A., Estrada-Alvarado, I. (2018). El género *Bacillus* como agente de control biológico y sus implicaciones en la bioseguridad agrícola. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 36, 95-130. <http://dx.doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1706-5>
- Volynchikova, E., & Kim, K. D. (2022). Biological control of oomycete soilborne diseases caused by *Phytophthora capsici*, *Phytophthora infestans*, and *Phytophthora nicotianae* in solanaceous crops. *Mycobiology*, 50(5), 269-293. <https://doi.org/10.1080/12298093.2022.2136333>
- Wang, Z., Langston, D. B., Csinos, A. S., Gitaitis, R. D., Walcott, R. R., & Ji, P. (2009). Development of an improved isolation approach and simple sequence repeat markers to characterize *Phytophthora capsici* populations in irrigation ponds in Southern Georgia. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(17), 5467-5473. <https://doi.org/10.1128/AEM.00620-09>
- Zhang, S., White, T., Martinez, M., Mcinroy, J., Kloepper, J., & Klassen, W. (2010). Evaluation of plant growth-promoting rhizobacteria for control of *Phytophthora* blight on squash under greenhouse conditions. *Biological Control*, 53(10), 129-135. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2009.10.015>
- Zhang, Y., Kong, W. L., Wu, X. Q., & Li, P. S. (2022). Inhibitory Effects of Phenazine Compounds and Volatile Organic Compounds Produced by *Pseudomonas aurantiaca* ST-TJ4 Against *Phytophthora cinnamomi*. *Phytopathology*, 112(9), 1867-1876. <https://doi.org/10.1094/phyto-10-21-0442-r>