Colección Nuevo Conocimiento Agropecuario

Control biológico
de fitopatógenos, insectos y ácaros

Volumen 1. Agentes de control biológico

Alba Marina Cotes
Editora

AGROSAVIA
Corporación colombiana de investigación agropecuaria

Alba Marina Cotes

Alba Marina Cotes es doctora en ciencias agronómicas de la Universidad de Lieja, en Bélgica (Gembloux Agrobiotec), tiene dos maestrías, una en biotecnología agrícola de esta misma universidad y otra en microbiología de la Universidad de los Andes de Colombia, y es licenciada en biología y química de la Universidad Libre. Es investigadora emérita de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA), donde se ha desempeñado como líder del Grupo de Control Biológico de Plagas Agrícolas, directora de laboratorio y directora de centro de investigación. Sus áreas de acción profesional se enfocan en el control biológico, el desarrollo de bioplaguicidas, el manejo integrado de plagas y la biodiversidad microbiana. Luego de 24 años de trabajo en esta institución dedicará sus esfuerzos futuros a la consultoría en estos temas.

Continúa en la solapa siguiente...

Colección Nuevo Conocimiento Agropecuario

Control biológico
de fitopatógenos, insectos y ácaros

Alba Marina Cotes
Editora

AGROSAVIA
EDITORIAL

Mosquera, Colombia 2018

Volumen 1

Agentes de control biológico

AGROSAVIA
EDITORIAL

Control biológico de fitopatógenos, insectos y ácaros / Alba Marina Cotes (Editora) -- Mosquera, (Colombia) : AGROSAVIA, 2018.

2 v. (Volumen 1: Agentes de control biológico - 568 páginas) -- (Colección Nuevo Conocimiento Agropecuario)
Incluye referencias bibliográficas, ilustraciones y datos numéricos

ISBN Obra completa(e): 978-958-740-252-0
ISBN Volumen 1(e): 978-958-740-253-7

1. Control biológico 2. Métodos de control 3. Enfermedades de las plantas 4. Fitopatología 5. Control de insectos 6. Enemigos naturales I. Cotes, Alba Marina (Editora).

Palabras clave normalizadas según Tesauro Multilingüe de Agricultura Agrovoc
Catalogación en la publicación – Biblioteca Agropecuaria de Colombia

Centro de Investigación Tibaitatá. Kilómetro 14 vía Mosquera-Bogotá. Código postal 250047, Colombia

Centro de Investigación Palmira. Diagonal a la intersección de la carrera 36A con calle 23 Palmira, Valle del Cauca. Código postal 763533, Colombia

Centro de Investigación La Libertad. Kilómetro 91, vía Puerto López-Puerto Gaitán, Meta. Código postal 502007, Colombia

Centro de Investigación Caribia. 65 km al sur de la capital de Santa Marta, Sevilla, Zona Bananera, Magdalena. Código postal 478020, Colombia

Centro de Investigación El Mira. Kilómetro 38, vía Tumaco-Pasto, Nariño. Código postal 528501, Colombia

Colección: Nuevo Conocimiento Agropecuario

Fecha de recepción: 07 de noviembre de 2017
Fecha de evaluación: 27 de noviembre de 2017
Fecha de aceptación: 23 de abril de 2018

Publicado octubre de 2018
Preparación editorial
Editorial AGROSAVIA
editorial@agrosavia.co
Editora científica: Alba Marina Cotes
Editora de contenidos: Liliana Gaona García
Asistentes editoriales: Víctor Camilo Pulido Blanco y Christian David Vargas Baquero
Corrección de estilo: Luz Ángela Uscátegui Cuellar, Jorge Enrique Beltrán Vargas, Edwin Daniel Algarra Suárez y Luisa Fernanda Espina Rodríguez
Realización gráfica: María Cristina Rueda Traslaviña, Wilson Martínez Montoya y Claudia Patricia Castiblanco
Impresión: Fundación Cultural Javeriana de Artes Gráficas (JAVEGRAF)

Citación sugerida: Cotes A. M. (Ed.). (2018). *Control biológico de fitopatógenos, insectos y ácaros* (Vol. 1). Mosquera, Colombia: Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA).

Cláusula de responsabilidad: AGROSAVIA no es responsable de las opiniones e información recogidas en el presente texto. Los autores asumen de manera exclusiva y plena toda responsabilidad sobre su contenido, ya sea este propio o de terceros, declarando en este último supuesto que cuentan con la debida autorización de terceros para su publicación; igualmente, declaran que no existe conflicto de interés alguno en relación con los resultados de la investigación propiedad de tales terceros. En consecuencia, los autores serán responsables civil, administrativa o penalmente, frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros relativa a los derechos de autor u otros derechos que se hubieran vulnerado como resultado de su contribución.

Nota aclaratoria: A partir de mayo de 2018, la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria cambió su acrónimo Corpoica por AGROSAVIA

Línea de atención al cliente: 018000121515
atencionalcliente@agrosavia.co
www.agrosavia.co

https://co.creativecommons.org/?page_id=13

Tabla de contenido

Los autores 25
Agradecimientos 33
Prólogo 35
Prefacio 36

Volumen 1

Agentes de control biológico

Introducción
El concepto de control biológico y sus premisas fundamentales
The concept of biological control and its fundamental premises 40

Sección I
Control biológico de enfermedades vegetales

Capítulo 1
Control biológico de patógenos foliares
Biological control of foliar pathogens 58

Capítulo 2
Control biológico de fitopatógenos del suelo
Biological control of soil-borne phytopathogens 144

Capítulo 3
Control biológico de patógenos en poscosecha
Biological control of postharvest pathogens 222

Capítulo 4
Estudios del microbioma y su aplicación en el control biológico de fitopatógenos
Microbiome studies in the biological control of plant pathogens 256

Sección II

Control biológico de insectos plagas

Capítulo 5
Bacterias entomopatógenas en el control biológico de insectos
Entomopathogenic bacteria in insect biological control 296

Capítulo 6
Hongos entomopatógenos en el control biológico de insectos plaga
Entomopathogenic fungi in insect pests biological controls 334

Capítulo 7
Virus entomopatógenos en el control biológico de insectos
Entomopathogenic viruses in the biological control of insects 368

Capítulo 8
Las feromonas en el control de insectos
Pheromones in insect control 410

Capítulo 9
Uso de depredadores como agentes de control biológico para insectos plaga
Use of predators as biological control agents of insect pests 454

Capítulo 10
Uso de parasitoides en el control biológico de insectos plaga en Colombia
Use of parasitoids in insect biological control in Colombia 486

Índice temático 544

Volumen 2

Aplicaciones y perspectivas

Sección III

Implementación del control biológico

Capítulo 11

Diseño conceptual, selección y prueba de concepto de microorganismos biocontroladores

Conceptual design, selection and proof of concept of biological control microorganisms 594

Capítulo 12

Desarrollo y escalamiento de bioplaguicidas

Development and scaling of biopesticides 628

Capítulo 13

Marco regulatorio para el registro de bioplaguicidas

Regulatory framework for the registration of biopesticides 692

Capítulo 14

Investigación, desarrollo y registro de enemigos naturales para control biológico. Caso: *Phytoseiulus persimilis*

Research, development and registry of natural enemies for biological control. Case: Phytoseiulus persimilis 716

Capítulo 15

Investigación, desarrollo y escalamiento de feromonas de insectos

Research, development and scaling of insect pheromones 742

Capítulo 16

Comercialización de agentes de control biológico

Commercialization of biological control agents 762

Capítulo 17

El control biológico en un contexto de manejo integrado de enfermedades

Biological control in the context of integrated plant diseases management 794

Capítulo 18

El control biológico en el contexto de un manejo integrado estratégico de insectos plaga

Biological control in the context of strategic integrated insect pest management 822

Sección IV

El futuro del control biológico

Capítulo 19

Los hongos endófitos en el control biológico de fitopatógenos e insectos plaga

Endophytic fungi in biological control of phytopathogens and insect pests 850

Capítulo 20

Nuevas estrategias para el control biológico de fitopatógenos

Novel strategies for plant pathogens biological control 878

Capítulo 21

Nuevas estrategias para el control biológico de insectos

Novel strategies for insect biological control 922

Capítulo 22

Las ómicas en el control biológico

Omics in biological control 950

Capítulo 23

Los volátiles microbianos y su potencial en el control biológico de fitopatógenos e insectos

Microbial volatiles and their potential in the biological control of plant pathogens and insects 988

Capítulo 24

Cambio climático, epidemiología vegetal y control biológico de fitopatógenos

Climate change, plant epidemiology and biological control of plant pathogens 1014

Capítulo 25

Cambio climático y control biológico de insectos: visión y perspectiva de la situación

Climate change and biological control of insects: current situation and perspectives 1034

Índice temático 1056

Lista de figuras

Volumen 1

Figura 1. Control biológico de fitopatógenos, insectos y ácaros 38

Introducción

El concepto de control biológico y sus premisas fundamentales

Figura 1. Uso exagerado e indiscriminado de plaguicidas químicos 46
Figura 2. Diferentes formas de control biológico 48

Sección I

Control biológico de enfermedades vegetales

Capítulo 1

Control biológico de patógenos foliares

Figura 1.1. Moho gris producido por *B. cinerea* en uvas 63
Figura 1.2. Conidióforo de *B. cinerea* 64
Figura 1.3. Mangos afectados en campo por *Colletotrichum gloeosporioides* 65
Figura 1.4. Antracnosis del tomate de árbol (*Solanum betaceum*) producido por *C. gloeosporioides* 66
Figura 1.5. Mildeo polvoso del pepino producido por *Podosphaera xanthii* 67
Figura 1.6. Aspecto microscópico del Mildeo polvoso del pepino 67
Figura 1.7. Mildeo polvoso de la mora, expresado como encrespamiento de hojas y desarrollo del patógeno en el envés, producido por *Sphaerotheca macularis* 68
Figura 1.8. Aspecto macro y microscópico de varias especies de *Trichoderma* aisladas de suelo colombiano 80
Figura 1.9. Aspecto macro y microscópico de varias cepas de levaduras aisladas de la filósfera de mora 83
Figura 1.10. Virus del mosaico del pepino (CMV) 87

Figura 1.11. Virus del mosaico del tabaco (TMV) 88
Figura 1.12. Síntomas típicos del virus de la vena ancha de la lechuga 89
Figura 1.13. Conidios del mildeo polvoso colapasados por una levadura 96
Figura 1.14. Adhesión de conidios de *Trichoderma harzianum* T39 sobre hifa de *Botrytis cinerea* 97
Figura 1.15. Modos de acción utilizados por *T. harzianum* T39 en el control de patógenos foliares 102
Figura 1.16. Resistencia sistémica inducida contra *Botrytis* sp. en el dosel 103
Figura 1.17. Moho gris producido por *B. cinerea* en mora 107
Figura 1.18. Efecto promotor de crecimiento del biofungicida Tricotec® en vitroplántulas de mora durante su endurecimiento (35 días) 108
Figura 1.19. Caracterización ecofisiológica de las levaduras 109
Figura 1.20. Prototipo de bioplaguicida a base de *R. glutinis* Lv316 111

Capítulo 2

Control biológico de fitopatógenos del suelo

Figura 2.1. Rizosfera de dos solanáceas 153
Figura 2.2. Colonización de rizobacterias 157
Figura 2.3. Efecto de la población microbiana sobre la salud de la planta 158
Figura 2.4. Principales grupos de microorganismos antagonistas aislados de la rizosfera que son el principio activo de la mayoría de los bioproductos registrados para el control de enfermedades 159
Figura 2.5. Micoparasitismo y antibiosis 160
Figura 2.6. Modos de acción utilizados por agentes de control biológico contra fitopatógenos del suelo 161
Figura 2.7. Estructuras químicas de compuestos representativos y diversidad de compuestos homólogos de las tres principales familias de lipopéptidos cíclicos sintetizados por *Bacillus subtilis* y *B. amyloliquefaciens* 166
Figura 2.8. Efecto de la mezcla de compuestos homólogos de fengicinas (Fng), iturinas (Itu) y surfactinas (Srf) sobre el desarrollo de *F. oxysporum* Map5, 24 h después de incubación (oscuridad, 30 °C, 125 rpm) 167
Figura 2.9. Efecto biocontrolador de *B. amyloliquefaciens* contra *F. oxysporum* en uchuva, expresado como competencia y producción de lipopéptidos 170
Figura 2.10. Micoparasitismo de *Trichoderma* spp. en la comunidad del suelo 172
Figura 2.11. Descripción de los modos de acción utilizados por *P. fluorescens* y especies de *Pseudomonas fluorescentes* estrechamente relacionadas con la protección de plantas 177
Figura 2.12. Síntomas y signos de la enfermedad conocida como rizoctoniasis de la papa causada por *R. solani* 185

Figura 2.13. Efecto biocontrolador de *Trichoderma* spp. sobre *R. solani* en tubérculos de papa 187

Figura 2.14. Curvas de progreso de la incidencia de la enfermedad del moho blanco de la lechuga en cultivos comerciales del municipio de Madrid, Cundinamarca 192

Figura 2.15. *S. sclerotiorum* y *S. minor* como patógenos de lechuga y soya 194

Figura 2.16. *Fusarium oxysporum* como patógeno de solanáceas 196

Figura 2.17. Efecto promotor de crecimiento vegetal por *T. koningiopsis* Th003 en tomate 198

Figura 2.18. Modos de acción de *Trichoderma koningiopsis* Th003 definidos para la interacción fríjol-*Pythium splendens* 199

Figura 2.19. Patógenos objetivos para los cuales se encuentra registrado Tricotec® hasta marzo de 2018 201

Capítulo 3

Control biológico de patógenos en poscosecha

Figura 3.1. Efecto de diversos patógenos sobre frutas y ornamentales en poscosecha 227

Figura 3.2. Aspecto microscópico (izquierda) y macroscópico (derecha) de levaduras utilizadas como agentes de control en poscosecha, correspondientes a los géneros: a. *Pichia*; b. *Rhodotorula*; c. *Candida* 235

Figura 3.3. Actividad biocontroladora de levaduras 236

Figura 3.4. Modos de acción atribuidos a biocontroladores de patógenos en poscosecha 237

Figura 3.5. Aspecto microscópico de la interacción entre la levadura *Rhodotorula glutinis* y *B. cinerea* en pétalos de rosa luego de 24 y 96 horas, respectivamente 239

Figura 3.6. Interacciones entre Patógeno–Fruta–Biocontrolador 242

Capítulo 4

Estudios del microbioma y su aplicación en el control biológico de fitopatógenos

Figura 4.1. Interacciones del fitobioma con los factores fisicoquímicos del entorno 269

Figura 4.2. Estudios de caso de microbiomas como herramienta para el diseño de nuevas estrategias de biocontrol 272

Figura 4.3. Vegetales y humanos: microbiomas compartidos 275

Figura 4.4. Síntomas de marchitamiento en plantas de tomate, 14 días después de ser infectadas con el patógeno 280

Figura 4.5. CLSM de la raíz de la planta del tomate infectada con *Ralstonia solanacearum* 281

Sección II

Control biológico de insectos plagas

Capítulo 5

Bacterias entomopatógenas en el control biológico de insectos

Figura 5.1. Modo de acción de las toxinas Cry de *Bacillus thuringiensiss* 303
Figura 5.2. Microfotografía electrónica de transmisión de un esporangio de *Bacillus thuringiensis* var. Kurstaki 304
Figura 5.3. Ciclo de *Bacillus thuringiensis* 304
Figura 5.4. Microfotografía de contraste de fases de esporangios maduros concatenados de *Bacillus thuringiensis* var. Kurstaki 305
Figura 5.5. Larva de primer instar del gusano de cuerno del tabaco, *Manduca sexta*, atacado por las toxinas de *Bacillus thuringiensis* var. Kurstaki HD-1 305
Figura 5.6. Relación filogenética entre cepas tipo de *Bacillus thuringiensis*, obtenida a partir de las secuencias del gen *flaA* 312
Figura 5.7. Patrón de plásmidos de cepas tipo de *Bacillus thuringiensis* 313
Figura 5.8. Enfermedad láctea en larvas del escarabajo, *Popillia japonica*, causada por *Paenibacillus popilliae* 314
Figura 5.9. Micrografía de microscopía electrónica de transmisión de *Lysinibacillus sphaericus* 315
Figura 5.10. Vista macroscópica de colonias de *Serratia marcescens*, mostrando su típico pigmento de prodigiosina 316
Figura 5.11. Larvas del escarabajo *Costelytra givenii* 317

Capítulo 6

Hongos entomopatógenos en el control biológico de insectos plaga

Figura 6.1. Facsímil de la portada del libro *Mémoires pour servir à l'histoire des insectes* 338
Figura 6.2. Reproducción de una lámina de la obra de José Torrubia, *Aparato para la historia natural española*, publicada en 1754 339
Figura 6.3. Facsímil de la carátula del libro *Del mal del segno, calcinaccio o moscardino, malattia che affligge i bachide seta* 340
Figura 6.4. Esquema del proceso de infección de un hongo entomopatógeno 342
Figura 6.5. Infecciones características de hongos entomopatógenos 344
Figura 6.6. Control biológico de la broca del café 346
Figura 6.7. Bioplaguicida Lecabiol® para el manejo de poblaciones de *B. tabaci* y *T. vaporariorum* 349

Capítulo 7

Virus entomopatógenos en el control biológico de insectos

Figura 7.1. Extracto de Vida (1527), De Bombyce, libre ii 372

Figura 7.2. Micrografías y representación esquemática de la morfología de los cuerpos de inclusión de los géneros de la familia Baculoviridae: a. Cuerpos de inclusión de nucleopoliedrovirus; b. Cuerpos de inclusión de granulovirus 378
Figura 7.3. Ciclo de infección de los baculovirus 379
Figura 7.4. Larvas muertas por infección con baculovirus en campo 380
Figura 7.5. Daño causado, larvas sanas y larvas con infección viral de *T. solanivora*, *S. frugiperda* y *T. absoluta* 384

Capítulo 8

Las feromonas en el control de insectos

Figura 8.1. Línea de tiempo del desarrollo y uso de las feromonas 416
Figura 8.2. Esquema del sistema olfativo de los insectos 419
Figura 8.3. Esquema que explica la interrupción de cópula mediante el uso de feromonas 422
Figura 8.4. Trampas para la captura masiva de *R. palmarum* 432
Figura 8.5. Trampas de agua con feromonas (tapón naranja) para la captura masiva de *Tuta absoluta* 433
Figura 8.6. Experimentos de interrupción de cópula de *Tecia solanivora* en papa llevados a cabo por Agrosavia 439

Capítulo 9

Uso de depredadores como agentes de control biológico para insectos plaga

Figura 9.1. Control biológico 459
Figura 9.2. Coccinélidos en cultivos de cítricos 462
Figura 9.3. *A. punica*, depredador principal de *C. multicicatrices* 467
Figura 9.4. Control biológico en condiciones de invernadero 472

Capítulo 10

Uso de parasitoides en el control biológico de insectos plaga en Colombia

Figura 10.1. Microhimenópteros parasitarios de huevos de *Erinnyis ello* 508
Figura 10.2. Adultos de *Compsus viridivittatus* 509
Figura 10.3. *Fidiobia* sp. (Hymenoptera: Platygastridae) 511
Figura 10.4. Adultos de moscas taquínidas parasitoides de larvas de *Diatraea saccharalis* 513
Figura 10.5. Adulto de la mosca taquinida nativa *Genea jaynesi* (Rondani) 514
Figura 10.6. *Cotesia flavipes* Cameron (Hymenoptera: Braconidae) 517
Figura 10.7. Adulto de *Tamarixia radiata*, detectando ninfas de *Diaphorina citri* 518
Figura 10.8. Adulto del parasitoide de la broca, *Cephalonomia stephanoderis* 521
Figura 10.9. Larva de II instar de *Hypothenemus hampei*, parasitada por una larva del ectoparasitoide, *Prorops nasuta* 522

Figura 10.10. Brocas perforando fruto de café 523
Figura 10.11. Adulto de *Phymastichus coffea*, parasitando una broca del café, al momento de penetrar en un fruto 524
Figura 10.12. Larva de *Phymastichus coffea* dentro del tórax de un adulto de la broca 525
Figura 10.13. Bandejas con café pergamino seco de agua, utilizado para la cría masiva de broca del café y de sus parasitoides 526

Volumen II

Sección III

Implementación del control biológico

Capítulo 11

Diseño conceptual, selección y prueba de concepto de microorganismos biocontroladores

Figura 11.1. Fases para el desarrollo de un bioplaguicida microbiano 599
Figura 11.2. Ejemplo de bioensayo para seleccionar biocontroladores de patógenos del suelo 604
Figura 11.3. Ejemplo de bioensayo para seleccionar biocontroladores de patógenos foliares 605
Figura 11.4. Ejemplo de bioensayo para seleccionar biocontroladores de patógenos en poscosecha 605
Figura 11.5. Ejemplo de bioensayo para seleccionar hongos entomopatógenos para el control de insectos plaga 606
Figura 11.6. Ejemplo de bioensayo para seleccionar virus entomopatógenos para el control de insectos plaga 607
Figura 11.7. Del aislamiento a la selección de biocontroladores con potencial para el desarrollo de bioplaguicidas 610
Figura 11.8. Diferentes especies de levaduras utilizadas para el control biológico del moho gris producido por *B. cinerea* 614
Figura 11.9. *Trichoderma koningiopsis* seleccionada para el control biológico de patógenos foliares y del suelo 615
Figura 11.10. Selección de un entomopatógeno para el control de las moscas blancas 616
Figura 11.11. Control biológico de la polilla guatemalteca de la papa con baculovirus 616
Figura 11.12. Síntomas del mildeo polvoso de las gramíneas, causado por *B. graminis* en trigo 617
Figura 11.13. Del aislamiento a la selección de potenciales biocontroladores para el control del mildeo polvoso de las gramíneas *B. graminis* 618

Capítulo 12

Desarrollo y escalamiento de bioplaguicidas

Figura 12.1. Etapas para el desarrollo de un bioplaguicida microbiano y duración típica de las etapas de acuerdo con la experiencia de AGROSAVIA en Colombia 633
Figura 12.2. Prototipos de formulación 642
Figura 12.3. Modelo de negocio Canvas 663
Figura 12.4. Esquema de estrategias usadas en la optimización de medios de cultivo 666
Figura 12.5. Biorreactores de tanque agitado (str) usados para la producción de bioplaguicidas 669
Figura 12.6. Estrategia de escalamiento basada en la capacidad de control del sistema 675
Figura 12.7. Etapas típicas para la obtención de un bioplaguicida granulado en piloto 676
Figura 12.8. Productos bioplaguicidas registrados por AGROSAVIA 678

Capítulo 13

Marco regulatorio para el registro de bioplaguicidas

Figura 13.1. Requerimientos generales para el registro de bioplaguicidas a nivel mundial 696
Figura 13.2. Número de bioplaguicidas registrados a nivel mundial 697
Figura 13.3. Lecabiol® es un granulado dispersable para el control de mosca blanca 703
Figura 13.4. Presentación del bioinsecticida Lecabiol® 704

Capítulo 14

Investigación, desarrollo y registro de enemigos naturales para control biológico. Caso: *Phytoseiulus persimilis*

Figura 14.1. Ácaros depredadores 722
Figura 14.2. Fases de producción masiva de ácaros depredadores en plantas de fríjol 724
Figura 14.3. Producción masiva de ácaros plaga 725
Figura 14.4. Producción masiva de ácaros plaga 726
Figura 14.5. Proceso de limpieza y empaque del producto 728
Figura 14.6. Producto final AcariRaptor®, producido y distribuido por Bichopolis, en envases de 60 cc y 100 cc 729
Figura 14.7. Efecto de los ácaros depredadores *P. persimilis* sobre el porcentaje de incidencia del ácaro *T. urticae* en un cultivo de rosa durante el periodo 2010-2017 en la empresa Ságaro Flowers S. A 732
Figura 14.8. Consumo de ingrediente activo en kg/ha al año en la finca de rosas Ságaro Flowers S. A. de la sabana de Bogotá donde se ha implementado el control biológico de ácaros mediante liberaciones periódicas de los depredadores *P. persimilis* 733

Figura 14.9. Porcentaje de costos asociados a las diferentes estrategias de manejo de insectos plagas y de enfermedades en cultivo de rosas en el periodo 2009-2017 733

Capítulo 15

Investigación, desarrollo y escalamiento de feromonas de insectos

Figura 15.1. Esquema simplificado del proceso de investigación y desarrollo de feromonas 746
Figura 15.2. Ejemplos de bioensayos utilizados en el estudio de feromonas 748
Figura 15.3. Métodos de extracción o aislamiento de feromonas 749
Figura 15.4. Cromatografía de gases acoplada a electroantenografía 753
Figura 15.5. Ejemplos de feromonas formuladas 755

Capítulo 16

Comercialización de agentes de control biológico

Figura 16.1. Matriz de oportunidades en el sector de agronegocios 788
Figura 16.2. Marco para analizar el ritmo de la sustitución tecnológica 789

Capítulo 17

El control biológico en un contexto de manejo integrado de enfermedades

Figura 17.1. Principales componentes del manejo integrado de enfermedades 799
Figura 17.2. Suelo saludable con capacidad continua para funcionar como un ecosistema vital que sustenta plantas, animales y humanos 800
Figura 17.3. Interacciones microbianas y su relación con el control biológico de fitopatógenos 803
Figura 17.4. Factores que pueden afectar la actividad de los biocontroladores 810

Capítulo 18

El control biológico en el contexto de un manejo integrado estratégico de insectos plaga

Figura 18.1. Comparación entre el crecimiento en el rendimiento global en cultivos de cereales, frutas y hortalizas y el uso de plaguicidas químicos 827
Figura 18.2. Dinámica de una plaga en la que se muestra la relación entre el umbral de daño económico (UDE) y el umbral económico (UE) 828
Figura 18.3. Relación teórica entre daño y rendimiento de un cultivo 829
Figura 18.4. Ejemplos hipotéticos de planes de muestreo secuencial 831
Figura 18.5. Ejemplo hipotético de un plan de muestreo de intensidad variable 833
Figura 18.6. Ciclo adaptativo de sistemas complejos aplicado al control de plagas en sistemas agrícolas a escala regional 834

Sección IV

El futuro del control biológico

Capítulo 19

Los hongos endófitos en control biológico de fitopatógenos e insectos plaga

Figura 19.1. Efectos de la inoculación de plantas con hongos endófitos 856

Figura 19.2. La emisión de compuestos orgánicos volátiles (VOC) de una planta puede ser modificada por la colonización con hongos endófitos que producen cambios en la comunicación química entre la planta y los demás organismos que interactúan con ella 860

Figura 19.3. Plantas de tomate *Solanum lycopersicum* inoculadas con el endófito *Beauveria bassiana* EABb 04/01-Tip que modificaron la composición de los compuestos orgánicos volátiles emitidos, lo cual aumentó directamente el comportamiento de oviposición de *Helicoverpa armigera* en comparación con plantas no inoculadas o inoculadas con otros endófitos 861

Figura 19.4. Microorganismos endófitos aislados de diferentes órganos de la planta de cacao 864

Capítulo 20

Nuevas estrategias para el control biológico de fitopatógenos

Figura 20.1. Consorcios microbianos y salud vegetal 883

Figura 20.2. Múltiples efectos de los microorganismos biocontroladores 886

Figura 20.3. Equipos comúnmente utilizados en screening de alta eficiencia 888

Figura 20.4. Control biológico de bacterias fitopatógenas con fagos. Ciclo de vida 892

Figura 20.5. Mecanismo general de ARN interferente 907

Capítulo 21

Nuevas estrategias para el control biológico de insectos

Figura 21.1. Microesclerocios de *Beauveria pseudobassiana* 928

Figura 21.2. Esquema de la estrategia de control de insectos plaga mediante ARNi 931

Figura 21.3. Efecto de la combinación de un nucleopoliedrovirus y un granulovirus sobre *Spodoptera frugiperda* 940

Capítulo 22

Las ómicas en el control biológico

Figura 22.1. Flujo de trabajo para secuenciación de ADN y ARN 956

Figura 22.2. Flujo de trabajo para hibridación en microarreglos 958

Figura 22.3. Flujo de trabajo para estudios proteómicos 960

Figura 22.4. Esquema del procesamiento de datos obtenidos mediante secuenciación masiva 962
Figura 22.5. Enfoques holísticos en biología 979

Capítulo 23

Los volátiles microbianos y su potencial en el control biológico de fitopatógenos e insectos

Figura 23.1. Esquema general de la función de los mVOC en el control de patógenos e insectos 993
Figura 23.2. Tipo de bioensayo utilizado para determinar el efecto de los volátiles producidos por el hongo *Fusarium culmorum* sobre el crecimiento de la cebada 995
Figura 23.3. Bioensayo en caja de Petri subdividida para observar el efecto de mVOC sobre el crecimiento de *Cochliobolus sativus* 996

Capítulo 24

Cambio climático, epidemiología vegetal y control biológico de fitopatógenos

Figura 24.1. Sistema agrícola de producción de semilla de papa en los Andes colombianos 1018
Figura 24.2. Sistema de producción de papa completamente cubierto por ceniza volcánica en Tungurahua, Ecuador 1019
Figura 24.3. Vientos fuertes generando una tormenta de arena sobre el Suroeste de los Estados Unidos en agosto del 2015. 1021
Figura 24.4. Síntomas típicos de la fusariosis de la espiga del trigo o FHB 1022
Figura 24.5. Campo de trigo con los síntomas típicos de la fusariosis de la espiga del trigo o FHB, durante la epidemia ocurrida en el estado de Nebraska, EE. UU., entre el 2007 y el 2010 1023
Figura 24.6. Cultivo de papa en los Andes ecuatorianos con síntomas de virus 1024

Capítulo 25

Cambio climático y control biológico de insectos: visión y perspectiva de la situación

Figura 25.1. Adulto de la langosta llanera *Rhammatocerus schistocercoides* Rehn 1042
Figura 25.2. Pastos nativos de los llanos orientales invadidos por brotes poblacionales de la langosta llanera *R. schistocercoides* 1044
Figura 25.3. Ninfa de *R. schistocercoides* afectada por el entomopatógeno *M. anisopliae* 1045
Figura 25.4. Ubicación del área de estudio 1046
Figura 25.5. Relación de áreas climáticamente adecuadas de *Hypothenemus hampei* en la Sierra Nevada de Santa Marta. 1048
Figura 25.6. Relación de áreas climáticamente adecuadas de *Hypothenemus hampei* en la región central de la zona cafetera 1049

Lista de tablas

Volumen 1

Sección I

Control biológico de enfermedades vegetales

Capítulo 1

Control biológico de patógenos foliares

Tabla 1.1. Hábitats microbianos filosféricos asociados a las plantas 73

Tabla 1.2. Principales virus atenuados usados para la protección cruzada en plantas 91

Tabla 1.3. Microorganismos utilizados como principios activos de bioplaguicidas, recomendados para el control de patógenos foliares que presentan registro en la Unión Europea (UE) y en Estados Unidos (EE. UU.) 115

Capítulo 2

Control biológico de fitopatógenos del suelo

Tabla 2.1. Compuestos orgánicos y enzimas liberadas por las plantas en los exudados de la raíz y su función en la rizosfera 154

Tabla 2.2. Microorganismos como ingredientes activos de bioplaguicidas para el control de patógenos del suelo que presentan registro en Europa (UE) y en Estados Unidos de América (EE. UU.) 178

Tabla 2.3. Microorganismos biocontroladores registrados en Colombia como bioplaguicidas para el control de patógenos del suelo 183

Tabla 2.4. Bioplaguicidas registrados en Brasil en junio de 2017 y biofungicidas recomendados para el control de *Sclerotinia sclerotiorum* 189

Capítulo 3

Control biológico de patógenos en poscosecha

Tabla 3.1. Microorganismos antagonistas utilizados para el control de enfermedades poscosecha en hortalizas, raíces y tubérculos 232

Tabla 3.2. Ejemplo de biofungicidas registrados para el control de patógenos poscosecha 243

Sección II
Control biológico de insectos plagas

Capítulo 5
Bacterias entomopatógenas en el control biológico de insectos

Tabla 5.1. Efecto de las familias de toxinas Cry sobre órdenes de insectos 306
Tabla 5.2. Serovariedades de *Bacillus thuringiensis* conocidas hasta la fecha 309
Tabla 5.3. Limitaciones de la serotipificación de cepas de *B. thuringiensis* conocidas hasta la fecha 310
Tabla 5.4. Productos a base de *Bacillus thuringiensis* registrados en Colombia 323

Capítulo 6
Hongos entomopatógenos en el control biológico de insectos plaga

Tabla 6 .1. Bioplaguicidas a base de hongos entomopatógenos para el control de insectos plaga registrados en diversos países 345
Tabla 6.2. Frecuencias de aplicación de *L. lecanii* en cultivos de algodón y berenjena en la costa atlántica y en el interior de Colombia 351
Tabla 6.3. Evaluación de parcelas MIC y convencionales en cultivos de algodón y berenjena en la costa atlántica y en el interior del país 352
Tabla 6.4. Bioplaguicidas producidos en Colombia para el control de insectos 354
Tabla 6.5. Vida útil y recomendaciones de almacenamiento de algunos bioplaguicidas comerciales a base de hongos entomopatógenos 358

Capítulo 7
Virus entomopatógenos en el control biológico de insectos

Tabla 7.1. Características de las principales familias y géneros de los virus entomopatógenos 374
Tabla 7.2. Ejemplo de productos a base de baculovirus registrados y comercializados a nivel mundial 389
Tabla 7.3. Principales factores ambientales que afectan la persistencia viral 393

Tabla 7.4. Persistencia de algunas especies de baculovirus expuestos a la radiación solar 395

Tabla 7.5. Etapas en el proceso de producción masiva de virus entomopatógenos 396

Capítulo 8

Las feromonas en el control de insectos

Tabla 8.1. Ejemplos de las feromonas estudiadas a nivel mundial como atracticidas de insectos 424

Tabla 8.2. Ejemplo de feromonas estudiadas a nivel mundial para captura masiva de insectos 426

Tabla 8.3. Ejemplo de feromonas estudiadas a nivel mundial para interrupción de la cópula de insectos 428

Tabla 8.4. Ejemplos de productos a base de feromonas disponibles en el mercado internacional y sus aplicaciones 440

Tabla 8.5. Listado de feromonas sintéticas registradas en Colombia para su uso en agricultura convencional y ecológica 441

Capítulo 9

Uso de depredadores como agentes de control biológico para insectos plaga

Tabla 9.1. Características de las introducciones a África de las especies de fitoseídos provenientes de Colombia entre 1983 y 1990 470

Capítulo 10

Uso de parasitoides en el control biológico de insectos plaga en Colombia

Tabla 10.1. Artículos publicados en la Revista Colombiana de Entomología sobre agentes de control biológico entre 1975 y 2016 489

Tabla 10.2. Producción comercial de parasitoides en Colombia 490

Tabla 10.3. Especies de parasitoides (Hymenoptera) de moscas blancas reportadas en Colombia 496

Tabla 10.4. Listado de parasitoides de moscas de las frutas en Colombia 500

Tabla 10.5. Especies de parasitoides de moscas de la fruta y frutales asociados en Colombia 502

Tabla 10.6. Parasitoides exóticos de las moscas de las frutas (Diptera: Tephritidae) liberados en las plantaciones guayaberas de las fincas El Recuerdo, Las Lechuzas y Monterrey (Guavatá, Santander), durante 1984-1985 506

Volumen II

Sección III

Implementación del control biológico

Capítulo 12

Desarrollo y escalamiento de bioplaguicidas

Tabla 12.1. Función de los excipientes utilizados en la elaboración de bioplaguicidas 644
Tabla 12.2. Estudios de preformulación y formulación en el desarrollo de bioplaguicidas a base de entomopatógenos 646
Tabla 12.3. Bioplaguicidas desarrollados por Corpoica 648
Tabla 12.4. Trabajos registrados en la literatura en los que se evalúa la compatibilidad de un microorganismo biocontrolador con agroquímicos 652
Tabla 12.5. Resumen de diseños de experimentos y técnicas de optimización utilizadas en el desarrollo de medios de cultivo para ingredientes activos de bioplaguicidas 668

Capítulo 13

Marco regulatorio para el registro de bioplaguicidas

Tabla 13.1. Diferencias entre Estados Unidos y la Unión Europea en el marco regulatorio para el registro de bioplaguicidas 699
Tabla 13.2. Número de bioproductos registrados y disponibles en varios países de Asia 702
Tabla 13.3. Marco regulatorio para el registro de bioplaguicidas en Colombia 703

Capítulo 14

Investigación, desarrollo y registro de enemigos naturales para control biológico.

Caso: *Phytoseiulus persimilis*

Tabla 14.1. Comparación de ciclos de vida en días de *T. urticae* y *P. persimilis* a 20 °C 723
Tabla 14.2. Escala para la determinación de la incidencia de *T. urticae* en cultivos de ornamentales 729

Tabla 14.3. Comparativo de métodos de producción masiva de ácaros depredadores en la sabana de Bogotá 730

Tabla 14.4. Empresas dedicadas a la producción o la importación de enemigos naturales en Colombia registradas ante el Instituto Colombiano Agropecuario 737

Capítulo 16

Comercialización de agentes de control biológico

Tabla 16.1. Adquisiciones, alianzas y fusiones de empresas externas en Brasil 771

Tabla 16.2. Empresas líderes en el mercado de bioplaguicidas y sus ofertas 774

Sección IV

El futuro del control biológico

Capítulo 19

Los hongos endófitos en control biológico de fitopatógenos e insectos plaga

Tabla 19.1. Factores que se deben tener en cuenta para que un microorganismo endófito sea comercialmente exitoso 865

Capítulo 20

Nuevas estrategias para el control biológico de fitopatógenos

Tabla 20.1. Ejemplos de fagos usados para el control biológico de bacterias fitopatógenas 894

Tabla 20.2. Ejemplo de elicitores bióticos de uso común 903

Capítulo 22

Las ómicas en el control biológico

Tabla 22.1. Tecnologías de secuenciación de segunda y tercera generación 961

Tabla 22.2. Bases de datos de genómica, transcriptómica, proteómica y metabolómica 963

Los autores

Adriana Marcela Santos Díaz

Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA), Centro de Investigación Tibaitatá, kilómetro 14, vía Mosquera-Bogotá, Cundinamarca, Colombia. Correo electrónico: asantos@agrosavia.co

Alba Marina Cotes Prado

Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA), Centro de Investigación Tibaitatá, kilómetro 14, vía Mosquera-Bogotá, Cundinamarca, Colombia. Investigadora emérita AGROSAVIA y consultora independiente en control biológico. Correo electrónico: amcotes@agrosavia.co y cotesprado@yahoo.com

Alejandro Caro Quintero

Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA), Centro de Investigación Tibaitatá, kilómetro 14, vía Mosquera-Bogotá, Cundinamarca, Colombia. Correo electrónico: acaro@agrosavia.co

Alex Enrique Bustillo Pardey

Centro Nacional de Investigación de Palma de Aceite (Cenipalma), Bogotá, Colombia. Correo electrónico: abustillo@cenipalma.org

Alexander Escobar

Bichopolis, vía a Chía por Lourdes, Tabio, Cundinamarca, Colombia. Correo electrónico: alex@bichopolis.com

Alicia Balbin

Julius Kühn-Institut, University of Braunschweig, Alemania. Erwin-Baur-Str. 27 06484 Quedlinburg. Correo electrónico: alicia.balbin@julius-kuehn.de

Andrés Díaz García

Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA), Centro de Investigación Tibaitatá, kilómetro 14, vía Mosquera-Bogotá, Cundinamarca, Colombia. Correo electrónico: adiaz@agrosavia.co

Ángela María Arcila Cardona

Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA), Centro de Investigación Caribia, corregimiento de Sevilla, municipio Zona Bananera, departamento del Magdalena, a 65 km al sur de la capital de Santa Marta, Colombia. Correo electrónico: aarcila@agrosavia.co

Arturo Carabalí Muñoz

Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA), Centro de Investigación Palmira, diagonal a la intersección de la carrera 36A con calle 23, Palmira, Valle del Cauca, Colombia. Correo electrónico: acarabali@agrosavia.co

Aymer Andrés Vásquez Ordóñez

Universidad del Valle, calle 13 N.º 100-00, Santiago de Cali, Colombia.
Correo electrónico: ayanvaor@gmail.com

Bernhard Leo Lohr

Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA), Centro de Investigación Palmira, diagonal a la intersección de la carrera 36A con calle 23, Palmira, Valle del Cauca, Colombia. Correo electrónico: blohr@agrosavia.co

Cam Oehlschlager

ChemTica Internacional, Heredia, Costa Rica. Correo electrónico: cam@chemtica.com

Camilo Rubén Beltrán Acosta

Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA), Centro de Investigación Tibaitatá, kilómetro 14, vía Mosquera-Bogotá, Cundinamarca, Colombia.
Correo electrónico: cbeltran@agrosavia.co

Carlos Andrés Moreno Velandia

Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA), Centro de Investigación Tibaitatá, kilómetro 14, vía Mosquera-Bogotá, Cundinamarca, Colombia.
Correo electrónico: cmoreno@agrosavia.co

Carlos Espinel Correal

Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA), Centro de Investigación Tibaitatá, kilómetro 14, vía Mosquera-Bogotá, Cundinamarca, Colombia.
Correo electrónico: cespinel@agrosavia.co

Carolina González Almario

Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA), Centro de Investigación Tibaitatá, kilómetro 14, vía Mosquera-Bogotá, Cundinamarca, Colombia.
Correo electrónico: cgonzaleza@agrosavia.co

Caroline de Clerck

Integrated and Urban Plant Pathology Unit, Gembloux Agro-Bio Tech, Université de Liège, Passage des Déportés 2, 5030 Gembloux, Bélgica. Correo electrónico: caroline.declerck@ulg.ac.be

Casey W. Hoy

Departamento de Entomología. The Ohio State University, Ohio Agricultural Research and Development Center (OARDC), 1680 Madison Ave Wooster, OH 44691, USA.
Correo electrónico: hoy.1@osu.edu

Consuelo Alexandra Narváez Vásquez

Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA), Centro de Investigación El Mira, kilómetro 38, vía Tumaco-Pasto, Nariño, Colombia.
Correo electrónico: canarvaez@agrosavia.co

Diana Marcela León

Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA), Centro de Investigación Tibaitatá, kilómetro 14, vía Mosquera-Bogotá, Cundinamarca, Colombia.
Correo electrónico: dmleon@agrosavia.co

Diego Fernando Rincón

Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA), Centro de Investigación Tibaitatá, kilómetro 14, vía Mosquera-Bogotá, Cundinamarca, Colombia.
Correo electrónico: drincon@agrosavia.co

Eduardo María Espitia Malagón

Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA), Centro de Investigación Tibaitatá, kilómetro 14, vía Mosquera-Bogotá, Cundinamarca, Colombia.
Correo electrónico: eespitia@agrosavia.co

Érika Andrea Alarcón Torres

Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA), Centro de Investigación Tibaitatá, kilómetro 14, vía Mosquera-Bogotá, Cundinamarca, Colombia.
Correo electrónico: ealarcon@agrosavia.co

Érika Paola Grijalba

Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA), Centro de Investigación Tibaitatá, kilómetro 14, vía Mosquera-Bogotá, Cundinamarca, Colombia.
Correo electrónico: egrijalba@agrosavia.co

Fabiola Moreno

Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), kilómetro 14, vía Mosquera-Bogotá, Cundinamarca, Colombia. Correo electrónico: fabiola.moreno@ica.gov.co

Felipe Borrero Echeverry

Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA), Centro de Investigación Tibaitatá, kilómetro 14, vía Mosquera-Bogotá, Cundinamarca, Colombia.
Correo electrónico: fborrero@agrosavia.co

Fredy Mauricio Cruz Barrera

Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA), Centro de Investigación Tibaitatá, kilómetro 14, vía Mosquera-Bogotá, Cundinamarca, Colombia.
Correo electrónico: fcruz@agrosavia.co

Gabriele Berg

Institute of Environmental Biotechnology, Graz University of Technology, Rechbauerstraße 12, 8010 Graz, Austria. Correo electrónico: gabriele.berg@tugraz.at

Germán Vargas

Centro Nacional de Investigación de la Caña de Azúcar (Cenicaña), área de Entomología, vía Cali-Florida kilómetro 26, Valle del Cauca, Colombia. Correo electrónico: gavargas@cenicana.org

Gloria Patricia Barrera Cubillos

Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA), Centro de Investigación Tibaitatá, kilómetro 14, vía Mosquera-Bogotá, Cundinamarca, Colombia.
Correo electrónico: gbarrera@agrosavia.co

Guillermo Adolfo León Martínez

Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA), Centro de Investigación La Libertad, kilómetro 17, vía Puerto López, Meta. Colombia. Correo electrónico: gleon@agrosavia.co

Guillermo González F.

La Reina. Nocedal 6455, Santiago, Chile. Correo electrónico: willogonzalez@yahoo.com

Haissam Jijakli

Integrated and Urban Plant Pathology Unit, Gembloux Agro-Bio Tech, Université de Liège, Passage des Déportés 2, 5030 Gembloux, Bélgica. Correo electrónico: mh.jijakli@ulg.ac.be

Hugo Fernando Rivera Trujillo

Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA), Centro de Investigación Tibaitatá, kilómetro 14, vía Mosquera-Bogotá, Cundinamarca, Colombia.
Correo electrónico: hrivera@agrosavia.co

John Fredy Hernández Nopsa

Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA), Centro de Investigación Tibaitatá, kilómetro 14, vía Mosquera-Bogotá, Cundinamarca, Colombia.
Correo electrónico: jhernandezn@agrosavia.co

Jorge Ibarra

Laboratorio de Bioinsecticidas Cinvestav, Mexico Av. Instituto Politécnico Nacional 2508, Gustavo A. Madero, San Pedro Zacatenco, 07360 Ciudad de México, México. Correo electrónico: jibarra@ira.cinvestav.mx

Juan Luis Jurat Fuentes

Department of Entomology and Plant Pathology, University of Tennessee, Knoxville, Tennessee 37996, USA. Correo electrónico: jurat@utk.edu

Juliana Andrea Gómez Valderrama

Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA), Centro de Investigación Tibaitatá, km. 14, vía Mosquera-Bogotá, Cundinamarca, Colombia. Correo electrónico: jagomez@agrosavia.co

Jürgen Köhl

Research Institute for Plant Protection, Wageningen UR–Plant Research International, Holanda. PB 9101, 6700 HB Wageningen. Correo electrónico: jurgen.kohl@wur.nl

Kornelia Smalla

Julius Kühn-Institut, University of Braunschweig, Alemania. Pockelsstraße 14, neu: Universitätsplatz 2, 38106, Braunschweig. Correo electrónico: kornelia.smalla@julius-kuehn.de

Laura Fernanda Villamizar

AgResearch Ltd. Lincoln Science Centre, Lincoln Science Centre, Christchurch 8140, Nueva Zelanda. Correo electrónico: laurafernandav@yahoo.es y laura.villamizar@agresearch.co.nz

Leonardo Solorzano Buitrago

Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA), Centro de Investigación Tibaitatá, km. 14, vía Mosquera-Bogotá, Cundinamarca, Colombia. Correo electrónico: lsolorzano@agrosavia.co

Lissette Aracely Torres Torres

Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA), Centro de Investigación Tibaitatá, km. 14, vía Mosquera-Bogotá, Cundinamarca, Colombia. Correo electrónico: latorres@agrosavia.co

Liz Alejandra Uribe Gutiérrez

Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA), Centro de Investigación Tibaitatá, kilómetro 14, vía Mosquera-Bogotá, Cundinamarca, Colombia.
Correo electrónico: luribe@agrosavia.co

Luz Astrid Pulido

Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), A.A. 6713, Cali, Valle del Cauca, Colombia. Correo electrónico: astrid.pulido@catie.ac.cr

Manuel Ricardo Pérez

Department of Entomology, Cornell University, Ithaca, Nueva York 14850, USA.
Correo electrónico: mrp245@cornell.edu; ricardo_perez_alvarez@yahoo.com

María del Rosario Manzano Martínez

Departamento de Ciencias Agrícolas, Universidad Nacional, Departamento de Ciencias Agrícolas, Palmira, Valle del Cauca, Colombia. Correo electrónico: mrmanzanom@unal.edu.co

María Fernanda Díaz Niño

Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), Oficinas Nacionales, carrera 41, #17-81, Bogotá, Colombia. Correo electrónico: mfdiazn@gmail.com; maria.diazn@ica.gov.co

María Isabel Gómez-Jiménez

Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), A.A. 6713, Cali, Valle del Cauca, Colombia. Correo electrónico: m.i.gomez@cgiar.org

María Victoria Zuluaga Mogollón

Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA), Centro de Investigación Tibaitatá, kilómetro 14, vía Mosquera-Bogotá, Cundinamarca, Colombia. Correo electrónico: mzuluaga@agrosavia.co

Mariano Nicolás Belaich

Universidad Nacional de Quilmes, Roque Sáenz Peña 352, B1876BXD Bernal, Buenos Aires, Argentina. Correo electrónico: mbelaich@unq.edu.ar; mnbelaich@gmail.com

Mark Hurst

AgResearch Ltd. Lincoln Science Centre, Lincoln Science Centre, Christchurch 8140, Nueva Zealanda. Correo electrónico: mark.hurst@agresearch.co.nz.

Martha Isabel Gómez Álvarez

Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA), Centro de Investigación Tibaitatá, km. 14, vía Mosquera-Bogotá, Cundinamarca, Colombia. Correo electrónico: mgomeza@agrosavia.co

Martha Liliana Rodríguez

Consultora en control biológico. Cajicá, Cundinamarca, Colombia.
Correo electrónico: lilianarodriguezc@gmail.com

Michael Wisniewski

USDA-ARS, Appalachian Fruit Research Station, 2217 Wiltshire road, USA. Correo electrónico: michael.wisniewski@ars.usda.gov

Miguel López Ferber

Laboratory of Industrial Environment Engineering, Ecole des Mines d'Alès, 6, Av de Clavières. 30319 Alès, Francia. Correo electrónico: miguel.lopez-ferber@mines-ales.fr

Nancy del Carmen Barreto Triana

Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA), Centro de Investigación Tibaitatá, km. 14, vía Mosquera-Bogotá, Cundinamarca, Colombia. Correo electrónico: nbarreto@agrosavia.co

Pablo Daniel Ghiringhelli

Universidad Nacional de Quilmes, Roque Sáenz Peña 352, B1876BXD Bernal, Buenos Aires, Argentina. Correo electrónico: pdghiringhelli@gmail.com

Paola Emilia Cuartas

Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA), Centro de Investigación Tibaitatá, km. 14, vía Mosquera-Bogotá, Cundinamarca, Colombia. Correo electrónico: pcuartas@agrosavia.co

Ruth Análida Betancourt

Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), kilómetro 14, vía Mosquera-Bogotá, Cundinamarca, Colombia. Correo electrónico: ruth.betancourt@ica.gov.co

Sadao Kobayashi

Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA), Centro de Investigación Tibaitatá, km. 14, vía Mosquera-Bogotá, Cundinamarca, Colombia. Correo electrónico: skobayashi@agrosavia.co

Sandra Milena Aragón Rodríguez

Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA), Centro de Investigación Tibaitatá, kilómetro 14, vía Mosquera-Bogotá, Cundinamarca, Colombia. Correo electrónico: saragon@agrosavia.co

Sébastien Massart

Integrated and Urban Plant Pathology Unit, Gembloux Agro-Bio Tech, Université de Liège, Passage des Déportés 2, 5030 Gembloux, Bélgica. Correo electrónico: sebastien.massart@ulg.ac.be

Stephen Lewis Mosher

Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA), Centro de Investigación Tibaitatá, kilómetro 14, vía Mosquera-Bogotá, Cundinamarca, Colombia. Correo electrónico: stephen.mosher@hotmail.com

Takumasa Kondo

Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA), Centro de Investigación Palmira, diagonal a la intersección de la carrera 36A con calle 23, Palmira, Valle del Cauca, Colombia. Correo electrónico: tkondo@agrosavia.co

Trevor Jackson

AgResearch, Lincoln Research Centre, Bio-Protection Research Centre, 1365 Springs Rd, Lincoln 7674, Nueva Zelanda. Correo electrónico: trevor.jackson@agresearch.co.nz

Wagner Bettiol

Embrapa Meio Ambiente, Rodovia SP-340, Km 127,5, Tanquinho Velho Caixa Postal 69, Brasil. Correo electrónico: wagner.bettiol@embrapa.br

Xavier Fargetton

Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA), Centro de Investigación Tibaitatá, kilómetro 14, vía Mosquera-Bogotá, Cundinamarca, Colombia. Correo electrónico: xfargetton@agrosavia.co

Yigal Elad

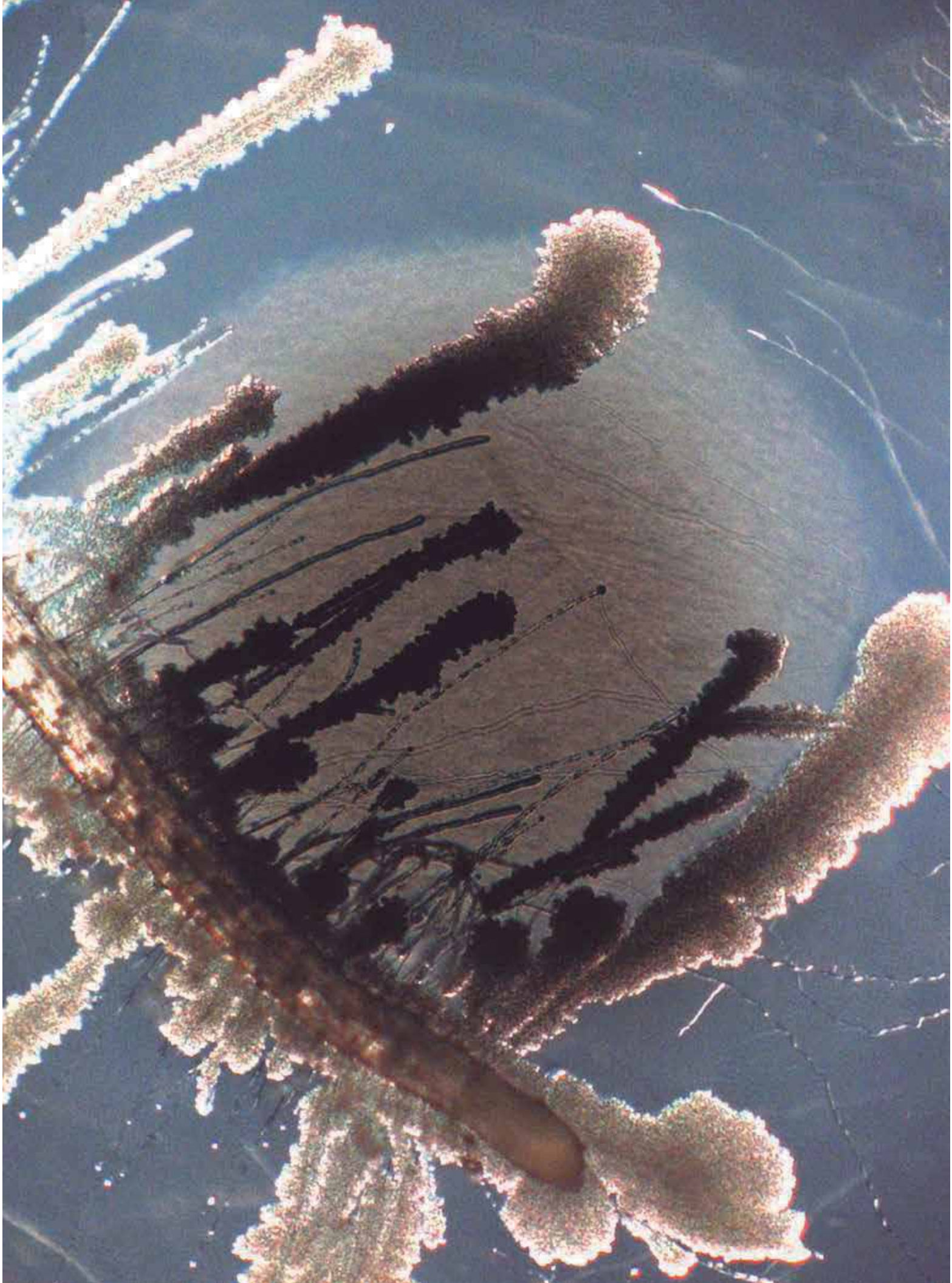
Institute of Plant Protection, The Volcani Center, Derech HaMaccabim 68, Rishon LeTsiyon, Israel. Correo electrónico: elady@volcani.agri.gov.il

Yimmy Alexander Zapata Narváez

Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA), Centro de Investigación Tibaitatá, kilómetro 14, vía Mosquera-Bogotá, Cundinamarca, Colombia. Correo electrónico: jzapatan@agrosavia.co

Yohana Alexandra Martínez

Bichopolis, vía a Chía por Lourdes, Tabio, Cundinamarca, Colombia. Correo electrónico: bichopolis@bichopolis.com



Agradecimientos

Ante todo, les agradezco a mi esposo y a mi madre, quienes siempre me han acompañado y dado fuerzas para nunca desfallecer ante los retos que me he impuesto durante mi desarrollo profesional. También agradezco a mis mentores, la doctora Elizabeth Grose (q. e. p. d.) de la Universidad de los Andes, los profesores Jean Semal y Philippe Lepoivre de Gemblox Agrobiotec, de la Universidad de Lieja, por haberme dado la oportunidad de explorar los maravillosos mundos de la microbiología, la fitopatología y el control biológico. Asimismo, le agradezco al doctor Aristóbulo López, quien fue mi primer jefe en Corpoica (hoy AGROSAVIA), por haber sido un facilitador que siempre me estimuló y apoyó para que yo pudiera consolidar mi trabajo en control biológico.

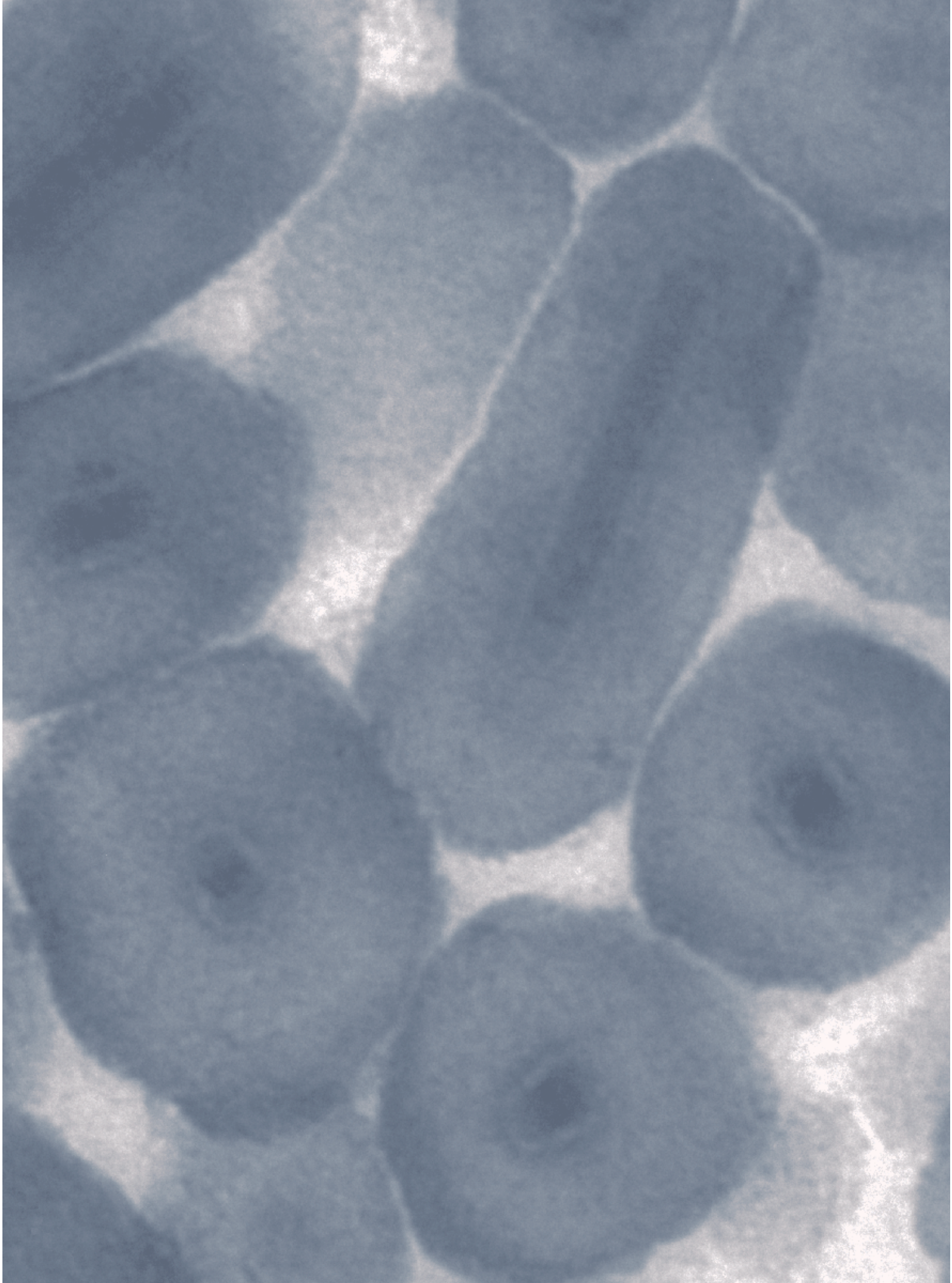
Les expreso mi profundo reconocimiento a todos los autores de este libro, por su generosidad y valiosas contribuciones, sin las cuales esta obra no hubiera sido una realidad. Además, la mayoría de ellos han sido aliados de investigación por muchos años y nos han acompañado en el logro de muchos de los resultados aquí presentados. También agradezco a los investigadores, estudiantes y asistentes que han hecho parte del Grupo de Control Biológico de Corpoica (hoy AGROSAVIA), pues gracias a su trabajo, pasión y rigor alcanzamos importantes avances de investigación y estrategias de trabajo que aquí se mencionan.

Expreso mi gratitud a nuestros aliados de investigación por muchos años, a los profesores Joseph Kloepper, de la Universidad de Auburn, y Marc Ongena, de Gemblox Agrobiotec, Universidad de Lieja, quienes le han hecho valiosos aportes al grupo en el uso y estudio de *Bacillus* spp. para el control de fitopatógenos; al profesor Peter Witzgall, de la Universidad de Ciencias Agrícolas de Suecia, porque gracias a él logramos consolidar un área de trabajo de Ecología química en nuestra entidad. Extiendo igualmente mis agradecimientos a los investigadores Xavier Léry y Jean Louis Zeddam, del IRD, y a Fernando Valicente, de Embrapa, por habernos introducido y acompañado en el fascinante mundo de los Baculovirus, ya que sin su apoyo muchos de los logros aquí mencionados no hubieran sido posibles.

Este libro no hubiera sido posible sin el apoyo irrestricto e incesante trabajo de Liliana Elvira Gaona, editora de publicaciones de AGROSAVIA, y de mis dos asistentes de edición, Christian David Vargas y Víctor Camilo Pulido, quienes dedicaron días y noches durante 18 meses para que esta obra fuera posible. También le agradezco a los demás miembros del equipo editorial de AGROSAVIA, en particular a Astrid Verónica Bermúdez, y al equipo de comunicaciones, quienes siempre estuvieron acompañándonos y prestos a responder cualquier requerimiento. Hago especial mención a los revisores, los profesores Patricia Chacón, Enrique Torres y Elkin Bustamante, por sus valiosos aportes, comentarios y críticas constructivas. Asimismo, agradezco a todos los correctores de estilo, a los responsables del diseño, María Cristina Rueda Traslaviña y Wilson Martínez Montoya, y a Nana Kobayashi por haber suministrado generosamente sus valiosas pinturas para darle un toque artístico a este libro.

Por último, pero no menos importante, expreso mi profunda gratitud a nuestro director ejecutivo, Juan Lucas Restrepo, por su respaldo incondicional a esta obra.

Alba Marina Cotes
Editora



Prólogo

Hace un par de años, me senté a conversar con Alba Marina Cotes, la inspiradora y editora científica de este libro. Hablamos sobre su experiencia en Corpoica, acrónimo que recientemente cambiamos por AGROSAVIA, luego de 23 años de trabajo en investigación y desarrollo en el área de control biológico, y sobre la inminencia del cierre de su ciclo laboral en la Corporación.

Nuestra conversación llegó a un par de conclusiones relevantes para esta obra. La primera fue que, durante casi un cuarto de siglo, la Corporación había logrado desarrollar una plataforma robusta de investigación, desarrollo e innovación en control biológico, ejerciendo un liderazgo en Colombia y construyendo una red importante de aliados y relaciones colaborativas en esta materia en el ámbito nacional e internacional.

La segunda conclusión fue que, a pesar de haber logrado resultados importantes y un número significativo de publicaciones en la materia, no existía un compendio que cubriera todo el ámbito del control biológico (fitopatógenos, insectos y ácaros), ni en Colombia ni a nivel internacional, que integrara la experiencia acumulada, el estado del arte, el uso y el espacio futuro del control biológico en los sistemas de producción agrícolas.

Decidimos, entonces, con el liderazgo de la doctora Cotes, emprender una ruta de trabajo para hacer este libro realidad. Logramos integrar una visión compartida y el aporte intelectual con sus 71 autores, la mitad de ellos miembros de nuestra comunidad y el resto provenientes de entidades nacionales e internacionales referentes en la materia.

El resultado es muy positivo. Logramos una obra inédita que con seguridad será material de referencia obligatorio no solo para la comunidad científica y académica, sino también para soportar el trabajo en el campo de parte de muchos profesionales y el soporte para la toma de decisiones de política cuando se piense en promover este campo tan estratégico.

La agricultura mundial enfrenta enormes retos para incrementar la productividad, apalancándose en modelos que protejan los recursos naturales y que promuevan una mayor diversidad en los ecosistemas. Auguro que el control biológico, impulsado cada vez más por nuevo conocimiento científico y tecnológico, será una herramienta central en este propósito. Asimismo, auguro que este libro será, por muchos años, el material de referencia más importante del que se dispondrá como apoyo en esta dirección.

Como parte de nuestros 25 años de vida y con el fin de proyectarnos mejor a futuro, nos transformamos en AGROSAVIA, buscando conectarnos más efectivamente con nuestros distintos públicos. Este libro es nuestro primer regalo editorial de la nueva Corporación para la agricultura colombiana y del mundo.

JUAN LUCAS RESTREPO
Director Ejecutivo AGROSAVIA

Prefacio

El control biológico de plagas agrícolas (fitopatógenos, insectos y ácaros) es un campo de la ciencia bien establecido y de rápida evolución. Sin embargo, pese a sus increíbles éxitos en todo el mundo y al incremento en su utilización en los últimos años, sigue siendo subutilizado, aunque representa la mejor opción para proporcionar medios duraderos, ambientalmente sanos y socialmente aceptables para el control de plagas. Esto significa que tanto en el ámbito científico como en su implementación hay un gran potencial por explotar en beneficio de los muchos retos relacionados con los problemas fitosanitarios que afectan la agricultura, y se considera que este es un momento oportuno para resumir los avances, tanto internacionales como propios, en la materia.

Con el objeto de aportar a los desarrollos en este tema, la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (antes Corpoica, hoy AGROSAVIA) creó en abril de 1994 el Grupo de Investigación en Control Biológico de Plagas Agrícolas (insectos y fitopatógenos), cuyo objetivo fue desarrollar bioplaguicidas microbianos, para lo cual definió una estrategia de trabajo que permitió el descubrimiento, el desarrollo, el registro y la producción a escala piloto de diferentes bioplaguicidas. Simultáneamente, otros grupos de la misma institución iniciaron su trabajo para el descubrimiento, la cría y la evaluación de insectos benéficos (parasitoides y depredadores), cuyas experiencias y resultados se ilustran en este compendio.

El presente libro recoge los desarrollos más relevantes a nivel mundial, las experiencias de Corpoica (hoy AGROSAVIA) y el trabajo de décadas de los coautores nacionales e internacionales que hacen parte del mismo. La documentación sobre los avances y las perspectivas en la materia tiene la intención de acelerar los nuevos desarrollos en aspectos aún no estudiados del control biológico y estimular el progreso en su implementación. Incluye una introducción y 25 capítulos (figura 1) organizados en cuatro secciones: la sección I está estructurada en cuatro capítulos relacionados con los aspectos básicos del "Control biológico de enfermedades vegetales"; seis capítulos constituyen la sección II, dedicada al "Control biológico de insectos y ácaros plagas"; la sección III comprende ocho capítulos relacionados con la "Implementación del control biológico", y los siete capítulos que constituyen la sección IV están dedicados a las reflexiones y recomendaciones de los autores sobre "El futuro del control biológico".

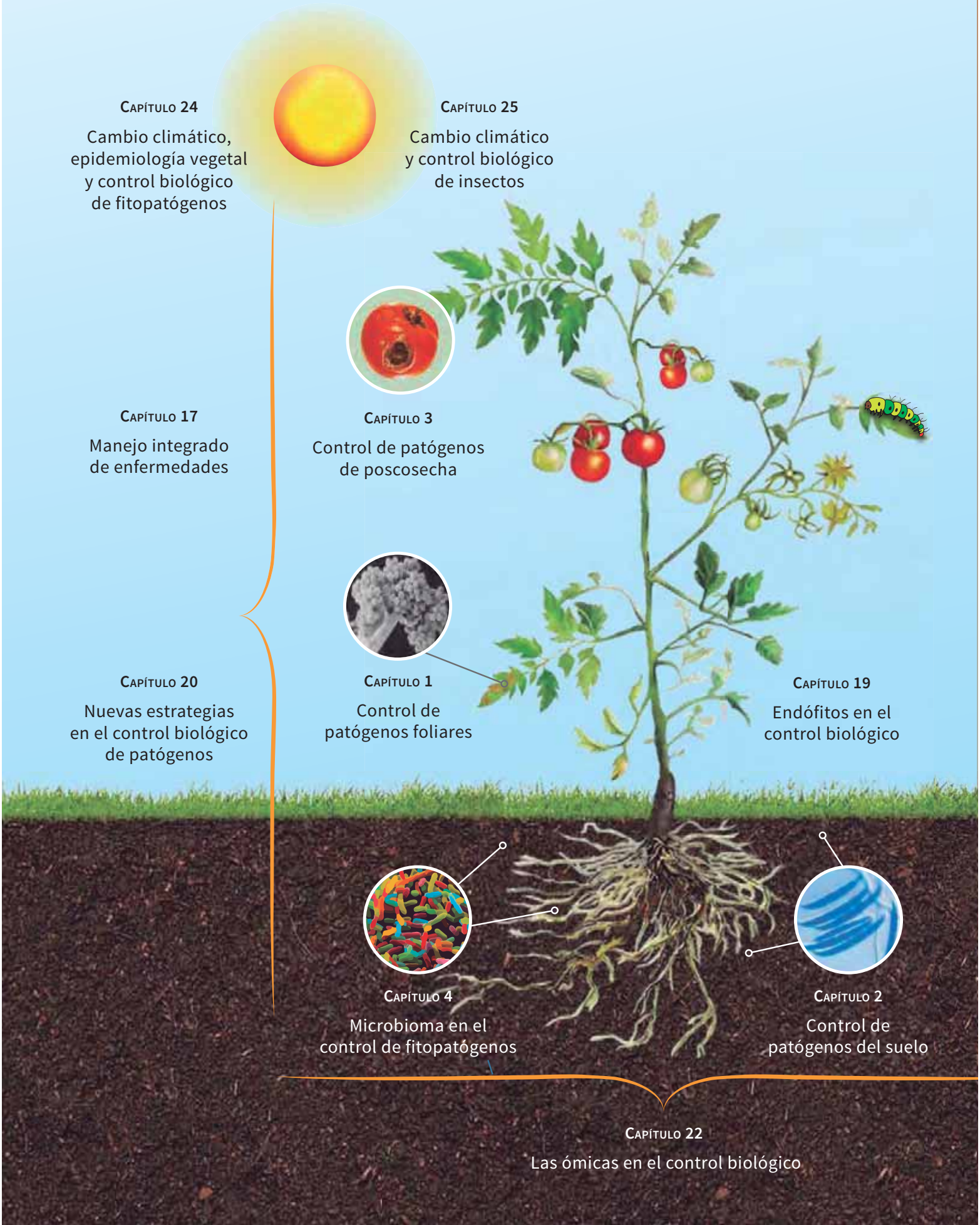
La información en esta obra representa una extensa búsqueda bibliográfica (más de 4.000 referencias) y su intención es proporcionar un conocimiento exhaustivo que recoge el trabajo de 71 autores: de ellos, 38 son investigadores de AGROSAVIA y 33 son externos. De estos últimos, 11 autores pertenecen a entidades nacionales tales como universidades, centros de investigación y agencias del Estado,

y 23 están vinculados a diferentes entidades internacionales, representadas por universidades, centros de investigación y empresas de Alemania, Argentina, Austria, Bélgica, Brasil, Chile, Costa Rica, Estados Unidos, Francia, Holanda, Israel, México y Nueva Zelanda. La mayoría de los autores externos han sido aliados de investigación de Corpoica (hoy AGROSAVIA) por muchos años.

La comprensión de los aspectos científicos, tecnológicos y del mercado del control biológico, visto como un componente fundamental del manejo integrado de plagas agrícolas, es la base para el desarrollo de estrategias de protección de cultivos respetuosas con el medio ambiente, con la salud humana, con la salud animal y eficaces para el control de estas, no solo en Colombia, sino a nivel mundial. Este libro está dirigido a fitopatólogos, entomólogos, agrónomos, biólogos, microbiólogos, ingenieros bioquímicos, químicos farmacéuticos expertos en formulación, biólogos moleculares, ingenieros ambientales y expertos en bionegocios, entre otros, que pertenezcan a las comunidades científica y académica. Además, se trata de una obra de consulta para los asistentes técnicos, los agricultores, los funcionarios públicos, los legisladores y el público en general, interesados en conocer, reglamentar o implementar prácticas de control biológico en los diferentes sistemas de producción. Este trabajo colectivo tuvo como motivación principal la esperanza de que cada uno, desde su área de conocimiento, pueda aportar para hacer del país y del mundo un lugar más seguro y saludable para las generaciones actuales y futuras.

ALBA MARINA COTES

Figura 1. Control biológico de fitopatógenos, insectos y ácaros



Capítulo 18
Manejo integrado de insectos plagas

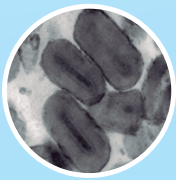
Capítulo 16
Comercialización de agentes de control biológico

Capítulo 21
Nuevas estrategias en el control biológico de insectos

Capítulo 5
Control con bacterias

Capítulo 6
Control con hongos

Capítulo 7
Control con virus



Capítulo 8
Control con feromonas

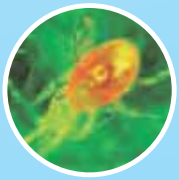
Capítulo 15
Investigación, desarrollo y escalamiento de fermomonas

Capítulo 23
Ecología química microbiana

Capítulo 10
Control con parasitoides

Capítulo 9
Control con depredadores

Capítulo 14
Investigación, desarrollo y comercialización de enemigos naturales



Capítulo 11
Diseño conceptual y prueba de concepto de bioplaguicidas

Capítulo 12
Desarrollo y escalamiento de bioplaguicidas

Capítulo 13
Registro y permisos de importación de bioplaguicidas

Introducción

El concepto de control biológico y sus premisas fundamentales

Introduction

The concept of biological control and its fundamental premises

Alba Marina Cotes[1]

[1] Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA)

Contenido

Introducción 44

Las plagas agrícolas y su impacto en la producción de alimentos 44

Control biológico 47

- Control biológico de conservación 49
- Control biológico clásico 49
- Control biológico aumentativo 49
- Control biológico de inoculación 49
- Control biológico inundativo 50

Implementación del control biológico 50

Conclusiones 52

Referencias 53

Resumen

Las relaciones ecológicas que se establecen entre organismos son amplias y diversas. Estas interacciones pueden considerarse como un *continuum*, que va desde resultados benéficos hasta perjudiciales. El control biológico, definido como el uso consciente de organismos vivos para el control de plagas, es un recurso ecosistémico clave para la producción sostenible de cultivos, en el cual se aprovechan los enemigos naturales de estas para reducir sus daños. En este texto se hace referencia al impacto de los microorganismos patógenos de plantas y de los insectos plaga en los cultivos; se presentan los conceptos generales del biocontrol, las interacciones bióticas que involucran a las plagas y a los agentes de control biológico en los ecosistemas agrícolas, así como los principales retos para la implementación del biocontrol.

Palabras clave

Agentes de control biológico, agroecosistemas, fitopatógenos, insectos plaga, interacciones

Abstract

The ecological relationships that organisms establish with others are broad and diverse, those interactions can be considered as a continuum spectrum, ranging from beneficial to detrimental outcomes. Biological control defined as the conscious use of living beneficial organisms for the control of pests is a key ecosystem service for sustainable crop production, where natural enemies play a central role in limiting damage from pests. In this chapter we discuss the impact of plant pathogenic microorganisms and pests insects, introduce general concepts, as well as, biotic interactions involving pests and biological control agents in agro-ecosystems and the major approaches for biological control.

Keywords

Agro-ecosystems, biological control agents, interactions, pests insects, plant pathogens

Introducción

Todas las formas de vida en la tierra interactúan con el entorno que las rodea. Esta interacción se produce con los factores abióticos a los que los organismos responden y con otros seres vivos de la misma o de diferente especie. La evolución de microorganismos y artrópodos ha generado una diversidad de maneras para obtener alimento que aún subsisten. Una de ellas es parasitar tejidos vegetales; otra es consumirlos. Los seres vivos que han adoptado estos estilos de vida se conocen como *plagas* y son un problema para la producción agrícola. Históricamente, algunas de ellas han causado hambrunas en diferentes países del mundo. Sin embargo, las plagas también pueden ser objeto de ataque por parte de un número no menor de organismos.

El control biológico es una estrategia de protección de cultivos que se aprovecha de las interacciones que son adversas para las plagas. Para que el control biológico sea eficaz, es necesario comprender la naturaleza variada y compleja de estas interacciones, que se conocen genéricamente como *simbiosis*. Según Leung y Poulin (2008), el término *simbiosis* significa "vivir juntos" y designa la interdependencia de dos (o más) organismos de diferentes especies que resulta en un beneficio para todos de los miembros implicados (mutualismo) o solo para algunos de ellos.

En el tema que nos ocupa, la simbiosis implica daño para una de las especies (parasitismo), en este caso para el hospedero, o ausencia de daño (comensalismo) cuando el biocontrolador entra en íntima relación con la planta, previniendo los daños producidos por las plagas.

Sin embargo, esta clasificación de la simbiosis es bastante simplista, ya que el espectro entre el mutualismo y el parasitismo es un *continuum*, en el que no siempre es fácil parcelar en dónde empieza y en dónde acaba el daño o el beneficio. De hecho, una sola asociación puede tener efectos positivos o negativos dependiendo de las condiciones ambientales (Pérez-Brocal, Latorre, & Moya, 2013) y de las actividades antropogénicas, que pueden afectar no solamente los procesos ecológicos, sino los evolutivos en muchas escalas espaciotemporales (Thrall et al., 2011).

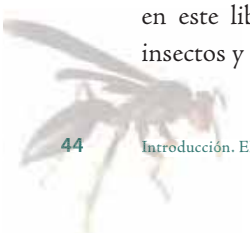
De esta manera, el control biológico debe considerar de forma amplia la biología y la interacción de los agentes de control biológico (ACB) con todos los componentes del entorno. Además, para que se convierta en una estrategia exitosa de fitoprotección, es necesario involucrar muchas otras disciplinas y actividades humanas: se debe trabajar de forma transdisciplinaria.

A pesar de los éxitos obtenidos a nivel mundial y de sus múltiples aplicaciones, el potencial del control biológico apenas empieza a explotarse. A continuación, se presenta la terminología y los conceptos básicos relacionados con el tema.

Las plagas agrícolas y su impacto en la producción de alimentos

Los daños producidos en los cultivos por las plagas han tenido un grave impacto en la población. El término *plaga*, de acuerdo con la FAO (Food and Agriculture Organization [FAO], 2017), se define como "Cualquier especie, raza o biotipo vegetal, animal o agente patógeno dañino para las plantas o productos vegetales", pero en este libro, ampliamos la definición del término a insectos y microorganismos fitopatógenos.

Se considera que hay aproximadamente 70.000 especies de plagas agrícolas en el mundo (Pimentel et al., 1997), número en el cual se incluyen cerca de 10.000 especies de insectos (Dhaliwal, Dhawan, & Singh, 2007), 150 especies de bacterias (Chisholm, Coaker, Day, & Staskawicz, 2006), 2.000 virus (Hull, 2013) y más de 10.000 especies de hongos y oomicetos (Krutov & Monkevich, 2002 citados en



Govorushko, 2011). Dentro de estos últimos, hay más de 350 especies que son toxigénicas (Monastyrsky, 2002 citado en Govorushko, 2012).

Aunque hay diferencias en los estimativos de pérdidas producidas por estos agentes bióticos, de acuerdo con varios autores el total de estas supera el 30 %. Heinrich y Hergt (2003) las estimaron en 33 %, Pimentel et al. (1999) las estimaron en 40 %, mientras que Singh (2014) hizo un estimativo que supera esta cifra considerando solo las enfermedades producidas por patógenos fúngicos.

Las plantas crecen, pero no se mueven del lugar de la siembra, por lo tanto, son incapaces de escapar al ataque de las diferentes plagas, principalmente, de insectos y fitopatógenos. Las pérdidas de cultivos debidas a estos pueden ser devastadoras hasta el punto de crear hambrunas. Los efectos socioeconómicos de las epidemias y las pérdidas de cultivos están ejemplificados por algunas enfermedades invasoras icónicas, cuyo ataque se presenta justo cuando las comunidades dependen de un único cultivo básico que resulta afectado.

Entre los ejemplos de hambrunas más citados está la causada por el fitopatógeno oomiceto *Phytophthora infestans*, que originó, entre 1845 a 1847, un millón de muertes en Irlanda y más de dos millones de emigrantes hacia Europa continental (Carefoot & Sprott, 1967). Esto se debió a la alta dependencia de la papa por parte de la población irlandesa para su sustento, a la ausencia de resistencia de la planta y a las condiciones ambientales.

Otras grandes hambrunas se produjeron en Bengala, en 1943, debidas a la mancha marrón del arroz, causada por el patógeno fúngico *Cochliobolus miyabeanus*. Se estima que dos millones de personas murieron dada la alta dependencia de la población de este cultivo (Padmanabhan, 1973). Entre 1970 y 1971, en Estados Unidos, se ocasionó la epidemia del tizón foliar del maíz, causado por *Cochliobolus heterostrophus*, que destruyó completamente estos cultivos (raza T). Esta especie de maíz contenía un gen heredado citoplasmáticamente para esterilidad masculina (Tcms), el cual se había incorporado en aproximadamente el 85 % de los cultivares americanos. Pese a las pérdidas económicas, nadie murió, y el problema pudo solucionarse retirando las variedades susceptibles e incorporando nuevos híbridos (Ullstrup, 1972).

Las poblaciones de fitopatógenos y de insectos plaga son genéticamente variables en el tiempo y en el espacio. Aunque se han hecho muchos estudios epidemiológicos, es difícil predecir el origen de la próxima catástrofe que afectará en alguna parte del globo a uno o varios de nuestros cultivos vitales para la seguridad alimentaria o para la generación de divisas.

Más de una décima parte de las plagas reportadas a nivel mundial ha alcanzado a más de la mitad de los países que cultivan las correspondientes especies vegetales huéspedes. Si las tendencias actuales continúan, muchos países productores estarán completamente saturados de plagas a mediados del siglo y la dispersión de estas aumentaría con la ampliación numérica de los huéspedes. La dispersión global de algunas plagas ha sido rápida, pero las asociaciones de estas son fuertemente regionalizadas y siguen las distribuciones de sus huéspedes.

En efecto, las asociaciones de plagas se correlacionan significativamente con la socioeconomía, el clima y la latitud. Los cultivos tropicales con rangos latitudinales restringidos tienden a estar más saturados de insectos plaga y de patógenos que las gramíneas crecidas en zonas templadas con amplios rangos latitudinales; aunque es probable que el cambio climático influya en la distribución futura de las plagas. Vale decir, en todo caso, que a pesar de la continua dispersión de insectos plaga y de fitopatógenos, el grado de homogeneización biótica sigue siendo moderado, aunque está creciendo.

Por otra parte, los patógenos fúngicos lideran la invasión mundial en la agricultura (son el grupo más disperso), aun cuando presentan una gama más restringida de huéspedes (Bebber, Holmes, & Gurr 2014). Solo a los patógenos fúngicos se les atribuye entre el 27 % y el 42 % de las pérdidas de alimentos a nivel mundial (Singh, 2014). Finalmente, los artrópodos destruyen entre el 18 % y el 26 % de las cosechas anuales, y es en el campo, antes de la cosecha, en donde se produce la mayor pérdida de cultivos (13-16 %) (Culliney, 2014). Esta situación se agrava en países en desarrollo.

Ahora bien, se proyecta que la población humana crezca en aproximadamente 80 millones por año y aumente en un 35 % en este primer cuarto de siglo, con un total aproximado de 7.700 millones para 2020 (Pinstrup-Andersen, 2000). Por esta razón, se necesitará una producción de alimentos cada vez más

sostenible y confiable, pero las plagas plantean un serio problema para la seguridad alimentaria mundial, lo que implica el desarrollo de mecanismos eficientes y medioambientalmente amigables para su control, basados, además, en una comprensión profunda de estas.

La intensificación de la agricultura en el siglo xx y en estos primeros años del siglo xxi ha estado acompañada por un aumento del comercio internacional, la introducción de nuevos cultivos y la consecuente transferencia de plagas a nivel mundial. Esta situación ha conllevado una excesiva dependencia del control químico, frecuentemente utilizado de forma exagerada e indiscriminada (figura 1), lo cual ha generado consecuencias negativas, como la resistencia de las plagas, mayores costos de producción, residuos de agroquímicos en los productos de consumo, contaminación ambiental, pérdida de biodiversidad y riesgos para la salud humana.

Esta situación ha abierto las puertas a las nuevas alternativas para una agricultura sostenible, en cuyo contexto, el control biológico ha ganado gran interés a escala mundial, dada la mayor sensibilidad de productores y consumidores a la importancia de usar prácticas más sostenibles, saludables y que protejan o aumenten la biodiversidad (Bale, Van Lenteren, & Bigler, 2008).

Esto, por supuesto, supone la utilización de componentes que permitan mantener las plagas por debajo de los niveles de daño económico sin perturbar los agroecosistemas, escenario en el cual el control biológico es visto como un componente fundamental de programas de manejo integrado de plagas (MIP) y de manejo integrado de cultivos (MIC).

Lo anterior implica integración disciplinaria y metodológica para abordar e implementar estos conceptos, de forma que se tenga en cuenta la educación de consumidores y productores, los valores sociales y los componentes económicos relacionados con el desarrollo e implementación de dichos programas.

Foto: Grupo de Control Biológico de Corpoica

Figura 1. Uso exagerado e indiscriminado de plaguicidas químicos.

Control biológico

El estudio del control biológico de plagas se ha dividido en cuatro épocas según Gurr, Barlow, Memmott, Wratten y Greathead (2000). La primera es la era precientífica (de 1880 hacia atrás); la segunda es la era clásica (1880-1939); la tercera es la era química, que va desde el descubrimiento de las propiedades insecticidas del dicloro difenil tricloroetano (DDT), en 1939, hasta la publicación del libro *La primavera silenciosa*, en 1962 (Carson, 1962); y la cuarta es la denominada era integrada, que va desde la publicación de *La primavera silenciosa* hasta la época actual.

En la era integrada, se ha hecho un uso mucho más amplio del control biológico (contra diferentes plagas objetivo y en diversidad de cultivos), con la implementación de estrategias que se originaron en la etapa clásica. Si bien en la era integrada se ha prestado más atención a los elementos biológicos y ecológicos, no se le ha prestado la suficiente a los temas sociales relacionados con el tema, como la estructura de las empresas, la estructura del mercado, los movimientos políticos y la actitud del consumidor, los cuales influyen fuertemente en el futuro del control biológico.

Los términos *control biológico* y su sinónimo abreviado *biocontrol* han sido empleados en diferentes campos de la biología, particularmente, en entomología y en fitopatología. En entomología, una de las definiciones clásicas describe el control biológico como la acción ejercida por parásitos, depredadores o patógenos (organismos causantes de enfermedades) para mantener la densidad de población de otros organismos en niveles más bajos de los que existirían sin la acción de estos enemigos naturales (De Bach, 1964). Posteriormente, Van den Bosch, Messenger y Gutiérrez lo definieron como "la manipulación humana de los enemigos naturales para controlar las plagas" (1982, p. 1). En fitopatología, el control biológico fue inicialmente definido como la reducción de la densidad de inóculo o de la actividad de un patógeno o parásito, en su estado activo o durmiente, lograda de manera natural o a través de la manipulación del ambiente, del hospedero o de antagonistas del patógeno o plaga que se quiere controlar (Baker & Cook, 1974).

Con el ánimo de unificar conceptos, en la Conferencia Nacional Interdisciplinaria sobre Control Biológico (National Interdisciplinary Biological Control Conference), llevada a cabo en Las Vegas en 1983, el biocontrol se definió como la supresión de las plagas mediante el uso de agentes bióticos, con la exclusión tanto de los procesos de mejoramiento genético para obtener plantas resistentes como de las técnicas de esterilidad y los químicos para modificar el comportamiento de las plagas (Baker, 1983). Posteriormente, el control biológico de fitopatógenos fue definido como la reducción de la cantidad de inóculo o de las actividades inductoras de enfermedades de un patógeno que se logra mediante la acción de uno o más organismos diferentes al hombre (Baker, 1983).

Una definición más reciente, aplicada tanto a la fitopatología como a la entomología, establece que el control biológico es "el uso de organismos vivos para suprimir una plaga, para reducir su población o el impacto de esta, haciéndola menos abundante o menos dañina" (Eilenberg, Hajek, & Lomer, 2001, p. 390). En esta definición se incluyeron depredadores, parasitoides, nematodos, hongos, bacterias, protozoos y virus (figura 2), mientras que los genes o fragmentos de genes sin un organismo vivo fueron excluidos.

En resumen, el manejo biológico de las plagas agrícolas tiene como propósitos fundamentales: 1) mitigar los efectos nocivos de estas y las consecuentes pérdidas económicas, 2) reducir o reemplazar el uso de plaguicidas químicos y 3) integrar las estrategias compatibles y sinérgicas para mejorar la efectividad en el manejo de las plagas. Además de los objetivos anteriores, la implementación de los ACB ayuda a proteger el medioambiente, a crear posibilidades para aumentar los rendimientos de los cultivos y a aumentar el suministro de productos agrícolas libres de residuos químicos para el consumidor (Narayanasamy, 2013).

Ahora bien, entendido desde una perspectiva utilitarista, el control biológico tiene como objetivo final la utilización de la biología para el servicio del hombre, siempre y cuando esto se haga de manera respetuosa con el medioambiente y asegure cultivos sanos para los consumidores. A continuación, se verán las estrategias de control biológico más comunes (de conservación, clásico, aumentativo, de inoculación e inundativo) (Eilenberg, 2006).

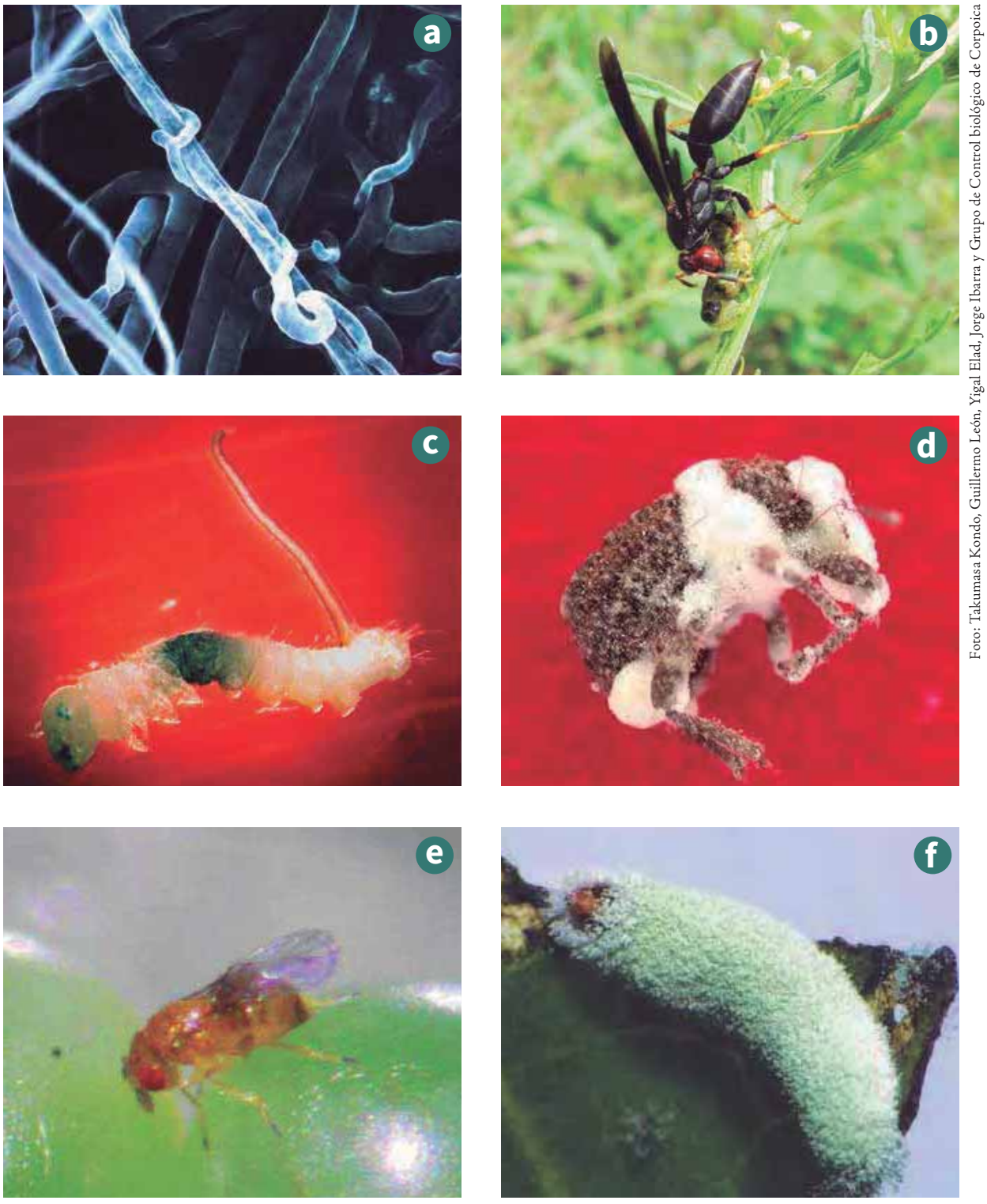


Foto: Takumasa Kondo, Guillermo León, Yigal Elad, Jorge Ibarra y Grupo de Control biológico de Corpoica

Figura 2. Diferentes formas de control biológico. a. Hongo biocontrolador *Trichoderma* sp. parasitando las hifas del hongo fitopatógeno *Rhizoctonia solani*; b. Avispa del género *Polistes* consumiendo una larva de lepidóptero; c. Larva de *Manduca sexta* atacada por las toxinas de *Bacillus thuringiensis* HD-1; d. Hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* colonizando un adulto de gusano blanco de la papa *Premnotrypes vorax*. e. Huevos de lepidóptero con microavispa *Trichogramma* sp., en inicio de proceso de parasitoidización; f. Larva del gusano cogollero del maíz parasitada por el hongo entomopatógeno *Metarhizium rileyi*.

Control biológico de conservación

Este se define como la modificación del medioambiente o de las prácticas existentes, para proteger y mejorar la actividad de enemigos naturales específicos o de otros organismos que reduzcan el efecto nocivo de plagas (Eilenberg et al., 2001). Los enemigos naturales incluyen todo tipo de organismos que ayudan a la regulación biológica: macro y microorganismos que controlan invertebrados, arvenses y enfermedades de las plantas, incluidos los microorganismos antagónicos responsables de los suelos supresivos.

En el control biológico de conservación se modifica el ambiente o se cambian las prácticas del cultivo para mejorar las condiciones de los enemigos naturales que están presentes y, así, incidir sobre su desempeño. Por ejemplo, al aumentar su población, se podría disminuir la de las plagas, de forma que se genere un menor impacto de estas en el cultivo.

El control biológico de conservación es completamente diferente de las otras estrategias de control biológico, ya que no se liberan organismos, solo se mejoran las condiciones de los organismos allí presentes, para evitar o para reducir los daños causados por las plagas. Es por esto que dicha estrategia es incompatible con el uso de agroquímicos que desfavorezcan a los enemigos naturales.

Entre las cinco estrategias de control biológico, la de conservación puede ser vista como la más estrechamente ligada a los principios fundamentales de la agricultura orgánica, que tiene como premisa fundamental la protección de los enemigos naturales existentes. También tiene una conexión estrecha con la "biología de la conservación" (Letourneau, 1998), ya que el control biológico de conservación se basa, en gran medida, en la teoría ecológica sobre las metapoblaciones, la fragmentación espacial y el destino de las especies en un hábitat. Por lo tanto, el control biológico de conservación puede considerarse un ejemplo de restauración del hábitat, con el propósito específico de mejorar las condiciones de los enemigos naturales para controlar las plagas.

La conservación de los enemigos naturales es probablemente la práctica de control biológico más importante y fácilmente disponible para los cultivadores. Los enemigos naturales existen en todos los sistemas de producción, desde el jardín de las casas hasta los campos comerciales. Estos agentes de biocontrol se adaptan al medioambiente local y a la plaga objetivo, por lo que su conservación es generalmente simple y rentable. Con relativamente poco esfuerzo, se puede observar la actividad de estos enemigos naturales. Sin embargo, en muchos casos, la importancia de los enemigos naturales no se ha estudiado adecuadamente o solo se hace evidente cuando estos desaparecen por el uso de agroquímicos.

Control biológico clásico

El control biológico clásico, según Eilenberg et al., se define como "la introducción intencional de un agente de control biológico exótico, habitualmente coevolucionado, para su establecimiento permanente y para el control de plagas a largo plazo" (2001, p. 391). Este tipo de control podría ser visto como el reestablecimiento ecológico de un equilibrio que el hombre había perturbado o como la capacidad de los enemigos naturales introducidos para persistir en el medioambiente, reproducirse allí y ejercer una actividad biocontroladora (Waage, 2001).

Control biológico aumentativo

Este tercer tipo de control biológico implica la liberación suplementaria de enemigos naturales: pueden liberarse unos pocos enemigos naturales en un momento crítico de la temporada o grandes cantidades de estos, según el caso. Además, el sistema de cultivo puede modificarse para favorecer o aumentar los enemigos naturales. Esta última práctica se denomina frecuentemente *manipulación del hábitat* (Eilenberg et al., 2001).

Control biológico de inoculación

El control biológico de inoculación fue definido por Eilenberg et al. (2001, p. 393) como "la liberación

intencional de un agente de control biológico con la expectativa de que se multiplique y controle la plaga durante un periodo prolongado de tiempo, pero no de forma permanente".

Se usa principalmente cuando una población de plagas empieza a aumentar, pero, antes de que haya alcanzado el máximo potencial, se inocula un agente de control biológico en cantidades pequeñas o moderadas. El objetivo es que el enemigo natural aumente su población y controle la plaga durante un periodo de tiempo. En este caso, los organismos de biocontrol inoculados no se establecen permanentemente con una densidad de población lo suficientemente alta. De esta forma, si la población de la plaga llega a aumentar después de un periodo de tiempo, se lleva a cabo una nueva inoculación. Este tipo de control es similar al control biológico clásico, pero las principales diferencias radican en que 1) la inoculación del agente de control biológico se hace con organismos que viven en el área de aplicación y 2) solo se hace un establecimiento temporal. El control biológico de inoculación, entonces, resulta equivalente a una restauración momentánea del balance natural.

Control biológico inundativo

Esta quinta estrategia se define como la liberación o aplicación de agentes de control biológico en grandes cantidades para diezmar las plagas cuando su población aumenta de tal forma que el cultivo se pone en riesgo (Eilenberg et al., 2001). Así, la plaga se controla rápidamente y la densidad de población tanto de la plaga como del biocontrolador disminuye con el tiempo. También en este caso, si la población de la plaga aumenta después de un periodo de tiempo, se realiza una nueva aplicación del agente de control biológico. Usualmente, los eventos de control biológico inundativo se limitan a una temporada de cultivo, por lo que la escala de tiempo es de semanas o de meses.

El término *bioplaguicida microbiano*, definido como un producto cuyo principio activo está constituido por microorganismos que controlan plagas, se asocia con la liberación inundativa, ya que los microorganismos benéficos se aplican cuando la población de plagas es alta o cuando se presume que esta va a estar en el nivel de daño económico. Además, en general se aplican dosis altas, y se asume que estos desaparecerán con el tiempo o que su población se reducirá significativamente por sí sola. En todo caso, los organismos de biocontrol (a menudo comercialmente disponibles) se liberan en intervalos más o menos regulares.

El control biológico de inundación, con su gran parecido con el control químico, puede percibirse como "menos natural" que las otras estrategias de control biológico, especialmente, cuando se usa un microorganismo biocontrolador, puesto que la cantidad del agente de control que se aplica suele ser mayor que la que se encuentra en condiciones naturales en un ambiente determinado. La presentación del biocontrolador puede asociarse, además, a la de los plaguicidas químicos, pues la etiqueta del producto tiene información sobre la concentración y las dosis de aplicación. Sin embargo, se debe considerar la inundación como una estrategia que puede proporcionar excelentes resultados en muchos casos, de acuerdo con la aceptabilidad ecológica.

El control biológico de inundación y el de inoculación a menudo se denominan "control biológico de aumento" (Hajek, 2004), puesto que, en ambos casos, los biocontroladores se liberan a intervalos más o menos regulares de tiempo con el objetivo de aumentar su población. Por otra parte, puede ser difícil saber exactamente si el efecto sobre el objetivo se debió a los propios organismos liberados o a su progenie. En cualquier caso, es recomendable preservar las categorías previamente descritas.

Implementación del control biológico

En general, para la implementación efectiva de una estrategia de control biológico se deben considerar los componentes ecológicos y sociales, desde el momento en que se descubre un agente de biocontrol y durante todo el proceso de desarrollo. Según Perkins y García (1999), la mayoría de trabajos científicos y productos de control biológico están sujetos a consideraciones políticas y económicas, que tienen poco que ver con el tema científico.

Obviamente, la inundación y la inoculación necesitan la participación de autoridades nacionales para evaluar su eficacia y para conceptuar sobre sus efectos en la salud y el medioambiente. Asimismo, el procedimiento y el producto deben contar con un respaldo científico completo, de forma que se tengan en cuenta los factores ecológicos, los elementos del cultivo, el ecosistema en que se llevará a cabo la aplicación, el tipo de plaga que se quiere controlar y el comportamiento y características de los agentes de biocontrol propuestos.

También la perspectiva y el conocimiento de la sociedad —representada por los consumidores, los cultivadores y los productores— hará que se tomen las medidas y las decisiones finales para el uso generalizado y exitoso de los agentes biocontroladores.

Es importante tener en cuenta, además, que la actitud del consumidor es decisiva para la implementación del control biológico. En Dinamarca, por ejemplo, los tomates producidos con estrategias de control biológico etiquetados como "producidos con control biológico" han influenciado positivamente a los consumidores para comprarlos (Eilenberg, 2006). De forma similar, en un estudio desarrollado por Jetter y Paine (2004), mediante la realización de una encuesta a cultivadores residentes urbanos y suburbanos en el sur de California, que pagaban US$23 por los plaguicidas químicos utilizados para sus árboles y arbustos, se encontró que estos expresaron interés en pagar entre 569 % y 2.108 % más por el uso de productos de control biológico para el manejo de plagas en los árboles y arbustos que hacen parte del paisaje urbano.

Conclusiones

Los diferentes enfoques del control biológico y sus aplicaciones proporcionan una gran cantidad de oportunidades para la producción agrícola. Su uso en general ha sido exitoso y seguro, si se tiene en cuenta que no ha generado perturbaciones importantes en el medioambiente ni efectos adversos en la salud humana y animal. Si bien se reconoce que siempre es mejor prevenir la aparición de problemas fitosanitarios, esto no siempre es posible y, dentro de las estrategias disponibles o por desarrollar, el control biológico es altamente promisorio dentro de una producción agrícola limpia. Este capítulo introductorio presentó los conceptos básicos del control biológico, y los demás capítulos de este libro profundizaron en los diferentes agentes biocontroladores y sus aplicaciones; además, esta obra incluye una síntesis de los avances y oportunidades de desarrollo futuro.

Se espera que este libro sea una fuente de inspiración para las actuales y futuras generaciones de investigadores, docentes, estudiantes y asistentes técnicos, para que inicien o profundicen sus estudios en control biológico y, así, hagan de este una herramienta ampliamente utilizada por quienes producen alimentos, fibras y bioenergía.

Referencias

Baker, K. F., & Cook, R. J. (1974). *Biological control of plant pathogens*. San Francisco, EE. UU.: W. H. Freeman and Company.

Baker, R. (1983, febrero). *State of the art: plant diseases*. Ponencia presentada en Proceedings of the National Interdisciplinary Biological Control Conference. Las Vegas, EE. UU.

Bale, J. S., Van Lenteren, J. C., & Bigler, F. (2008). Biological control and sustainable food production. *Philosophical Transactions of the Royal Society B, 363*(1492), 761-776.

Bebber, D., Holmes, T., & Gurr, S. (2014). The global spread of crop pests and pathogens. *Global Ecology and Biogeography, 23*(12), 1398-1407. doi: 10.1111/geb.12214.

Carefoot, G. L., & Sprott, E. R. (1967). *Famine on the wind: Plant diseases and human history*. Chicago, EE. UU.: Rand McNally & Co.

Carson, R. (1962). *Silent Spring, 40th anniversary edition*. Boston, EE. UU.: Houghton Mifflin.

Chisholm, S. T., Coaker, G., Day, B., & Staskawicz, B. J. (2006). Host-microbe interactions: Shaping the evolution of the plant immune response. *Cell, 124*(4), 803-814.

Cook, R. J., & Baker, K.F. (1983). *The nature and practice of biological control of plants pathogens*. Saint Paul, EE. UU.: The American Phytopathological Society.

Culliney, T. W. (2014). Crop losses to arthropods. En D. Pimentel, & R. Peshin (Eds.), *Integrated pest management* (pp. 201-225). Dordrecht, Holanda: Springer.

De Bach, P. (1964). *Biological control of insect pests and weeds*. Londres, Reino Unido: Chapman and Hall.

Dhaliwal, G. S., Dhawan, A. K., & Singh, R. (2007). Biodiversity and ecological agriculture: Issues and perspectives. *Indian Journal of Ecology, 34*(2), 100-109.

Eilenberg, J. (2006). Concepts and visions of biological control. En J. Eilenberg & H. Hokkanen (Eds.), *An ecological and societal approach to biological control* (pp. 1-11). Dordrecht, Holanda: Springer.

Eilenberg, J., Hajek, A., & Lomer, C. (2001). Suggestions for unifying the terminology in biological control. *BioControl, 46*(4), 387-400.

Food and Agriculture Organization (FAO). (2017). *Glosario de términos fitosanitarios*. Recuperado de http://www.fao.org/docrep/W3587E/w3587e03.htm.

Govorushko, S. (2012). *Natural processes and human impacts: Interactions between humanity and the environment*. Dordrecht, Holanda: Springer. doi: 10.1007/978-94007-1423-6.

Gurr, G. M., Barlow, N. D., Memmott, J., Wratten, S. D., & Greathead, D. J. (2000). A history of methodological, theoretical and empirical approaches to biological control. En G. Gurr & S. Wratten (Eds.), *Biological control: measures of success* (pp. 3-37). Dordrecth, Holanda: Kluwer Academic Press.

Hajek, A. (2004). *Natural enemies. An introduction to biological control*. Cambridge, Reino Unido: Cambridge University Press.

Heinrich, D., & Hergt, M. (2003). *Ecology: dtv – atlas*. Moscú, Rusia: Rybari.

Hull, R. (2013). *Plant virology* (5.ª Ed.). doi: 10.1016/C2010-0-64974-1.

Jetter, K., & Paine, T. D. (2004). Consumer preferences and willingness to pay for biological control in the urban landscape. *Biological Control, 30*(2), 312-322.

Krutov V. I., & Minkevich, I. I. (2002). *Fungal disease of the wood species*. Petrozavodsk, Rusia: Karelian Scientific Center of Russian Academy of Sciences.

Letourneau, D. K. (1998). Conservation biology: lessons for conserving natural enemies. En P. Barbosa (Ed.), *Conservation biological control* (pp. 9-38). San Diego: Academic Press.

Leung, T. L. F., & Poulin, R. (2008). Parasitism, commensalism, and mutualism: exploring the many shades of symbioses. *Vie et Milieu - Life and Environment, 58*(2), 107-115.

Monastyrsky, O. A. (2002). A role of cultivated plants in the evolution of toxigenic fungi. En *Modern mycology in Russia* (pp. 262-263). Moscú, Rusia: National Academy of Mycology.

Narayanasamy, P. (2013). Introduction. En P. Narayanasamy (Ed.), *Biological management of diseases of crops. Progress in*

biological control (Vol. 16). Dordrecht, Holanda: Springer. doi: 10.1007/978-94-007-6377-7_1.

Padmanabhan, S. Y. (1973). The great Bengal famine. *Annual Review of Phytopathology*, *11*(1), 11-26.

Pérez-Brocal, V., Latorre, A., & Moya, A. (2013). Symbionts and pathogens: What is the difference? En U. Dobrindt, J. H. Hacker, & C. Svanborg (Eds.) *Between pathogenicity and commensalism* (pp. 215-243). Berlín, Alemania: Springer.

Perkins, J. H., & Garcia, R. (1999). Social and economic factors affecting research and implementation of biological control. En T. S. Bellows, & T. W. Fischer (Eds.), *Handbook of biological control* (pp. 993-1009). San Diego, EE. UU.: Academic Press.

Pimentel, D., Wilson, C., McCullum, C., Huang, R., Dwen, P., Flack, J., … Cliff, B. (1997). Economic and environmental benefits of biodiversity. *BioScience*, *47*(11), 747-757

Pimentel, D., Bailey, O., Kim, P., Mullaney, E., Calabrese, J., Walman, F., … Yao, X. (1999). Will the limits of the Earth's resources control human populations? *Environment, Development and Sustainability*, *1*, 19-39.

Pinstrup-Andersen, P. (2000). The future world food situation and the role of plant diseases. *Canadian Journal of Pathology*, *22*(4). doi: https://doi.org/10.1080/07060660009500451.

Singh, H. (2014). Management of plant pathogens with microorganisms. *Proceedings of the Indian National Science Academy*, *80*(2), 443-454. doi: 10.16943/ptinsa/2014/v80i2/55120.

Thrall, P. H., Oakeshott, J. G., Fitt, G., Southerton, S., Burdon, J. J., Sheppard, A., … Denison, R. F. (2011). Evolution in agriculture: the application of evolutionary approaches to the management of biotic interactions in agro-ecosystems. *Evolutionary Applications*, *4*(2), 200-215. doi: 10.1111/j.1752-4571.2010.00179.x.

Ullstrup, A. J. (1972). The impacts of the southern corn leaf blight epidemics of 1970-1971. *Annual Review of Phytopathology*, *10*, 37-50.

Van den Bosch, R., Messenger, P. S., & Gutierrez, A. P. (1982). *An introduction to biological control.* Nueva York, EE. UU.: Plenum Press.

Waage, J. K. (2001). Indirect ecological effects in biological control: the challenge and the opportunity. En E. Wajnberg, J. K. Scott, & P. C. Quimby (Eds.), *Evaluating indirect ecological effects of biological control* (pp. 1-12). Wallingford, EE. UU.: CABI Publishing.

Sección I

Control biológico de enfermedades vegetales

Capítulo 1
Control biológico de patógenos foliares

Capítulo 2
Control biológico de fitopatógenos del suelo

Capítulo 3
Control biológico de patógenos en poscosecha

Capítulo 4
Estudios del microbioma y su aplicación en el control biológico de fitopatógenos

Capítulo 1

Control biológico de patógenos foliares

Chapter 1

Biological control of foliar pathogens

Alba Marina Cotes,[1] Yimmy Zapata,[1] Camilo Beltrán-Acosta,[1] Sadao Kobayashi,[1] Liz Uribe,[1] Yigal Elad[2]

[1] Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA)

[2] Departement of Plant Pathology and Weed Research Sciences, ARO, The Volcani Center

Contenido

Introducción 61

Principales patógenos foliares 62

Hongos fitopatógenos 62

Bacterias fitopatógenas 69

Contexto histórico del control biológico de patógenos foliares 70

Ecología de la filósfera, caulósfera y antósfera 73

Principales agentes de control biológico de fitopatógenos foliares 78

Hongos en el control biológico de patógenos foliares 78

Bacterias en el control biológico de patógenos foliares 85

Micovirus en el control biológico de patógenos foliares 86

Control biológico de virus de plantas 87

Daños en plantas causados por virus y sus características 87

Métodos de control de los virus de las plantas 88

Modos de acción de los biocontroladores de patógenos foliares 94

Competencia 95

Micoparasitismo y lisis 96

Antibiosis 98

Inducción de resistencia 100

Modo de acción de *T. harzianum* T39, un caso de estudio 102

Algunas experiencias exitosas en el control de fitopatógenos foliares 104

Trichodex® 104

Tricotec® 106

Fungifree AB® 110

Bioplaguicidas registrados para el control de patógenos foliares. Comunidad Económica Europea y Estados Unidos de América 112

Conclusiones y perspectivas 117

Agradecimientos 118

Referencias 119

Resumen

Los fitopatógenos foliares representan una grave amenaza para la seguridad alimentaria mundial. El control biológico se considera ecológicamente amigable y una alternativa clave en el manejo de las enfermedades producidas por estos. Además, se ha demostrado que varios microorganismos son efectivos en el control de muchas de estas enfermedades. En este capítulo se analizan varios de los más importantes patógenos foliares, así como los microorganismos antagonistas más frecuentemente usados, incluyendo su distribución, ecología, biología y modo de acción. Para ello, se revisan investigaciones realizadas durante las últimas décadas en todo el mundo sobre la evaluación de la eficacia de los agentes de control biológico, con algunas historias de éxito convincentes, así como los factores que fomentan o dificultan su desarrollo.

Palabras clave

Bioplaguicidas, compuestos antivirales, control biológico, fitopatógenos foliares

Abstract

Foliar plant pathogens pose a serious problem for global food security. Biological control is considered ecologically friendly and a key alternative in disease management. Several organisms are known to be antagonistic against foliar pathogens. In this chapter important foliar pathogens and antagonistic microorganisms, their distribution, ecology, biology and their modes of action are described. Many researches carried out worldwide during the last decades on efficacy evaluation of biological control agents with some convincing success stories are extensively reviewed, as well as the factors that encourage or hamper their development.

Keywords

Antiviral compounds, biological control, biopesticides, foliar plant pathogens

Introducción

Los patógenos foliares causan pérdidas económicas y de rendimiento de las principales plantas cultivadas a nivel global (Agrios, 2015); pese a que no hay datos concretos sobre las pérdidas ocasionadas por estos de forma general, se sabe que los hongos son los más limitantes, dentro de los que se destaca *Botrytis cinerea*, agente causal del moho gris, enfermedad a la que se le atribuyen pérdidas anuales por el orden de los US 10 a los US 100 billones (Boddy, 2016). Además, el control de enfermedades ocasionadas por *Botrytis* y otras especies relacionadas, como *Sclerotinia* y *Monilinia*, representa cerca del 8 % del mercado global de fungicidas (Phillips & McDougall, 2012), lo que da cuenta de su importancia, aunque para varios de estos, y particularmente para botryocidas, se han detectado casos de resistencia en muchos países y cultivos (Hahn, 2014; Leroux, 2004; Walker et al., 2013).

En el caso de los patógenos bacterianos y virales, son escasos o inefectivos los plaguicidas disponibles. Los antibióticos que se utilizan para controlar las bacterias fitopatógenas tienen efectos colaterales adversos, como la resistencia a los antibióticos y la diseminación de cepas resistentes a animales y a humanos (McManus, Stockwell, Sundin, & Jones, 2002). Por otra parte, las enfermedades virales se están convirtiendo en un tema crítico para los agricultores (Scholthof et al., 2011) y actualmente no existen métodos de control efectivos, excepto la ingeniería genética o el mejoramiento genético convencional (Kupferschmidt, 2013; Murphy, 2006).

Durante las últimas décadas, la restricción en la aplicación de fungicidas y de bactericidas se plantea como una necesidad para reducir el impacto sobre el medio ambiente (Fenner, Canonica, Wackett, & Elsner, 2013) y limitar los residuos en los productos cosechados (Verger & Boobis, 2013). Al mismo tiempo, la resistencia a muchos plaguicidas impide un control efectivo en campo y lleva a su sobreutilización (Brent & Hollomon, 2007), lo que estimula la búsqueda e implementación de alternativas de control, amigables con la salud humana y con el medioambiente, tales como el control biológico.

No obstante, para lograr un control efectivo es necesario conocer la biología del patógeno, la epidemiología de la enfermedad, la ecología de los agentes biocontroladores y las diversas interacciones que estos microorganismos tienen entre sí, con las plantas hospederas, con las arvenses, con el microbioma de la filósfera y con todos los factores ambientales que los rodean, para así optimizar su aplicación y generar sistemas adaptados de producción masiva y de formulación del agente de control biológico.

El control biológico de fitopatógenos foliares en varios casos ha presentado resultados inconsistentes, debido en gran medida a la naturaleza compleja de la ecología de las filósfera, que es un medio frecuentemente inhóspito para el desarrollo y actividad de los microorganismos biocontroladores que se aplican (Andrews & Harris, 2000). Sin embargo, hay varios casos de éxito, principalmente en cultivos bajo invernadero (Cotes, Moreno, Molano, Villamizar, & Piedrahita, 2007; Elad, 1994; Elad & Freeman, 2002; Elad & Shtienberg, 1995; Elad & Stewart, 2004; Elad, Zimand, Zaqs, Zuriel, & Chet, 1993b; Freeman et al., 2004; Guetsky, Shtienberg, Elad, & Dinoor, 2001; Lee, Lee, Kim, & Ryu, 2017; Marchand & McNeil, 2000; Moreno & Cotes, 2006; Moreno, Ramírez, Zapata, Díaz, & Cotes, 2012; Moreno, Cotes, & Vergara, 2007; O'Neill, Elad, Shtienberg, & Cohen, 1996; Paulitz & Bélanger, 2001; Perazzolli, Dagostin, Ferrari, Elad, & Pertot, 2008; Shafir, Dag, Bilu, Abu-Toamy, & Elad, 2006; Zapata et al., 2013b; Zapata & Cotes, 2013; Zapata et al., 2016) y hay optimismo con respecto a las perspectivas futuras de este método de control (Fravel, 2005; Guetskyl, Shtienberg, Dinoor, & Elad, 2002).

En el presente capítulo se describirán las enfermedades más limitantes, se analizará la filósfera y sus características, el contexto histórico del control biológico de los patógenos foliares, así como los principales agentes biocontroladores investigados y desarrollados como bioplaguicidas.

Principales patógenos foliares

La filósfera es una comunidad microbiana rica y variada con diversos grupos funcionales. Su composición está fuertemente influenciada por factores genotípicos y ambientales, muchos de los cuales pueden ser manipulados mediante estrategias de producción, prácticas culturales y uso de productos para fitoprotección, además de los factores medioambientales como humedad, radiación solar, viento y entomofauna, entre otros (Andrews, 1992). Todos estos factores también afectan las interacciones complejas entre los microorganismos, y estos a su vez afectan su interacción con la planta huésped. Comprender la dinámica de la población y el equilibrio entre los organismos de la filósfera (patógenos y benéficos) como un sistema ecológico podría conducir a nuevos enfoques para mejorar la sostenibilidad.

Dentro de los diez principales hongos y diez bacterias fitopatógenos considerados de mayor importancia a nivel mundial por la revista *Molecular Plant Pathology*, dado el impacto que ocasionan, se encuentran como el grupo más representativo los patógenos foliares o aquellos que, además de afectar el follaje, afectan otros órganos de la planta. Sin embargo, debe considerarse que su importancia y prioridad puede estar influenciada por su relevancia a nivel local en los diferentes continentes (Dean et al., 2012; Mansfield et al., 2012). A continuación, se describen las enfermedades causadas por estos patógenos.

Hongos fitopatógenos

Nueve de los diez hongos priorizados a nivel mundial, son patógenos foliares, los cuales fueron clasificados en las siguientes posiciones: 1) *Magnaporthe oryzae*, 2) *Botrytis cinerea*, 3) *Puccinia* spp., 4) *Fusarium graminearum*, 5) *Blumeria graminis*, 6) *Mycosphaerella graminicola*, 7) *Colletotrichum* spp., 8) *Ustilago maydis* y 9) *Melampsora lini*. Dentro de ellos se encuentran patógenos biótrofos, hemibiótrofos y necrótrofos. Además de dichas especies, se hizo mención especial a *Phakopsora pachyrhizi* agente causal de la roya asiática de la soya (Dean et al., 2012); a continuación, se expondrán en detalle:

- *M. oryzae* (anamorfo *Pyricularia oryzae*) causa la piriculariosis, que es la enfermedad más importante del arroz desde el punto de vista económico. Las fases críticas para la enfermedad se observan entre 25 y 35 días después de la siembra y durante las etapas de llenado de grano. Los daños en las hojas y en la panícula provocan pérdidas tanto directas como indirectas en el rendimiento del grano (Teng, 1994). Aunque *M. oryzae* tiene una amplia variedad de huéspedes monocotiledóneos, no se ha reportado que infecte plantas dicotiledóneas. Este hongo actúa como un hemibiótrofo, ya que prolifera inicialmente dentro de las células vivas del huésped, antes de cambiar a un modo necrotrófico destructivo. La infección en el sistema foliar del arroz inicia con un tubo germinal producido a partir del conidio, que se diferencia como un apresorio, adhiriéndose firmemente a la superficie de la planta mediante un mucílago (Howard, Ferrari, Roach, & Money, 1991). La presión ejercida por el apresorio melanizado permite la penetración (De Jong, McCormack, Smirnoff, & Talbot, 1997; Howard et al., 1991). Después de la penetración, este se diferencia en una hifa infecciosa que crece intra e intercelularmente (Heath, Howard, Valent, & Chumley, 1992), dando como resultado las lesiones típicas de la enfermedad (Tucker & Talbot, 2001).
- *B. cinerea* (en su forma anamórfica) o *Botryotinia fuckeliana* (en su forma teleomórfica) causa la enfermedad conocida como el moho gris (figura 1.1). Este hongo se considera como un necrótrofo típico, que coopta vías de muerte celular programada en el huésped (Van Baarlen, Woltering, Staats, & Van Kan, 2007). *B. cinerea* es destructivo en tejidos maduros o senescentes de dicotiledóneas y puede permanecer quiescente durante un tiempo considerable, antes de causar pudrición en los tejidos, lo que ocurre cuando cambia la fisiología del huésped (Williamson, Tudzynski, Tudzynski, & Van Kan, 2007). Se ha encontrado que numerosas dicotiledóneas albergan infección endofítica de *B. cinerea* antes de pasar a la fase necrótrofa, lo que hace que el ciclo de infección sea

muy complejo y, a su vez, de difícil manejo (Dewey & Grant-Downton, 2016; Van Kan, Shaw, & Grant-Downton, 2014). Según Jarvis (1977), *B. cinerea* tenía más de 200 huéspedes; sin embargo, recientemente se ha reportado que este número supera los 1.400 huéspedes, pertenecientes a 586 géneros (Elad, Pertot, Cotes-Prado, & Stewart, 2016) y que este patógeno puede infectar material de siembra, plántulas, tallos, hojas, flores y frutos en las etapas de pre y poscosecha. *Botrytis cinerea* puede hibernar mediante esclerocios melanizados (~ 4 mm), resistentes a condiciones ambientales adversas (Holtz, Coertze, & Williamson, 2007). En condiciones favorables, como temporadas húmedas interrumpidas en primavera, los esclerocios germinan para producir micelio y conidios. *B. cinerea* también puede producir clamidosporas hialinas de paredes gruesas. Estas varían de tamaño y forma, pueden sobrevivir períodos de sequía de hasta tres meses y, a menudo, se encuentran en cultivos viejos, de forma intercalada o en los extremos de las hifas; en condiciones favorables, estas clamidosporas germinan para producir hifas o microconidios (figura 1.2) (Urbasch, 1983).

- *Puccinia* spp. son hongos basidiomicetes biótrofos, con ciclos de vida heterocíclicos y heterocigotos, causantes de royas (Jin, Szabo, & Carson, 2010). A través de haustorios, los hongos toman los nutrientes que se encuentran dentro de las células vegetales. En el trigo producen la roya del tallo negro (causada por *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*), la roya amarilla (*P. striiformis* f. sp. *tritici*) y la roya parda de la hoja (*P. triticina*). Debido a su alta esporulación, diseminación eficiente, variabilidad patogénica y por el cultivo generalizado de trigo en ambientes propicios, estas royas se encuentran ampliamente diseminadas (Voegele & Mendgen, 2011).
- *F. graminearum* (Teleomorfo *Gibberella zeae*) es un ascomiceto, altamente destructivo de todos los cereales (Dean et al., 2012), que puede coexistir

Foto: Yigal Elad

Figura 1.1. Moho gris producido por *B. cinerea* en uvas.

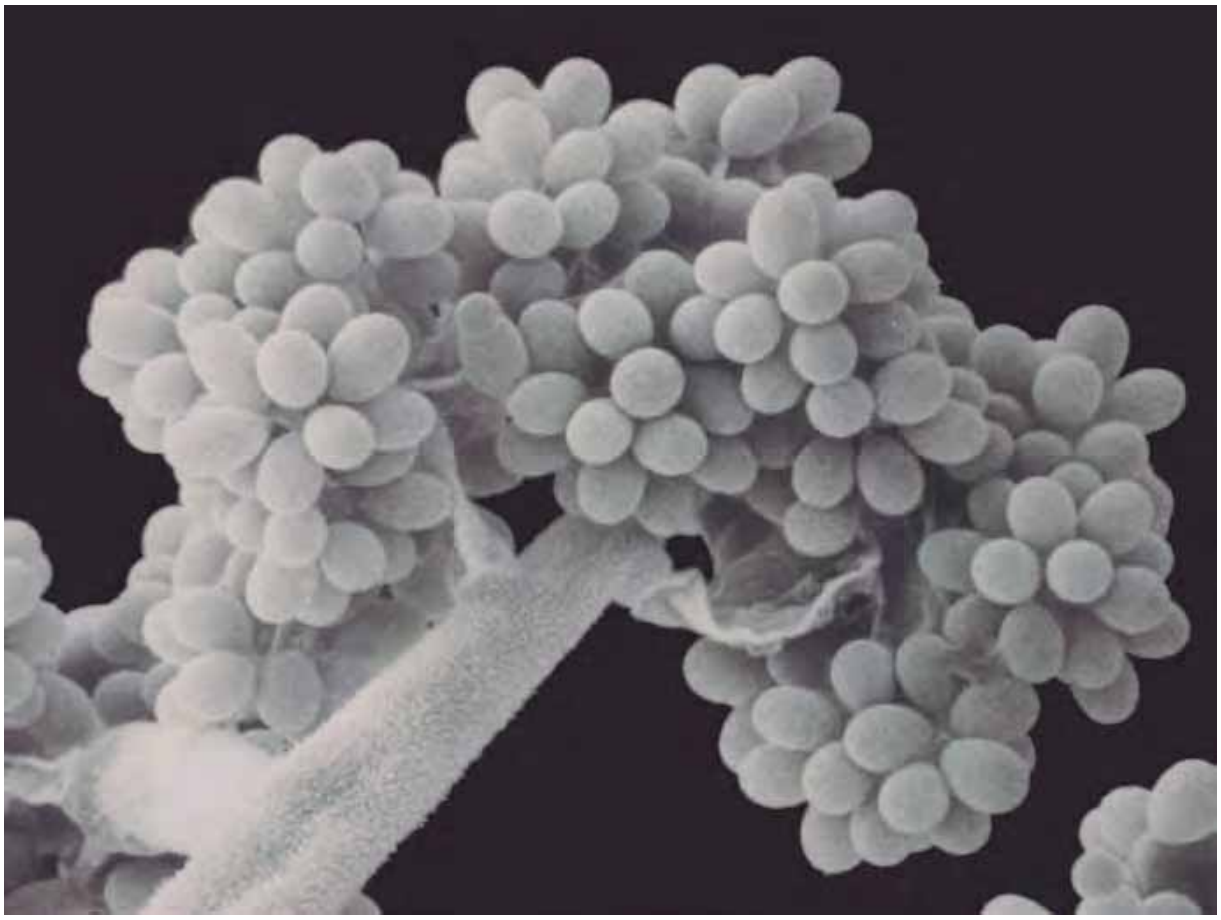


Foto: Yigal Elad

Figura 1.2. Conidióforo de *B. cinerea*. Imagen al microscopio electrónico de barrido.

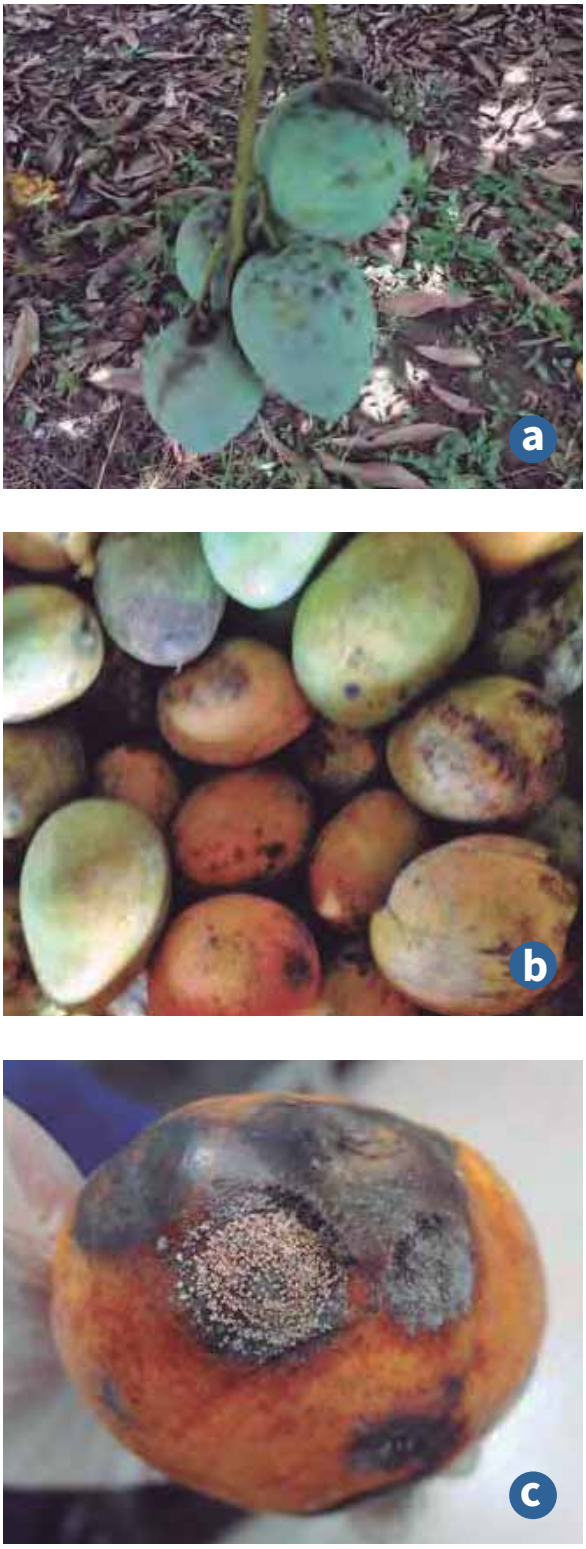
y coinfectar con otras especies de *Fusarium*. Las mayores pérdidas económicas ocurren cuando *F. graminearum* infecta los tejidos florales, lo que afecta la calidad cosmética del grano, además de acumular micotoxinas en estos (Leonard & Bushnell, 2003).

- *B. graminis* es un ascomiceto perteneciente a los Erysiphales (Takamatsu, 2004); es un patógeno biótrofo que causa el oídio o mildeo polvoso de los cereales, particularmente en trigo y cebada. El hongo persiste durante el invierno como micelio en el rastrojo del trigo y en gramíneas silvestres. Durante la primavera, las ascosporas son producidas y esparcidas por el viento; primero ataca las hojas más bajas, para después ascender hasta alcanzar la espiga, lo que reduce el rendimiento de grano. *B. graminis* tiene un estrecho rango de huéspedes, en los que las 'formae speciales' *tritici* y *hordei* infectan trigo y cebada, respectivamente (Wyand & Brown, 2003).
- *M. graminicola* (*Septoria tritici* anamorfo) es un ascomiceto que causa la septoriosis del trigo; la infección empieza por las hifas que crecen en la superficie de las hojas y penetran a través de las estomas mediante un apresorio, produciendo colonización intercelular asintomática (> 7 días), antes de producir lesiones necróticas en las hojas, dentro de las cuales el hongo esporula asexualmente; en esta última fase, se convierte en necrótrofo (Kema, Annone, Sayoud, & Van Silfhout, 1996; Kema, Sayoud, Annone, & Van Silfhout, 1996). Esta enfermedad causa pérdidas económicas de consideración en el trigo, particularmente en regiones templadas (Orton, Deller, & Brown, 2011).
- *Colletotrichum* spp., en su forma asexual, se incluyó en la división Ascomycota, como su género sexual *Glomerella*. Este es un hemibiótrofo que tiene gran facilidad para cultivarse *in vitro*; además, es uno

de los géneros más comunes e importantes, ya que la mayoría de los cultivos son susceptibles a una o más especies de este patógeno. Estos hongos causan la antracnosis, cuyos síntomas incluyen lesiones necróticas hundidas en hojas, tallos, flores y frutos (Agrios, 2015); frecuentemente, expresan síntomas en campo (figuras 1.3 y 1.4), aunque en algunos casos permanecen quiescentes y se expresan en la poscosecha. El género *Colletotrichum* incluye una serie de fitopatógenos de gran importancia, que causa enfermedades en plantas leñosas y herbáceas. Su distribución es principalmente tropical y subtropical, aunque hay algunas especies en zonas temperadas. La producción de frutas se ve particularmente afectada, tanto cultivos de alto valor como la fresa, el mango, cítricos y el aguacate, como en cultivos básicos como el banano (Cannon, Damm, Johnston, & Weir, 2012). No obstante, también puede afectar cultivos de subsistencia, tales como el plátano y la yuca (Prusky, 1996), el café y cereales como el maíz, la caña de azúcar y el sorgo (Cannon et al., 2012).

- *U. maydis* es un basidiomycete biótrofo que causa el carbón común del maíz; este produce agallas tumorales formadas en el tejido del huésped en crecimiento activo, que contienen masas de teliosporas oscuras y hollín. El hongo tiene un ciclo de vida dimórfico, con una fase saprófita tipo levadura, que cambia a crecimiento filamentoso y patogénico tras la fusión de hifas. Infecta dos huéspedes: maíz (*Zea mays*) y teosinte (*Zea mexicana*). Además de la importancia de la enfermedad, *U. maydis* se ha utilizado como un organismo modelo para estudiar una variedad de fenómenos biológicos (Matei & Doehlemann, 2016).

- *M. lini* pertenece a la familia Melampsoraceae (Basidiomycetes, orden Uredinales). Es un parásito obligado que causa la roya del lino en donde desarrolla su ciclo completo en cinco etapas. Esta enfermedad reduce el rendimiento y la calidad de la fibra y de la semilla. El patógeno pasa el invierno en estado telial y germina en primavera, etapa en la que las teliosporas producen basidios con basidiosporas haploides. Las basidiosporas infectan las hojas y los tallos del lino y forman espermogonios (picnidios), en los que los espermacios se desarrollan. Estos últimos se unen



Fotos: Alba Marina Cotes

Figura 1.3. Mangos afectados en campo por *Colletotrichum gloeosporioides*. a. Frutos con síntomas visibles de antracnosis; b. Frutos recién cosechados y severamente afectados por la enfermedad; c. Desarrollo de acérvulos del patógeno en fruto incubado en laboratorio.

Foto: Jimmy Zapata

Figura 1.4. Antracnosis del tomate de árbol (*Solanum betaceum*) producido por *C. gloeosporioides*.

a otros de sexo opuesto (estado sexual) y dan lugar a aecidios que forman pústulas anaranjadas con aecidiosporas unicelulares dicarióticas. La infección de plantas con aecidiosporas resulta en la formación del uredo-micelio y el desarrollo de urediniopústulas con urediniosporas (la etapa repetitiva del hongo). Bajo condiciones climáticas favorables (18-22 °C y humedad disponible para la germinación), las urediniosporas producen nuevas generaciones cada 8 a 10 días, infectando así la totalidad del cultivo. En caso de condiciones desfavorables (clima seco y caliente, o enfriamiento otoñal), el hongo entra en reposo (etapa telial) (Kutuzova, Porokhovinova, & Brutch, 2017).

En este listado no se mencionan varias enfermedades que revisten particular importancia; por ejemplo, solo se cita un caso de mildeo polvoso del trigo, pero esta enfermedad es extremadamente común y generalizada, y es económicamente uno de los grupos de enfermedades más importantes que infectan muchos taxones de plantas (excepto gimnospermas), siendo los cultivos más gravemente infectados los cereales, las hortalizas y las frutas (Boddy, 2016).

Existen muchos géneros y especies diferentes de hongos que producen el mildeo polvoso (por ejemplo, *Erysiphe* spp., *Sphaerotheca* spp.) y cada especie afecta plantas específicas. Los mildeos polvosos generalmente no requieren de condiciones húmedas para establecerse y desarrollarse. Una gran variedad de cultivos de hortalizas se ve afectados por mildeos, incluyendo alcachofa, fríjoles, remolacha, zanahoria, pepino, berenjena, lechuga, melones, chirivías, guisantes, pimientos, calabazas, radicchio, rábanos, calabaza, tomatillo, tomates, nabos, manzana, fresa, frambuesa, cereza, vides, nectarines, melocotón y ciruela, entre otros. Ejemplos de estos son *Podosphaera xanthii* (anteriormente conocido como *Sphaerotheca fuliginea* y *Sphaerotheca fusca*) y *Erysiphe cichoracearum*, los dos hongos más comúnmente registrados en cucurbitáceas (figuras 1.5 y 1.6).

Varios hongos de mildeo polvoso causan enfermedades similares en diferentes plantas, tales como especies de *Podosphaera* en frutas de manzana, especies de *Sphaerotheca* en frutos de hueso, *Erysiphe necator* en vid (Flint, 1998; McCain, 1994) y *Sphaerotheca macularis* en mora (figura 1.7) (Horst, 2013).

Foto: Yigal Elad

Figura 1.5. Mildeo polvoso del pepino producido por *Podosphaera xanthii*.

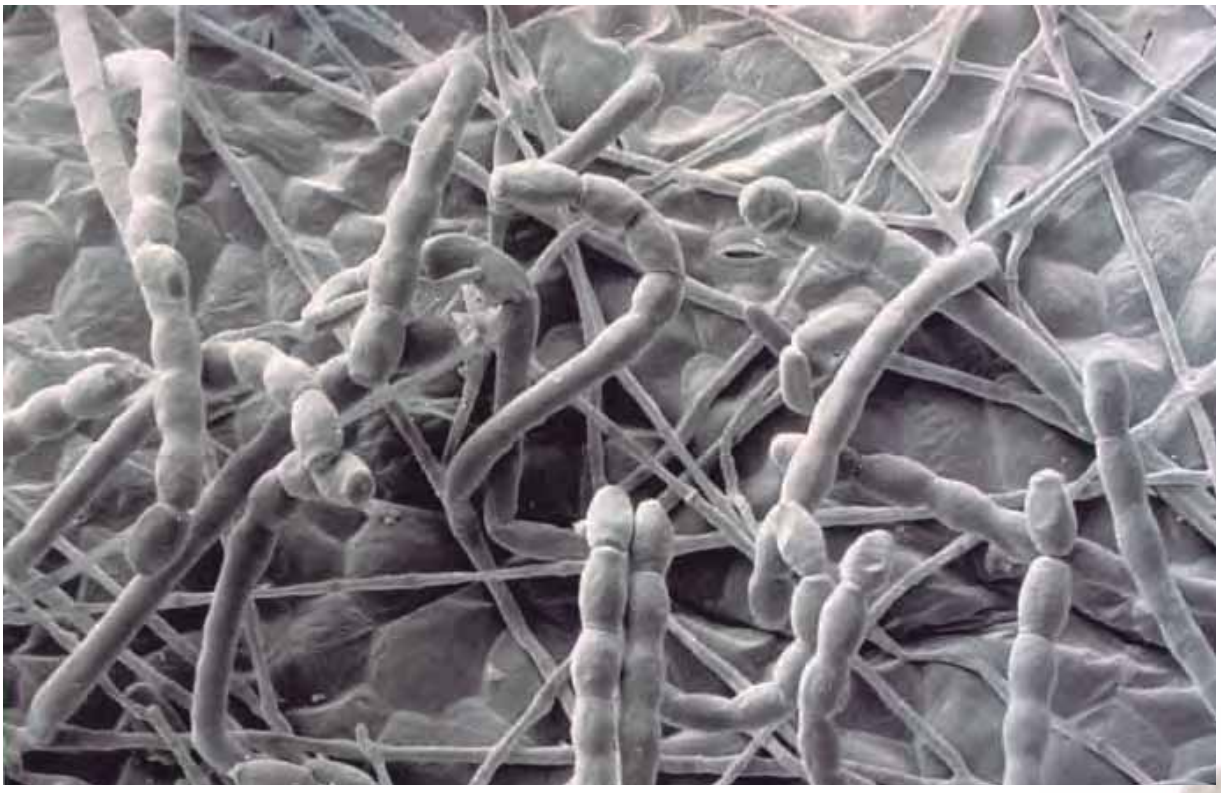


Foto: Yigal Elad

Figura 1.6. Aspecto microscópico del Mildeo polvoso del pepino. Imagen al microscopio electrónico de barrido.

Esta publicación tampoco hace mención al tizón de la papa, causante de hambrunas en Europa (Goodwin, Cohen, & Fry, 1994), la sigatoka negra del banano y platano (Cuéllar-Quintero, Álvarez-Cabrera, & Castaño-Zapata, 2011) y la roya del cafeto (McCook, 2006), todos ellos problemas muy limitantes en la producción de los cultivos afectados en América Latina. La gota o tizón tardío causada por *Phytophthora infestans* se presenta principalmente en las regiones húmedas de las zonas templadas y tropicales, incluida Colombia. Esta es la enfermedad más limitante de la papa, aunque también afecta al tomate y a otras solanáceas (Goodwin et al., 1994; Garry et al., 2005). La sigatoka negra, causada por el hongo *Mycosphaerella fijiensis* (*anamorfo Paracercospora fijiensis*), es la enfermedad foliar que representa la principal limitante en la producción de musáceas (plátano y banano) a nivel mundial (Cuellar-Quintero et al., 2011). La roya del café, causada por *Hemileia vastatrix*, ha producido epidemias de gran magnitud que han afectado varios países, incluidos Colombia, algunos de América Central, México, Perú y Ecuador, lo que ha llevado al abandono del cultivo en muchas regiones, cambiando el paisaje socioeconómico e histórico de estas (Avelino et al., 2015).

Fotos: Jimmy Zapata

Figura 1.7. Mildeo polvoso de la mora, expresado como encrespamiento de hojas y desarrollo del patógeno en el envés, producido por *Sphaerotheca macularis*.

Bacterias fitopatógenas

Las bacterias fitopatógenas foliares también ocupan un lugar predominante entre las diez consideradas de la mayor importancia, ya que cinco de ellas son patógenos foliares propiamente dichos, y otras aunque no estén estrictamente en este grupo, pueden afectar el follaje. En esta lista se incluyen, en orden de rango: 1) *Pseudomonas syringae*, 4) *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, 5) *Xanthomonas campestris*, 6) *Xanthomonas axonopodis* y 7) *Erwinia amylovora*, de acuerdo con la numeración propuesta por Mansfield et al. (2012). Además, a pesar de no estar en el grupo de las 10 bacterias más importantes, se mencionan *Clavibacter michiganensis* (*michiganensis* y *sepedonicus*) (Eichenlaub & Gartemann, 2011), *Pseudomonas savastanoi* (Rodríguez-Palenzuela et al., 2010) y *Candidatus Liberibacter* (pv. *asiaticus*) (Duan, Wang, & Guo, 2012; Mansfield et al., 2012). A continuación, se expondrán con mayor detalle:

- *P. syringae* es una bacteria gram-negativa que pertenece a la subclase γ de la Proteobacteria; es aerobia estricta, con forma bacilar y flagelos polares (Doudoroff & Palleroni, 1974), aunque es considerada como epífita (Hirano & Upper, 2000); además, es un microorganismo complejo que combina la capacidad de causar enfermedad en las plantas, con la persistencia como saprófito en asociación con material vegetal muerto, pudiendo vivir en agua dulce y en hábitats alpinos (Morris, Monteil, & Berge, 2013). Además, esta bacteria es responsable de daño por heladas en plantas, ya que puede hacer que el agua se congele a temperaturas tan bajas como -1,8 °C, aunque hay variantes que causan nucleación de hielo a temperaturas más bajas (debajo de -8 °C). Este fenómeno se debe a diferentes proteínas monoméricas que se ensamblan para convertir agua en hielo, haciendo que a mayor grado de agregación sea más eficiente el núcleo de hielo (Lee, Warren, & Gusta, 1995; Vali, 1995). El epíteto patovar se usa para distinguir entre las habilidades patogénicas de *P. syringae* (Young et al., 1991). Esta bacteria ha evolucionado para interactuar con una amplia gama de plantas en la mayoría de las regiones del mundo; sin embargo, dentro de la especie existe una gran especialización con respecto a cepas específicas. La especialización adicional está mediada por mecanismos de interacción específicos con una sola planta, como lo demuestra el hecho de que causan diferentes enfermedades en el mismo huésped. Por ejemplo, se han descrito más de 80 especies de plantas huéspedes de cepas de *P. syringae* pv. *syringae* (Bradbury, 1986).

- *X. oryzae* es una bacteria gram-negativa en forma de bastón, que produce un pigmento amarillo soluble, llamado "xanthomonadin" y un polisacárido extracelular (EPS) que la protege de la desecación, así como atenúa el efecto del viento y de la lluvia (Swings et al., 1990). Esta bacteria produce el tizón bacteriano de la hoja del arroz y de otras plantas herbáceas, en regiones tropicales y templadas, y ha sido frecuente en Australia, África, América Latina, el Caribe y los Estados Unidos (Mew, Alvarez, Leach, & Swings, 1993). Las pérdidas en rendimientos pueden estar entre el 10 y el 50 %. Se disemina por irrigación, por salpicaduras de lluvia que rebotan del rastrojo que queda de cosechas anteriores, siendo esta la fuente más importante de inóculo primario (Mizukami & Wakimoto, 1969; Murty & Devadath, 1984). *X. oryzae* infecta las hojas de arroz a través de los hidátodos foliares. Los síntomas consisten en estrías de aspecto húmedo y color amarillento en los márgenes de las hojas, que al coalescer toman aspecto de quemado y se observan en la parte superior de las hojas bordes ondulados (Niño-Liu, Ronald, & Bogdanove, 2006).

- *X. campestris* en un bacilo gram-negativo, cuyos patovares causan enfermedades de importancia económica en todo el mundo. Entre los más notables se encuentran *X. campestris* pv. *campestris*, agente causal de la podredumbre negra de crucíferas que afecta a todas las *Brassica* cultivadas; *X. campestris* pv. *vesicatoria*, reclasificado como *X. euvesicatoria*, agente causal de la mancha bacteriana de la pimienta y del tomate, y *X. campestris* pv. *malvacearum* (actual *X. axonopodis* pv. *malvacearum*), que causa la mancha angular de la hoja de algodón. Las enfermedades causadas por estas bacterias son particularmente severas en regiones cálidas y húmedas, aunque la pudrición negra también es económicamente importante en regiones templadas, por ejemplo, en el Reino Unido. Esta bacteria también es importante como productora del exopolisacárido xantana, que se utiliza como aditivo de alimentos, en la industria farmacéutica y en la de perforación de pozos

petroleros (Mansfield et al., 2012). *X. campestris* puede diseminarse por semillas, las condiciones húmedas son propicias para la supervivencia epifítica de la bacteria y para su propagación secundaria entre las plantas (Carisse, Willman-Desbiens, Toussaint, & Otis, 1998).

- *X. axonopodis* tiene muchos patovares que causan enfermedades económicamente importantes en diferentes plantas hospederas de importancia agronómica (Young, Park, Shearman, & Fargier, 2008). En la yuca, que es el alimento básico de casi 600 millones personas en las regiones tropicales del mundo, *X. axonopodis* pv. *manihotis* es el agente causal del tizón bacteriano común, principal enfermedad endémica en áreas subtropicales y tropicales. Esta es una enfermedad foliar y vascular que produce pérdidas entre el 12 y el 100 %, ya que afecta el rendimiento del cultivo y el material de siembra (Verdier, Restrepo, Mosquera, Jorge, & López, 2004). En los últimos años, en África y Asia se ha presentado una resurgencia significativa de esta enfermedad (Mansfield et al., 2012).
- *E. amylovora* es una bacteria bacilar, gram-negativa, móvil, con flagelos perítricos (Lelliott & Dickey, 1984), que causa la enfermedad conocida como "fuego bacteriano", que afecta una variedad de plantas de la familia Rosaceae, dentro de las que se destacan manzanos, membrillos, nísperos, perales y otras plantas ornamentales y silvestres (Agrios, 2015). La enfermedad se desarrolla esporádicamente, pero, ocasionalmente, es altamente destructiva, especialmente en árboles frutales jóvenes que mueren debido a infecciones que rodean el tronco o los portainjertos (Mansfield et al., 2012).

Contexto histórico del control biológico de patógenos foliares

La microbiología es considerada como una de las ciencias jóvenes del mundo, cuyos registros datan desde mediados de 1800, cuando Pasteur describió y dio a conocer por primera vez el rol de los microorganismos en la naturaleza y su importancia en el bienestar de hombre, y hasta la fecha que los científicos han aislado un sinnúmero de microorganismos de diversos ecosistemas, entre ellos diferentes tipos de suelo, agua, animales y plantas de diferentes especies (Dickinson & Preece, 1977; Jones, 1993; Lemanceau et al., 2017), lo que ha permitido su constante estudio y aprovechamiento.

Entre todos los microorganismos existentes, los que habitan las plantas pueden colonizar tres compartimientos principales, que corresponden a la filósfera (parte aérea), la rizosfera (zona de influencia del sistema radicular) y la endósfera (sistema de transporte interno). La filósfera, que por sí sola incluye hojas, flores y frutos, alberga un número significativo de diferentes poblaciones microbianas. Esta abundancia y diversidad es promovida por la liberación de compuestos orgánicos vegetales y la presencia de nichos favorables para su colonización y desarrollo (Bier, 1964, citado por Dickinson & Preece, 1977). Dicha diversidad de microorganismos filosféricos conforma una vasta red de poblaciones que interactúan y viven en un estado de equilibrio dinámico, que a su vez es reflejo de los cambios en su entorno (Dickinson & Preece, 1977; Leveau, 2007).

Dentro de las poblaciones filosféricas, autores como Kerling (1958) y Hislop y Cox (1969) han reportado que el mayor número de microorganismos corresponde a bacterias no filamentosas, seguido por levaduras, luego mohos y, en menor proporción, por bacterias filamentosas (actinomicetos). Todos los microorganismos filosféricos cumplen un papel ya sea como benéficos o como patógenos (Dickinson & Preece, 1977). Dentro de los patógenos se han reportado *Mycosphaerella* spp. (Landry et al., 2017), *B. cinerea* (Dean et al., 2012; Elad, 2000a), *Erysiphe cichoracearum* (Gao et al., 2016), *Pseudoperonospora cubensis, Sphaerotheca fusca* (Elad, 2000a), *Alternaria* sp. (Fulcher, Cummings, & Bergstrom, 2017), *Corynespora cassiicola* (Louws, Rivard, & Kubota, 2010), *Colletotrichum camelliae, Curvularia eragrostidis, Lasiodiplodia theobromae, Pestalotiopsis theae* (Saha, Kumar, Ghosh, Kumari, & Saha, 2012) y *P. syringae* pv. *syringae* (Meyer & Leveau, 2012), entre otros, que

son los responsables de desarrollar enfermedades como royas, manchas, oidios y mildeos en cultivos de alto impacto económico a nivel mundial.

Además de los reportes de diferentes patógenos foliares, también se ha descrito un número significativo de microorganismos foliares benéficos, que en contraste contribuyen a proveer un equilibrio en ese ambiente, ya que funcionan como una barrera de defensa inicial y contrarrestan la colonización de los diferentes fitopatógenos. Dentro de este grupo se destacan principalmente bacterias de los géneros *Bacillus* spp., *Pantoea* sp. y *Pseudomonas* spp., así como hongos como *Stephanoascus flocculosus*, *Ampelomyces quisqualis*, *Penicillium* sp. *Verticillium lecanii* y *Gliocladium* sp., y levaduras como *Aureobasidium* sp., *Sporobolomyces* sp., *Cryptococcus* sp., *Torulopsis* sp., *Rhodotorula* spp. y *Candida* spp. (Montesinos & Bonaterra, 2009; Ruberson, 1999).

La capacidad antagónica de algunos géneros microbianos radica principalmente en la producción de moléculas tóxicas, la competencia por nutrientes y espacio, y la alteración de la fisiología de la planta hospedera en beneficio de su población, lo que permite mantener el equilibrio poblacional. Esto ha sido reportado desde mediados de la década 1950 por autores como Wood y Tveit (1955), Darpoux (1960), Last y Deighton (1965), Leben (1965), Sinha (1965), Sharma y Mukerji (1973) y Baker y Cook (1974) (todos citados por Dickinson & Preece, 1977). Dichos reportes, junto con publicaciones más recientes, son basados en resultados obtenidos a partir de ensayos realizados bajo condiciones controladas *in vitro* e *in vivo* (Dickinson & Preece, 1977). Esos estudios demuestran que la aspersión sobre la superficie de las plantas de diferentes aislamientos, solos, en mezcla o en formulaciones, reduce exitosamente la incidencia y la severidad de enfermedades causadas por patógenos como *Gremmeniella abietina* (Knudsen & Hudler, 1987), *Cercospora arachidicola* (Kokalis-Burelle, Backman, Rodríguez-Kábana, & Ploper, 1992), *Pythium ultimum* (Whipps, McQuilken, & Budge, 1993), *Rhizoctonia solani* (Rabindran & Vidhyasekaran, 1996), *Pyricularia oryzae* (Vidhyasekaran et al., 1997), *Botrytis fabae* (Jackson, Walters, & Marshall, 1997), *Botrytis cinerea*, *Pseudoperonospora cubensis*, *Sclerotinia sclerotiorum* y *Sphaerotheca fusca* (syn. *S. fuliginea*), entre otros (Elad, 2000a).

El entendimiento de la capacidad antagónica de algunos microorganismos y la necesidad de desarrollar una "estrategia de manejo integrado de cultivos" hicieron evidente y estimularon el desarrollo de alternativas de control biológico de patógenos foliares a partir de la década de 1970, cuando se encontraba en pleno auge el uso de plaguicidas químicos tipo fungicidas e insecticidas (Dickinson & Preece, 1977). Debido al aumento de la susceptibilidad de las plantas frente a los patógenos y al efecto negativo de la aplicación de los agroquímicos al medio ambiente, varios trabajos como los de Baker y Cook (1974, citado por Dickinson & Preece, 1977), Baker (1987) y Cook (1988) cuestionaron el impacto del control químico a nivel foliar y, a su vez, hicieron nuevas consideraciones sobre el control biológico como una herramienta útil y ecológica, que incluida dentro de programas de manejo pudieran funcionar para el control de enfermedades.

A partir de esta premisa, los desarrollos de estrategias de manejo integrado de cultivos se enfocaron, desde sus inicios, en controlar los diferentes patógenos foliares y, al mismo tiempo, disminuir el uso de fungicidas químicos (Dickinson & Preece, 1977; Heydari & Pessarakli, 2010). La filósfera como patosistema fue destacada y sirvió como modelo para probar los conceptos y teorías ecológicas de un manejo integrado, efectivo y sostenible por la enorme heterogeneidad, debido a los diferentes factores bióticos y abióticos que allí se encuentran. Dentro de estos factores adversos característicos de la filósfera, se pueden mencionar las constantes fluctuaciones de temperatura, la escasez de nutrientes, los altos flujos de radiación, la humedad, los gases atmosféricos, la contaminación acuosa y la poca disponibilidad de agua (Elad, 1990; Kinkel, 1997; Whipps, Hand, Pink, & Bending, 2008).

Los primeros reportes de agentes biocontroladores foliares se realizaron hacia finales del siglo xx; sin embargo, para la década de los noventa, el progreso en el control biológico de patógenos foliares había sido lento. Para esta época el uso de microorganismos antagonistas tenía poca aplicabilidad y los desarrollos de productos que pudieron emplearse sobre el follaje de las plantas eran escasos. Esto hizo escasa la información disponible comparada con la reportada para el control de patógenos del suelo (Elad, 1990).

La limitada información con respecto a las investigaciones realizadas en el control biológico foliar se

atribuyó en parte a la inconsistencia de los resultados de eficacia, probablemente porque los antagonistas no eran favorecidos por las diferentes condiciones ambientales adversas, que dificultan la introducción, colonización y proliferación de los posibles agentes biocontroladores (Andrews & Harris, 2000; Elad, 1990; Jones, 1993).

Simultáneamente, para esa época se presentó un incremento en el número de casos en que los fungicidas dejaron de ser efectivos para en el control de enfermedades, debido al rápido desarrollo de resistencia de algunos patógenos frente a moléculas empleadas para su control o erradicación (Ruberson, 1999). Uno de los ejemplos más conocido es el caso de *B. cinerea*, que desarrolló resistencia frente a los ingredientes activos benzimidazoles y dicarbozimidas, implementados en las décadas de setenta y ochenta, respectivamente (Elad, 1990).

Adicional al reporte de resistencia a fungicidas, se presentó una creciente preocupación por los residuos químicos sobre frutas y hortalizas, y a su vez sobre el cuidado del medio ambiente. Esto llevó a que diferentes naciones establecieran directrices gubernamentales en las que se restringía el uso de algunos ingredientes activos. De esta manera, se incentivó positivamente el estudio, desarrollo y uso de métodos alternativos de control, que fueran amigables con el medio ambiente y que garantizaran la calidad e inocuidad de los alimentos (Dickinson & Preece, 1977).

Por consiguiente y con el objetivo de lograr avances significativos en el control biológico de patógenos foliares, fue necesario que las investigaciones de las últimas décadas se concentraran en estudiar a profundidad la diversidad de especies, en entender el ambiente foliar, el proceso de colonización y la dinámica de las poblaciones filosféricas (Andrews, 1990; Beattie & Lindow, 1995; Lindow & Leveau, 2002). Es claro que el control exitoso de los agentes que destruyen las plantas implica tanto el conocimiento profundo de la plaga que se desea combatir como de sus enemigos naturales (Dickinson & Preece, 1977). Desde finales del siglo xx e inicios del xxi, se han llevado a cabo diversos estudios que han profundizado sobre conceptos como el parasitismo y comensalismo, la producción de metabolitos y la antibiosis (Elad, 2003; Heydari & Pessarakli, 2010; Meyer & Leveau, 2012). Los trabajos anteriormente mencionados han descrito que el control biológico es el resultado de varias formas de interacción que dependen de las condiciones ambientales, del tipo de patógeno (biótrofos o necrótrofos), de la edad y especie de planta hospedera, de las prácticas de manejo cultural, de la aplicación de agroquímicos y del microorganismo antagonista, y de sus mecanismos de acción (Elad, 1990; Fokkema, 1993). Asimismo, dichos trabajos también han reportado un control exitoso similar al obtenido con fungicidas químicos sobre diferentes patógenos foliares importantes como *Erwinia amylovora*, *Colletotrichum capsici*, *Monilia fructicola* y *Botrytis cinerea*, entre otros (Lindow & Brandl, 2003; Sharma, Singh, & Singh, 2009).

Actualmente, gracias al desarrollo y disponibilidad de nuevas herramientas, se ha podido profundizar en el conocimiento de las diferentes comunidades microbianas que viven en la filósfera, en el funcionamiento ecosistémico y en los diferentes mecanismos de control empleados por los agentes de control exitosos (Peñuelas & Terradas, 2014). El avance en otras áreas ha permitido evaluar la toxicología, la compatibilidad de los microorganismos con diferentes agentes químicos y biológicos, y el impacto ambiental por el uso de estos; también, ha sido posible el desarrollo de técnicas moleculares en genómica, metabolómica y proteómica, que han jugado un papel importante, ya que no solo han permitido la caracterización y secuenciación de los genomas completos, sino también han permitido crear marcadores fenotípicos o genotípicos específicos (Wasik & Schiller, 2017; Wheeler & Madeira, 2017). Estos últimos han contribuido de manera significativa en la búsqueda y selección de microorganismos con potencial de uso en el control de fitopatógenos de alto impacto socioeconómico en el mundo (McSpadden-Gardener & Fravel, 2002).

No obstante, a pesar de todos los adelantos científicos que se han logrado hasta ahora en el control de patógenos foliares, aún quedan muchos desafíos y áreas por profundizar. Estas brechas probablemente irán siendo resueltas en la medida en que avance el desarrollo y la disponibilidad de nuevas herramientas, pero que en definitiva permitirán a la comunidad científica continuar con la generación de conocimiento y el desarrollo de tecnologías eficientes y sostenibles para el control de las enfermedades foliares.

Ecología de la filósfera, caulósfera y antósfera

Las plantas están pobladas por microrganismos tanto en la parte aérea como en las partes que se encuentran debajo del suelo, que interactúan entre sí, afectando su desempeño, calidad y productividad (Thapa, Prasanna, Ranjan, Velmourougane, & Ramakrishnan, 2017; Vorholt, 2012). Ruinen (1956) se refirió a la filósfera como la parte aérea de la planta o partes que se encuentra por encima de la tierra, que comprende el tallo (caulósfera), las flores (antósfera), las hojas (filoplano) y los frutos (carpósfera) (tabla 1.1) (Andrews & Harris, 2000; Shade, Jacques, & Barret, 2017). Estos hábitats albergan múltiples géneros microbianos, cuya cantidad y diversidad depende de factores como la zona climática (templada, tropical, fría, etc.); la época del año; la especie y edad de la planta hospedera; las especies de las plantas que habitan alrededor; el estado fisiológico; la producción de compuestos orgánicos volátiles y el manejo agronómico (Lemanceau et al., 2017; Redford & Fierer, 2009; Vorholt, 2012).

Tabla 1.1. Hábitats microbianos filosféricos asociados a las plantas

Antósfera	Hábitat microbiano asociado a las flores.
Carpósfera	Hábitat microbiano asociado a las frutas.
Caulósfera	Hábitat microbiano asociado a los tallos.
Endósfera	Hábitat microbiano localizado dentro de los tejidos de la planta.
Filósfera	El hábitat microbiano asociado a las hojas, que incluye filoplano y endósfera.

Fuente: Adaptado de Shade et al. (2017)

Dentro de los diferentes nichos que proporcionan las plantas, las hojas constituyen la estructura aérea dominante con aproximadamente 508.630.100 km^2 de área superficial, que incluye la parte superior e inferior de las hojas y representa un área de aproximadamente el doble de la superficie terrestre (Vorholt, 2012). Adicionalmente, se debe sumar el área disponible del tallo, flores y frutos, que puede ser colonizada por diversos géneros de bacterias, hongos filamentosos y levaduras, tanto epífitos (ubicando sobre la superficie) como endófitos, que colonizan dentro de los tejidos (Andrews, 1992; Arnold, Maynard, Gilbert, Coley, & Kursar, 2000).

La filósfera es considerada un ambiente dinámico y hostil, debido a las rápidas fluctuaciones de temperatura, la exposición a la radiación solar, la competencia por espacio, la contaminación presente en el medio circundante y la escasa disponibilidad de diferentes fuentes de carbono, nitrógeno y agua. Los nutrientes allí presentes determinan la población de microorganismos que ocupan ese nicho, permitiendo su colonización hasta cuando estos se agotan, lo que implica un cambio en sus atributos funcionales (Martirosyan & Steinberger, 2014; Mercier & Lindow, 2000; Thapa et al., 2017). La cantidad y calidad de nutrientes varía de acuerdo con la posición de la hoja, la edad de la planta y su facilidad de difusión; además, difieren en la superficie foliar, siendo en la zona abaxial de las hojas, en las venas y en las paredes de las células epidérmicas en donde se encuentra la mayor concentración (Andrews, 1992; Lindow & Andersen, 1996). Sin embargo, su disponibilidad también depende de factores como el régimen de humedad y la época del año (Andrews, 1992; Lindow & Brandl, 2003; Yoshida, Hiradate, Koitabashi, Kamo, & Tsushima, 2017). La glucosa, la fructosa y la sacarosa son los azúcares predominantes en la filósfera, aunque puede encontrarse una pequeña cantidad de otros azúcares, como galactosa y otros no identificados. Del promedio de 2,5 µg de azúcares totales por gramo de hoja no colonizada, 1,4 µg equivale a glucosa; no

obstante, estos valores pueden variar dependiendo de la especie de planta y de su estado nutricional (Andrews, 1992; Mercier & Lindow, 2000).

Los nutrientes de origen exógeno (por ejemplo, la ligamaza que es secretada por ciertos insectos que se nutren de la savia de las plantas, del excremento de pájaros e insectos y del polen) influyen sobre las comunidades microbianas que colonizan la filósfera. El efecto que tiene la ligamaza sobre ciertas especies de levaduras, como, por ejemplo, *Sporobolomyces roseus*, es una evidencia de la preferencia que tienen estos microorganismos para colonizar sitios con una elevada concentración de azúcares. Igualmente, se ha establecido que los nutrientes de origen exógeno sirven de alimento para otros insectos que despositan sustratos complejos como polen, que a su vez contribuye no solo el aumento de la disponibilidad de nutrientes en el ambiente, sino que elevan la población microbiana de manera temporal (Andrews, 1992).

Mercier y Lindow (2000) describieron que uno de los factores más limitantes para el crecimiento microbiano sobre la filósfera no es la presencia de nutrientes, sino su disponibilidad, puesto que en sus estudios detectaron la presencia de azúcares residuales en plantas que presentaban una alta población microbiana; estos autores la relacionaron con la alta presencia de agua disponible, que provocaba la difusión de los nutrientes y, en consecuencia, su utilización por los microorganismos.

Las plantas producen endógenamente diversos exudados sobre las hojas que incluyen variedad de carbohidratos, algunos aminoácidos, ácidos orgánicos, azúcares, alcoholes, trazas de elementos minerales, vitaminas y hormonas, estimados en rango inferior a 100 µg/mL (Andrews, 1992). Adicionalmente, las plantas tienen la capacidad de sintetizar compuestos orgánicos volátiles (voc, por su sigla en inglés), pertenecientes a los grupos de los fenoles y terpenoides, que no solo cumplen funciones esenciales en ellas, sino que también han sido objeto de estudio por sus posibles usos como fuentes de carbono y por sus propiedades antimicrobianas contra algunas bacterias y hongos fitopatógenos (Abanda-Nkpwatt, Krimm, Coiner, Schreiber, & Schwab, 2006; Andrews, 1992; Jacques, Kinkel, & Morris, 1995). Este tema se amplía en el capítulo 23, sobre los volátiles microbianos (mvoc) y su potencial en el control biológico de fitopatógenos e insectos.

En concordancia con lo anterior, Abanda-Nkpwatt et al. (2006) encontraron que la fresa (*Fragaria ananassa*) produce principalmente compuestos volátiles como el alcohol bencílico y el R/S-linalool liberados en la cutícula y el nonanal en las glándulas tricomas. Por otra parte, Ali, Sorkhoh, Salamah, Eliyas y Radwan (2012) y Al-Awadhi et al. (2012) reportaron el aislamiento de bacterias filosféricas pertenecientes a los géneros *Microbacterium* sp., *Kocuria* sp., *Arthrobacter* sp., *Agrococcus* sp., *Bacillus* sp., *Klebsiella* sp., *Planomicrobium* sp., *Rhodococcus* sp. y *Citrobacter* sp., a partir de diferentes especies de plantas, que emplean hidrocarburos asociados a las hojas de las plantas como fuentes de carbono para su crecimiento.

También se ha descrito que la presencia de ciertos microorganismos epífitos puede afectar la emisión de voc de diferentes maneras, debido a la producción y liberación de volátiles microbianos que se mezclan con los voc y afectan la fisiología vegetal, modifican la producción y emisión de voc, y metabolizan los voc emitidos por las plantas (Farré-Armengol, Filella, Llusia, & Peñuelas, 2016). Autores como Fincheira, Parra, Mutis, Parada y Quiroz (2017) y Al-Awadhi et al. (2012) han descrito que microorganismos como *Bacillus* sp. producen un voc bioactivo, que puede ser empleado para la inducción del crecimiento de especies hortícolas.

La producción de los voc, además de contribuir al crecimiento de algunos microorganismos específicos sobre las hojas, tiene la capacidad de inhibir el crecimiento de otros, favoreciendo que ciertas poblaciones bacterianas sobresalgan sobre otras. Un ejemplo de este efecto es el reportado por Abanda-Nkpwatt et al. (2006), quienes encontraron que el R-S-linalol inhibe el crecimiento del patógeno *B. cinerea* en concentraciones de 1 a 10 ppm, y a concentraciones superiores de 1.000 ppm puede inhibir completamente el crecimiento de diversos grupos bacterianos. De igual manera, se ha reportado un efecto similar con compuestos como el nonanal y el benzil alcohol, que también hacen parte de los compuestos volátiles emitidos por plantas. Fernando, Ramarathnam, Krishnamoorthy y Savchuk (2005), por su parte, reportaron que volátiles microbianos como el benzotiazol, ciclohexanol, n-decanal, dimetil trisulfuro, 2-etil 1-hexanol y nonanal inhiben el crecimiento micelial y la germinación del patógeno *Sclerotinia sclerotiorum*.

Para evaluar la biodiversidad microbiana de la filósfera, se debe tener en cuenta que las plantas cubren una significativa porción del globo terrestre y que cada una produce una gran cantidad de hojas que son habitadas, tanto cuantitativa como cualitativamente, por diversos agregados microbianos. Autores como Hirano y Upper (2000) y Lindow y Andersen (1996) han destacado la importancia de este ecosistema, mediante estudios en los que se ha evidenciado que cada hoja de una planta puede soportar una carga microbiana de aproximadamente 1 a 10 millones de microorganismos/cm^2, y que cada especie vegetal tiene la capacidad de atraer diferentes especies de microorganismos colonizadores, debido la producción de diferentes exudados y compuestos volátiles.

La adherencia de los microorganismos a las hojas inicia una vez estos entran en contacto con la superficie foliar, en donde, inicialmente, se presenta una serie de fuerzas fisicoquímicas no específicas pero irreversibles, debido a que el balance entre las fuerzas atractivas de London Van der Waals y las fuerzas electrostáticas es de repulsión; por esta razón, el primer balance de fuerzas entre los microorganismos y las hojas es débil a determinada distancia. No obstante, las interacciones hidrofóbicas o uniones químicas presentes entre las dos superficies pueden resultar en una fuerte adherencia en esta primera fase del proceso (Buck & Andrews, 1999).

La segunda fase se caracteriza por ser dependiente del tiempo y frecuentemente específica. En esta etapa, muchos microorganismos tienen la capacidad de producir polisacáridos extracelulares (EPS, por su sigla en inglés) para formar biopelículas que los mantengan adheridos a la superficie foliar y que les proporcionen resistencia frente a condiciones de estrés, cambios metabólicos y enemigos potenciales (Lindow & Brandl, 2003; Morris et al., 1998).

En cuanto a la distribución de los microorganismos sobre la filósfera, Hirano y Upper (2000) reportaron que estos se ubican principalmente sobre la superficie de la epidermis y en los espacios intracelulares (apoplastos) del mesófilo, sin penetrar las células de las plantas. Por otro lado, Andrews y Harris (2000) describieron que los microorganismos colonizan principalmente los estomas o apoplastos, porque pueden evitar la radiación solar, y las glándulas tricomas, porque les proporcionan los nutrientes necesarios para su desarrollo; también se han reportado microorganismos que, como mecanismo de supervivencia, desarrollaron capacidad de alterar la superficie en la que se encuentran, mediante la producción de compuestos microbianos con propiedad surfactante.

Entre los microorganismos con potencial biocontrolador que se han podido recuperar a partir de la superficie de las hojas, se han reportado bacterias de los géneros *Bacillus* spp., *Cichorium* sp., *Pseudomonas* spp., *Methylobacterium* sp., *Erwinia* spp., *Xanthomonas* spp., *Chromobacterium* spp. y *Klebsiella* spp. (Campbell, 1989; Fincheira et al., 2017; Hirano & Upper, 2000; Jacques et al., 1995), hongos de los órdenes Mucorales, Tremellales, Filobasidiales, Sporiodbolales, Polyporales, Auriculariales, Agaricales, Xylariales, Trichosphaeriales, Sordariales, Magnaporthales, Hypocreales, Glomerellales, Diaporthales, Chaetosphaeriales, Helotiales, Chaetothyriales, Pleosporales y Capnodiales (Izuno et al., 2016).

Dentro del grupo de hongos, se ha podido establecer que la superficie de las hojas se caracteriza por ser colonizada principalmente por una diversidad de levaduras, algunas comúnmente rosadas o rojas de los géneros *Rhodotorula* spp. y *Sporobolomyces* spp., y otras de color blanco del género *Cryptococcus* spp. (Buck & Andrews, 1999; Campbell, 1989). También se han reportado levaduras pertenecientes al género de *Candida* spp., *Pichia* spp., *Torulopsis* sp., *Aureobasidium* sp., *Sporobolomyces* spp. y *Tapian* sp. (Atlas & Bartha, 2002; Campbell, 1989; Inácio, Rodrigues, Sobral, & Fonseca, 2004; Wang & Bai, 2004), además de los hongos *Aureobasidium pullulans* y *Cladosporium* spp. (Campbell, 1989).

La colonización de la filósfera ocurre en función del inóculo disponible, del ambiente y del hospedero. Inicialmente, se ha reportado una mayor población bacteriana, seguida por un aumento en el número de levaduras y, finalmente, un incremento en la población de hongos filamentosos; sin embargo, este patrón puede verse influenciado por el grado de infestación de insectos, las prácticas de cultivo y eventos climáticos como precipitaciones, radiación, temperatura y humedad (Andrews, 1992; Yang, Crowley, Borneman, & Keen, 2001).

En términos espaciales, el patrón de colonización sobre las hojas es heterogéneo. Los sitios de mayor concentración están a lo largo de las venas y en las ranuras de las paredes de las células epidérmicas, posiblemente por la concentración de nutrientes, la retención de agua y como mecanismo de protección frente a la erosión. Autores como Andrews (1992) han descrito que, después de 30 horas posteriores a la colonización, las bacterias se concentran sobre las paredes anticlinales a lo largo de las venas, estomas y cerca de las glándulas, mientras que las levaduras se ubican en las paredes anticlinales, principalmente sobre la lámina o limbo.

En trabajos realizados por ecologistas microbianos, dedicados a investigar la diversidad de los microorganismos presentes en la superficie de las hojas y sus interacciones, se ha reportado la existencia de más de 85 especies de microorganismos diferentes presentes en 37 géneros de plantas como, por ejemplo, centeno, aceituna, remolacha y trigo (Yang et al., 2001). Además de los factores ya mencionados, que intervienen en la colonización de la superficie foliar y, por ende, en la biodiversidad, se debe tener en cuenta que el proceso de colonización implica una dinámica de inmigración, emigración, crecimiento y muerte de los microorganismos, así como el grado de multiplicación de estos para mantener una alta población que garantice su supervivencia (Jacques et al., 1995).

Por otra parte, el inóculo microbiano que se encuentra presente en el aire y que sirve como fuente de inmigración hacia nuevas hojas es crucial para la colonización de la filósfera. Esto fue demostrado por Jacques et al (1995), quienes evaluaron las diferentes edades y posiciones de las hojas respecto a los microorganismos presentes en ellas y su relación con los microorganismos presentes en el aire. Dichos autores reportaron que estos dos factores influyen tanto en la densidad de la población como en la diversidad, siendo las hojas viejas las que soportan una mayor cantidad de microorganismos en relación con las hojas nuevas; además, la población microbiana va aumentando conforme aumenta la edad de la planta; asimismo, encontraron que las hojas internas contienen una menor densidad de microorganismos que las hojas que se encuentran ubicadas en la parte externa.

Posteriormente, Lindow y Andersen (1996) encontraron que, así como la posición de las hojas es crucial para determinar el índice de la diversidad poblacional de los microorganismos, la ubicación del cultivo también juega un papel clave. Dichos autores evaluaron la influencia de inmigración sobre hojas de naranja Navel y encontraron que la presencia de otras especies de plantas alrededor del cultivo estuvo relacionada con una mayor diversidad de microorganismos con respecto a las que se encontraban rodeadas solamente por plantas de la misma especie.

El aire no es la única fuente de inmigración de microorganismos, ya que la actividad de insectos como vectores tiene una gran influencia. Además, esta inmigración se ve afectada por la dirección, la velocidad y la capacidad de carga del viento. Por otra parte, se debe tener en cuenta que la eficiencia de liberación de microorganismos es baja, lo que hace necesario recorrer una mayor cantidad de área foliar que permita recuperar un número suficiente de microorganismos para transportar (Lindow & Andersen, 1996).

Los microorganismos liberados a partir de las plantas aparentemente pueden mantenerse viables por períodos de tiempo suficientes como para ser transportados más de 100 m, y la capacidad de carga de células microbianas inmigrantes puede ser aproximadamente de 1.000 células por día. No obstante, este valor no garantiza la capacidad de colonización de la superficie foliar, ya que depende también de las características de las células inmigrantes de mantener la viabilidad frente a las condiciones de estrés encontradas durante su transporte (Lindow & Andersen, 1996).

Una vez trasportadas las células y depositadas en las nuevas hojas, los diferentes microorganismos deben tener la capacidad de mantener su población frente a las nuevas condiciones. Esto se debe a que no todas las especies de plantas proporcionan las mismas características, encontrándose que especies de plantas como las cítricas y los árboles de oliva soportan relativamente una menor población microbiana comparadas con otras. La razón por la cual se presenta esta diferencia no es clara hasta el momento, pero se relaciona con la presencia de una cutícula cerosa gruesa, que puede limitar la difusión de nutrientes dentro de la hoja, afectando así la multiplicación de los microorganismos (Lindow & Andersen, 1996).

Los microorganismos epífitos están directa y constantemente expuestos a factores abióticos extremos como,

por ejemplo, períodos de desecación, temperaturas muy altas o muy bajas, además de estar expuestos a los rayos solares, siendo estos los principales factores que generan estrés celular y afectan la supervivencia de las diversas poblaciones de microorganismos que habitan la filósfera (Truchado, Gil, Reboleiro, Rodelas, & Allende, 2017).

La radiación solar incluye la luz visible, la radiación ultravioleta (UV) y la radiación infrarroja (Lindow, Hecht-Poinar, & Elliott, 2004). La radiación solar que alcanza a penetrar la atmósfera terrestre se subdivide según su longitud de onda en UV-A (320-400 nm) y UV-B (280-320 nm), siendo esta última la de mayor energía y la que causa el efecto inhibitorio y daños directos en el ADN de los microorganismos. Por su parte, la UV-A causa daños indirectos al ADN, debido a la formación de especies reactivas de oxígeno que interactúan con el ADN y ocasionan la ruptura de las proteínas (Jacobs & Sundin, 2001).

Los rayos UV no producen iones inestables o radicales libres que interactúen con la materia viva de forma destructiva, porque no tienen actividad ionizante; sin embargo, sí pueden inactivar macromoléculas, debido a los cambios que causan en las moléculas absorbentes y que le dan origen a los fotoproductos que causan la inactivación (Atlas & Bartha, 2002; Iáñez, 1998). Por otro lado, la inactivación de proteínas o del ARNm en general no produce efectos de letalidad, ya que existen muchas copias de cada uno de estos tipos de macromoléculas y se pueden volver a sintetizar. En contraste, la inactivación del único cromosoma de la bacteria tiene efectos letales primarios y efectos mutagénicos secundarios (Iáñez, 1998).

Autores como Iáñez (1998) y Jacobs y Sundin (2001) han reportado que los fotoproductos generados en el ADN por los rayos UV se derivan principalmente de alteraciones en las bases pirimidínicas (citosina, timina). Estas alteraciones dan origen a la formación de fotoproductos como pirimidina (6-4) pirimidinona y el ciclobutano pirimidina. De ahí que las lesiones del ADN resulten en un bloqueo en la replicación de este y en la transcripción del ARN, llegando a ser letal en células que no cuenten con un mecanismo eficiente de reparación.

Por otro lado, se presentan diferentes sensibilidades frente a la radiación UV entre los diferentes microorganismos que habitan la filósfera. Se ha reportado que diversas especies de hongos y bacterias han desarrollado estrategias adaptativas contra la irradiación. Autores como Atlas y Bartha (2002) reportaron que los microorganismos que evidencian mayor crecimiento tienen la capacidad de producir pigmentos o desarrollaron una pared celular especializada que les sirve para protegerse, así como otras características que les permiten resistir a estas condiciones ambientales adversas. También pueden evadir las condiciones adversas ubicándose en sitos de sombra o dentro de glándulas o cavidades estomáticas (Atlas & Bartha, 2002; Jacobs & Sundin, 2001; Yoshida et al., 2017).

Diversos estudios de taxonomía numérica desarrollados para identificar la diversidad de los microorganismos que están presentes en filoplano han determinado que las bacterias que habitan las hojas de los pinos son más eficientes en la utilización de azúcares y alcoholes como fuentes de carbono, que las poblaciones que viven en las capas del mantillo. En contraste, las poblaciones bacterianas del mantillo tienen mayor actividad lipolítica y proteolítica que las bacterias que habitan en los pinos. Este resultado demuestra que la alta diversidad de especies de plantas está relacionada con una alta diversidad de microorganismos, muchos de los cuales podrían tener un alto potencial agroindustrial (Atlas & Bartha, 2002).

Entre las poblaciones microbianas de la superficie de las plantas ocurren interacciones positivas y negativas. Un ejemplo de estas es el crecimiento de levaduras osmofílicas que tienen la capacidad de disminuir la concentración de azúcares, haciendo que el hábitat sea más adecuado para la invasión por otras especies. Asimismo, las levaduras que habitan la superficie de los frutos pueden producir ácidos grasos insaturados que inhiben el desarrollo de poblaciones bacterianas gram-positivas, mientras que otras bacterias presentes en este mismo hábitat utilizan para su desarrollo factores de crecimiento como la tiamina y el ácido nicotínico, producidos por las levaduras; entre tanto, las levaduras utilizan para su crecimiento metabolitos producidos por algunas bacterias presentes en la filósfera (Atlas & Bartha, 2002).

En el caso de los hongos filosféricos, estos también pueden competir por nutrientes y espacio, además de parasitar a otros microorganismos, producir antibióticos

para limitar su desarrollo o usar interacciones sinérgicas —como las arriba descritas— para colonizar la superficie foliar (Lindow & Brandl, 2003).

Aunque los microorganismos antagonistas han surgido como una alternativa promisoria para reducir el uso de fungicidas químicos en el control de enfermedades (Moretto, Cervantes, Batista, & Kupper, 2014), su efectividad es variable y depende de factores como la dosis aplicada sobre la filósfera; la especie de la planta a la que se aplica; la aplicación de productos químicos como fertilizantes, fungicidas o insecticidas que favorecen la proliferación de una población específica; la presencia de metabolitos producidos por plantas u otros microorganismos, y factores abióticos como temperatura, radiación, disponibilidad de agua y nutrientes (Wang, Xue, Han, Bu, & Liu, 2014; Zhang et al., 2008a).

Por otra parte, el desarrollo de agentes biocontroladores también se ve limitado, debido a que estos frecuentemente son incapaces de controlar las infecciones ya establecidas, muchas de ellas causadas por patógenos quiescentes (Ippolito & Nigro, 2000). No obstante, la eficiencia de un agente de control biológico podría ser mejorada al integrarlos con el control químico dentro de una estrategia de manejo integrado, por lo que se ha propuesto la utilización de agentes biológicos junto con los fungicidas que sean compatibles o que puedan usarse secuencialmente (Errampalli & Brubacher, 2006; Shtienberg & Elad, 1997).

Esta estrategia ofrecería no solo la oportunidad de reducir la cantidad de fungicida aplicado tanto en pre como en poscosecha, sino también el nivel de residuos tóxicos en los productos comercializados (Ippolito & Nigro, 2000).

Principales agentes de control biológico de fitopatógenos foliares

Desde 1950, cuando se iniciaron algunos ensayos tendientes al control biológico de fitopatógenos foliares, son muchos los microorganismos que se han utilizado; tal es el caso de *Fusarium* spp. y *Penicillium claviforme*, aislados del cultivo de lechuga para para evitar el establecimiento primario de *Botrytis cinerea* (Newhook, 1951; Wood, 1951). *Cladosporium herbarum* controló el moho gris en fresa cuando se protegieron las flores bajo condiciones de campo (Bhatt & Vaughan, 1962). Varios hongos como *Alternaria alternata* y *Cladosporium cladosporioides* controlaron *S. sclerotiorum* en varios cultivos (Boland & Hunter, 1988; Whipps et al., 1993). *Trichoderma hamatum* redujo el moho gris de la vaina del fríjol, ocasionada por *B. cinerea* (Nelson & Powelson, 1998). Algunas especies de levaduras y bacterias también han sido reportadas como efectivas en el control de *B. cinerea* en fríjol y tomate (Elead, Köhl, & Fokkema, 1994b; Redmond, Marois, & MacDonald, 1987). Por ejemplo, *Bacillus brevis* redujo en un 64-71% el moho gris de la col china (Edwards & Seddon, 1992). Muchos otros microorganismos se han utilizado para controlar enfermedades foliares; sin embargo, se destacan la bacteria *Bacillus subtilis* y los géneros fúngicos *Trichoderma*, *Ampelomyces* y *Rhodotorula*, siendo *Trichoderma* spp. el microorganismo más utilizado, principalmente para el control de *B. cinerea* en uva (Dubos, 1992; O'Neill et al., 1996) y fresa (Tronsmo & Dennis, 1977).

Hongos en el control biológico de patógenos foliares

A continuación, se ampliará la información sobre varios de los hongos, tanto filamentosos como levaduras utilizados en el control biológico de patógenos foliares.

Hongos filamentosos

Trichoderma spp.

El género *Trichoderma* (Hypocreales, Ascomycota) incluye alrededor de 104 especies basadas en análisis moleculares. Varias de estas corresponden, en su fase sexual, a *Hypocrea* (Druzhinina, Kopchinskiy,

& Kubicek, 2006; International Subcommission on *Trichoderma* and *Hypocrea* Taxonomy [ISTH], 2017). Este género es un habitante del suelo (figura 1.8), cosmopolita, capaz de crecer en suelos nativos de pradera, de agricultura, de bosques, salinos, de desierto y en pantanos de todas las zonas climáticas (incluidas la Antártida, la tundra y las regiones tropicales); también se encuentran en lagos, en el aire, en la biomasa de plantas, en la vecindad de casi todos los tipos de especies de plantas vivas y en semillas (Mukherjee, Horwitz, Singh, Mukherjee, & Schmoll, 2013).

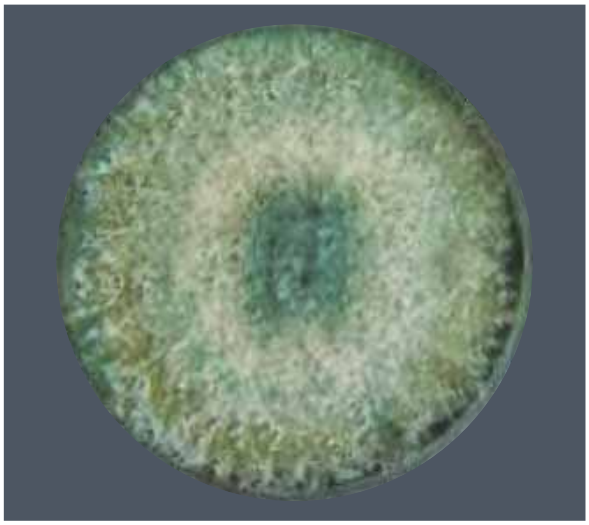
Además, se encuentran con frecuencia en la madera en descomposición (Samuels, 1996), y es económicamente importante como productora de enzimas industriales (*Trichoderma reesei*) (Kubicek & Penttila, 1998), de antibióticos (Sivasithamparam & Ghisalberti, 1998) y como biocontrolador de diversos fitopatógenos (Elad, 2000a; Harman, Howell, Viterbo, Chet, & Lorito, 2004), ya que puede crecer en asociación simbiótica/endofítica con las plantas para protegerlas de factores bióticos y abióticos (Mastouri, Björkman, & Harman, 2010; Shoresh, Harman, & Mastouri, 2010).

Este hongo ha demostrado ser resistente/tolerante a muchos plaguicidas utilizados en la agricultura (Chaparro, Carvajal, & Orduz, 2011; Goldman et al., 1993; Mukherjee, Sherkhane, & Murthy, 1999). Además, *Trichoderma* spp. es un fuerte invasor oportunista, de crecimiento rápido y prolífico productor de esporas (Schuster & Schmoll, 2010). Todas estas razones lo sitúan como un hongo ideal tanto para aplicaciones industriales como para su uso como bioplaguicida. La actividad biocontroladora de varias especies de *Trichoderma* ha sido ampliamente documentada (Elad, 2000a; Lorito, Woo, Harman & Monte, 2010; Moreno & Cotes, 2006; Moreno et al., 2007; Shoresh et al., 2010).

Son varios los ejemplos de control exitoso que se han logrado con el uso de la cepa T39 de *Trichoderma harzianum*, que puede considerarse como un modelo para el control de patógenos foliares, principalmente de *B. cinerea*, dada la gran cantidad de investigaciones realizadas con este microorganismo (Elad, 1994; Elad, 2000a; Elad & Freeman, 2002; Elad & Shtienberg, 1995; Elad & Stewrt, 2004; Elad et al., 1993b; Freeman et al., 2004; Guetsky et al., 2001; O'Neill et al., 1996; Paulitz & Bélanger, 2001; Perazzolli et al., 2008; Shafir et al., 2006). Esta cepa fue aislada del dosel del pepino (Elad, Zimand, Zaqs, Zuriel, & Chet, 1993a).

Debido al trabajo intensivo llevado a cabo en condiciones comerciales en el control moho gris de la vid (Elad, 1994; Elad & Shtienberg, 1995) y dado el control eficaz de *B. cinerea* en invernadero en diferentes cultivos en Israel (Elad, 1994; Elad & Zimand, 1991; Elad & Zimand, 1992) y en muchos otros países (Elad, 1994), esta cepa fue registrada bajo el nombre de Tricodex para el control de *B. cinerea* en campo (O'Neill et al., 1996) y en invernadero (Shtienberg & Elad, 1997), ya sea actuando sola o de forma integrada con fungicidas. Este aislamiento también mostró ser efectivo contra otras enfermedades como la cladosporiosis del tomate (*Fulvia fulva*) y el moho blanco (*Sclerotinia sclerotiorum*) en varios cultivos, incluido el pepino (Elad & Shtienberg, 1997). En varios estudios de invernadero y campo se demostró su actividad biocontroladora, como en el caso de trabajos realizados en el control de *B. cinerea*, *Pseudoperonospora cubensis* y *Sphaerotheca fusca* (sinónimo de *Sphaerotheca fuliginea*) en pepino, en condiciones comerciales de invernadero, en los que se obtuvieron porcentajes de control entre 35 y 78 % (Elad, 2000a). Cuando se evaluó en experimentos a gran escala usando diferentes frecuencias y dosis de aplicación, controló la antracnosis producida por *Colletotrichum acutatum* y por el moho gris (*B. cinerea*) en fresa, bajo condiciones controladas y en condiciones de invernadero (Freeman et al., 2004). En otros estudios, se demostró el efecto biocontrolador de *T. harzianum* T39 en el control preventivo del mildeo velloso de la vid, producido por *Plasmopara viticola*, bajo condiciones de invernadero, lográndose protección superior al 40 %, mediada por resistencia sistémica inducida (Perazzolli et al., 2008).

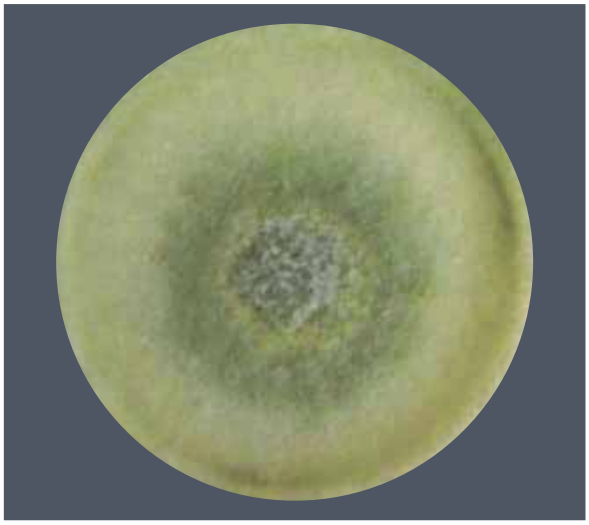
Otras especies de *Trichoderma* han sido utilizadas exitosamente para el control de patógenos foliares económicamente importantes; tal es el caso de *Trichoderma atroviride*, que ha sido utilizado para el control de *Cryphonectria parasítica* y de *B. cinerea* (Brunner et al., 2005; Dodd, Lieckfeldt, & Samuels, 2003). *Trichoderma koningiopsis* cepa Th003, aislada de suelo colombiano (previamente identificada como *Trichoderma koningii*), también ha producido un control efectivo de *B. cinerea* en tomate (Moreno & Cotes, 2006; Moreno et al., 2007) y mora (Zapata,



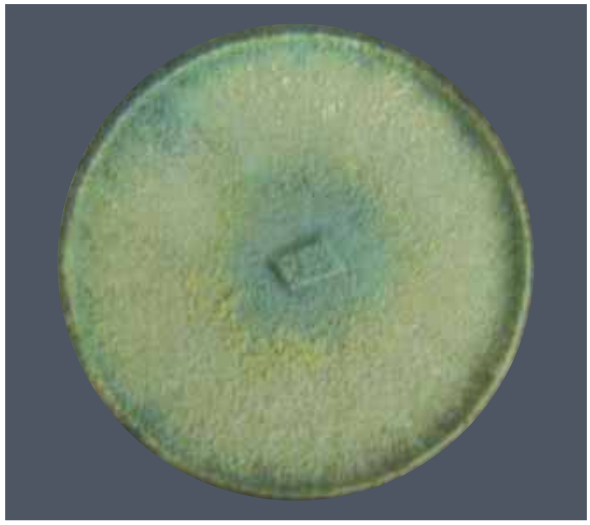
Trichoderma asperellum

Trichoderma atroviride

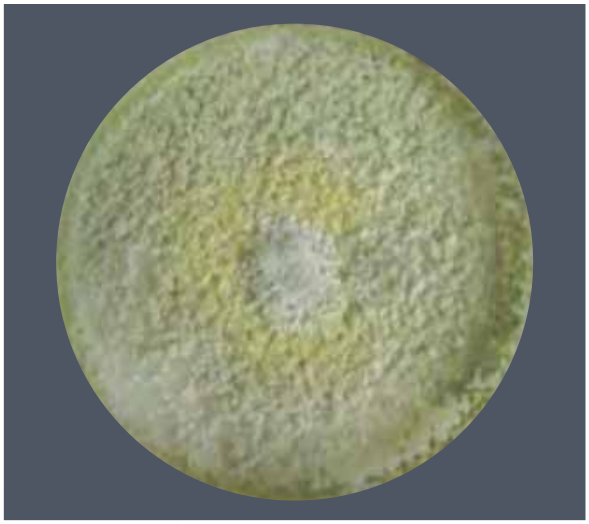
Fotos: Grupo de Control Biológico de Corpoica



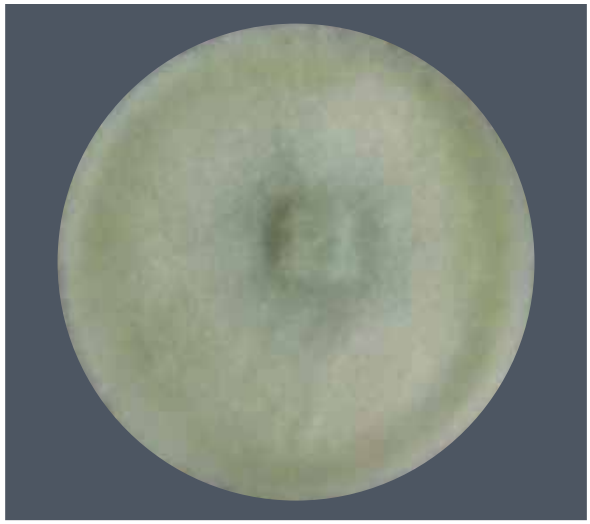
Trichoderma harzianum



Trichoderma koningiopsis



Trichoderma longibrachiatum



Trichoderma spirale

Figura 1.8. Aspecto macro y microscópico de varias especies de *Trichoderma* aisladas de suelo colombiano.

Acosta, Díaz, Villamizar, & Cotes, 2011); del mildeo polvoso en tomate (Moreno & Cotes, 2006), y del moho blanco de la lechuga (Cotes et al., 2007). Otras cepas de *Trichoderma* spp. han sido también utilizadas para el control de *Alternaria solani*, *Bipolaris oryzae*, *Pyricularia oryzae*, *Sphaerulina oryzina* (syn. *Cercospora janseana*, *Cercospora oryzae*) y *S. sclerotiorum* en tomate, papa y arroz (Prabhakaran, Prameeladevi, Sathiyabama, & Kamil, 2015). Por su parte, *T. afroharzianum*, en evaluaciones de campo a gran escala, produjo una reducción de la severidad de 43 % del mildeo polvoso producido por *Erysiphe necator* en cultivos de vid; además, mostró una alta tolerancia a los fungicidas comúnmente utilizados para el manejo de esta enfermedad (Sawant et al., 2017). *T. stromaticum*, en ensayos de campo en Perú, redujo en 48 % la escoba de bruja producida por *Crinipellis perniciosa* en el cultivo de cacao; sin embargo, este microorganismo no tuvo un efecto contra las enfermedades pudrición negra del fruto y moniliasis causadas por *Phytophthora* spp. y *Moniliophthora roreri*, respectivamente, en este cultivo (Krauss & Soberanis, 2002).

Ampelomyces quisqualis

Ampelomyces quisqualis es un hongo picnidial, Ascomycota, de la clase Dothideomycetes, orden Pleosporales y familia Phaeosphaeriaceae, que se encuentra comúnmente parasitando mildeos polvosos. A pesar de haberse descrito 18 especies, todas han sido mencionadas con *A. quisqualis* como sinónimo (Index Fungorum [IFS], 2017). Pintye et al. (2012) encontraron que *A. quisqualis sensu lato* está compuesto por varias especies crípticas reflejadas en clados claros en árboles filogenéticos, con diferencias de secuencia más allá de los límites de las especies. Estas especies crípticas son, sin embargo, morfológicamente indistinguibles y sus rangos de hospederos se superponen totalmente. Por lo tanto, en la actualidad se está desarrollando un proyecto para aclarar la nomenclatura y la taxonomía de estas especies, ya que hay 18 especies reportadas, que no son distinguibles basados en su morfología (Dayarathne et al., 2016).

Este hongo puede crecer de manera saprófita durante cortos períodos, pero tiene pocas posibilidades de sobrevivir durante períodos más largos en ambientes naturales sin parasitar al mildeo polvoso, ya que requiere agua para germinar y para infectar colonias del patógeno. Las infecciones pueden ocurrir en menos de 24 horas a 25 °C (Kiss, Russell, Szentiványi, Xu, & Jeffries, 2004; Sundheim & Krekling, 1982). *A. quisqualis* invade y crece sobre el mildeo polvoso, volviendo opacas, aplanadas y de color blanco a gris las colonias del patógeno (Hashioka & Nakai, 1980).

Ampelomyces spp. ha sido reportado en más de 65 especies vegetales (ocho géneros) de Erysiphaceae en todo el mundo; por ejemplo, ha sido reportado por Hino y Kato (1929), Belsare, Moniz y Deo (1980), Hijwegen y Buchenauer (1984), Tsay y Tung (1991), Kiss (1997, 1998). Sus interacciones con las plantas huéspedes y el mildeo polvoso lo han convertido en uno de los caos más evidentes de relaciones tritróficas en la naturaleza, aunque su estudio ha recibido poca atención en la ecología de hongos y plantas hasta ahora (Kiss et al., 2004).

El primer ensayo significativo de control biológico utilizando *Ampelomyces* fue llevado a cabo por Jarvis (1977). Desde entonces, ha habido muchos otros ejemplos positivos donde *Ampelomyces* se ha utilizado para controlar una amplia gama de mildeos polvosos en varios cultivos. Todos estos estudios allanaron el camino para la comercialización del producto desarrollado denominado AQ10 (Daoust & Hofstein, 1996; Hofstein, Daoust, & Aeschlimann, 1996).

Muchos trabajos han demostrado resultados positivos al evaluar *A. quisqualis* para el control de *Podosphaera leucotricha* en manzana, *Sphaerotheca* sp. en grosella negra, *Erysiphe communis* en remolacha, *Erysiphe umbelliferarum* y *Oidium* sp. en zanahoria, *Sphaerotheca* spp. en Cucurbitáceas, *Uncinula necator* en vid, *Oidium mangiferae* en mango, *Phyllactinia suffulta* en morera, *Leveillula taurica* en pimiento, *S. pannosa* en rosa, *Sphaerotheca macularis* f. sp. *fragariae* en fresa y *Erysiphe betae* en remolacha azucarera, entre otros (Kiss et al., 2004). Al respecto, Caffi, Legler, Bugiani y Rossi (2013) demostraron que las aplicaciones de *A. quisqualis* en viñedos, antes y después de la cosecha, redujeron la formación de ascocarpos del patógeno (chasmotecios), mientras que Legler, Caffi, Kiss, Pintye y Rossi (2011) y Legler et al. (2016) describieron la selección de una nueva cepa de *A. quisqualis* con parasitismo mejorado de chasmotecios de *Erysiphe necator*.

Otros hongos filamentosos

Otros mohos han sido utilizados en diversos cultivos; tal es el caso de los usados en el control biológico del patógeno causante de la costra negra en caucho: *Phyllachora huberi* (*Hevea brasiliensis*), en el que se utilizaron los hiperparásitos *Cylindrosporium concentricum* y *Dicyma pulvinata* (Junqueira & Gasparotto, 1991). Asimismo, utilizando *Clonostachys rosea* (antes *Gliocladium roseum*), se logró controlar el tizón de la hoja producido por *Botrytis squamosa* en cebolla (Sutton & Peng, 1993b) y *B. cinerea* en fresa (Peng, Sutton, & Kevan, 1992) y en rosa (Morandi, Sutton, & Maffia, 2000). Otros ejemplos del uso de este hongo incluyen el control de mildeos y enfermedades de césped (Sutton & Peng, 1993a; 1993b).

En otros trabajos se han utilizado los microorganismos *C. rosea*, *Penicillium* sp., *T. viride* y *C. gloeosporioides* en el control de *B. cinerea* en fresas (Peng & Sutton, 1991; Peng et al., 1992; Sutton & Peng, 1993b), así como *Gliocladium catenulatum*, vendido bajo el nombre comercial de Prestop®, que eficientemente controla Botrytis y otros hongos (McQuilken, Gemmell, & Lahdenperä, 2001) y *Lecanicillium lecanii*, *Microdochium nivale*, *Typhula idahoensis* y *Cladosporium cladosporioides*, utilizados para el control de *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*, agente causal de la roya amarilla o estriada del trigo (Torres et al., 2017; Zhan et al., 2014).

Asimismo, Cullen, Berbee y Andrews (1984) evaluaron el potencial de *Chaetomium globosum* para el control de la sarna del manzano, producida por *Venturia inaequalis*, encontrando que las aplicaciones semanales solo redujeron la enfermedad en un 20 %, haciendo poco promisorio este microorganismo para su desarrollo comercial. En contraste con la aplicación de *Athelia bombacina* (sinónimo *Microsphaeropsis ochracea*), se logró una reducción del inóculo primario del patógeno entre 60 y 100 %, dependiendo de la cantidad de inóculo biocontrolador utilizado (Carisse & Rolland, 2004; Heye, 1982; Miedtke & Kennel, 1990; Young & Andrews, 1990).

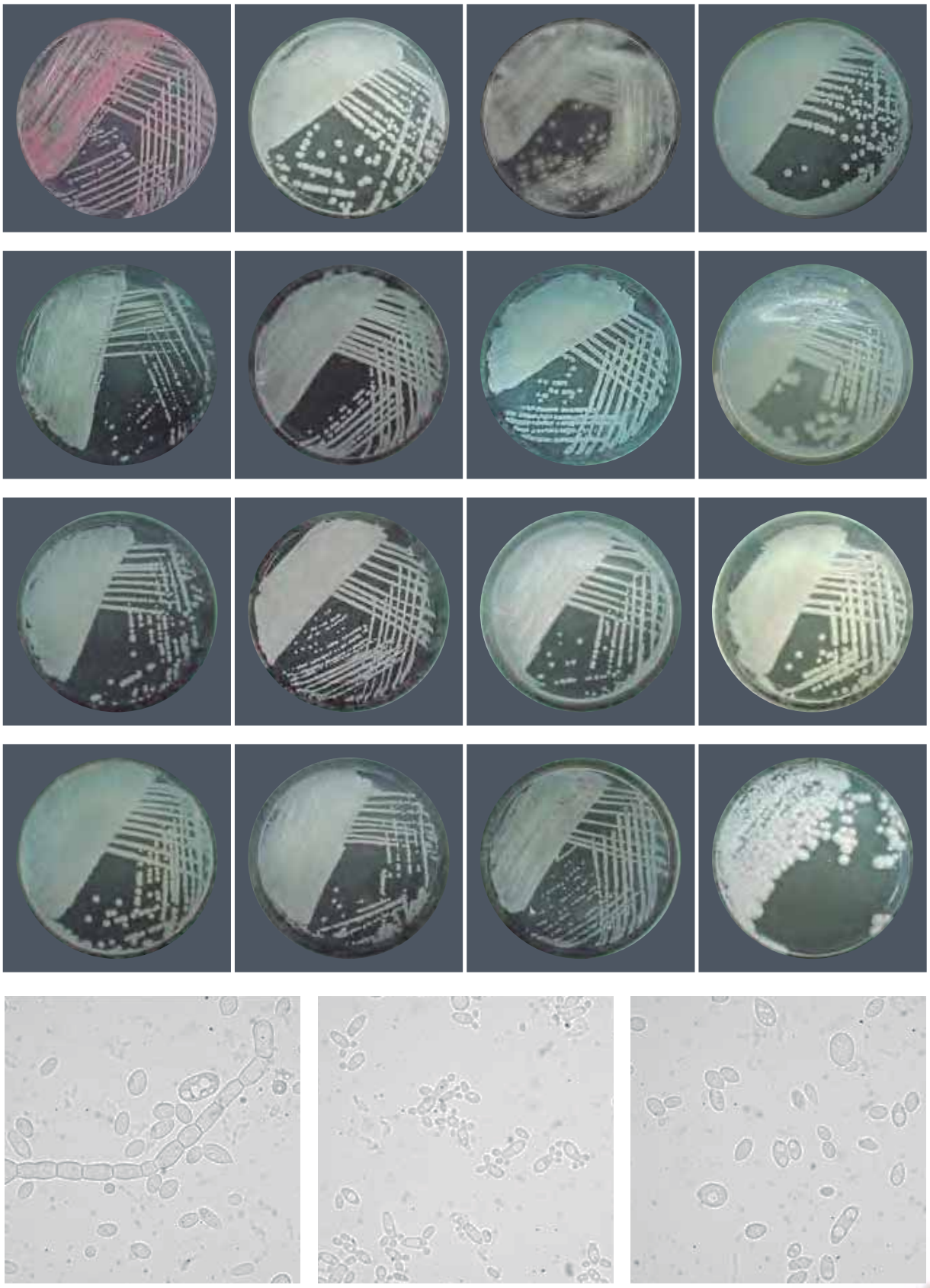
Levaduras

Varias levaduras epífitas que colonizan diferentes superficies planas (Fernández, Mestre, Marchelli, & Fontenla, 2012; Pusey, Stockwell, & Mazzola, 2009) (figura 1.9) tienen actividad biocontroladora, ya que proporcionan una barrera natural contra ciertos fitopatógenos (Avis, Caron, Boekhout, Hamelin, & Bélanger, 2001; Jacobsen, 2006; Robiglio, Sosa, Lutz, Lopes, & Sangorrín, 2011). Estas generalmente producen polisacáridos extracelulares, que al parecer las ayudan a sobrevivir en superficies de las plantas; también pueden metabolizar una amplia variedad de fuentes de nutrientes y tolerar una variedad de fungicidas basados en productos químicos (Buck & Burpee, 2002), características que pueden contribuir a su utilidad como agentes de biocontrol. Sin embargo, a pesar de que se han utilizado muchas levaduras, son limitados los ejemplos en los que se ha llegado al desarrollo de productos o de prototipos de bioplaguicida para su uso condiciones de precosecha en campo. A continuación, se mencionarán algunos ejemplos relevantes.

Pseudozyma spp.

Pseudozyma es un pequeño grupo de hongos similares a levaduras, clasificados dentro de los Basidiomycetes Ustilaginales (Boekhout, 1995). En su mayoría son epífitas o saprófitas y no son patógenas para las plantas y animales (incluyendo insectos) (Avis & Bélanger, 2002). *P. flocculosa* se aisló por primera vez como un antagonista del mildeo polvoso en condiciones ambientales diferentes. Los trabajos posteriores mostraron que era igualmente efectivo contra *Sphaerotheca pannosa* var. *rosae* y *Erysiphe graminis* f. sp. *tritici*, que son responsables del mildeo polvoso de la rosa y el trigo, respectivamente (Hajlaoui & Bélanger, 1991; 1993).

P. rugulosa y *P. flocculosa* se han reportado por su actividad biocontroladora contra los diferentes mildeos con los que están asociadas (Hammami, Castro, Rémus-Borel, Labbé, & Bélanger, 2011). *P. flocculosa*, por ejemplo, no penetra las células del patógeno, pero secreta un ácido graso inusual que tiene un efecto antibiótico contra el mildeo y otros patógenos (Avis et al., 2001). *Pseudozyma aphidis*, que normalmente se encuentra en secreciones de áfidos, también se ha encontrado en la filósfera; esta es un pariente cercano del agente de biocontrol *P. rugulosa* (Begerow, Bauer, & Boekhout, 2000), que también es capaz de producir colapso del mildeo del



Fotos: Grupo de Control Biológico de Corpoica

Figura 1.9. Aspecto macro y microscópico de varias cepas de levaduras aisladas de la filósfera de mora.

pepino (*Podosphaera xanthii* anteriormente *Sphaerotheca fuliginea*), ya que prolifera en el tejido infectado y produce hifas largas que parasitan las esporas e hifas del patógeno como un ectoparásito, lo que se traduce en una eficacia del 75 % (Gafni et al., 2015).

Rhodotorula spp.

Rhodotorula es una levadura común en el medio ambiente, ya que se encuentra en aire, suelo, aguas dulces de lagos, lagunas y ríos, y en el agua de mar (amplia distribución en la naturaleza). Su clasificación taxonómica es la siguiente: pertenece a la división Basidiomycota, clase Microbotryomycetes, orden Sporidiobolales y familia Sporidiobolaceae. Su teleomorfo pertenece al género *Rhodosporidium* (Hoog & Guarro, 1995; Larone & Howard, 1996).

R. glutinis tiene la capacidad de colonizar múltiples sustratos naturales (residuos agrícolas) y artificiales, debido a que puede crecer en una variedad de fuentes de carbono como glucosa, sacarosa y lactosa; además, presenta capacidad de adaptarse a ambientes extremos como aguas residuales de refinería (Aksu & Eren, 2007), yacimientos arqueológicos (Guamán-Burneo & Carvajal-Barriga, 2009), glaciares y ambientes ácidos (Libkind, 2007). *R. glutinis* ha sido aislado en reducidos casos de muestras clínicas y considerado como un patógeno emergente oportunista, dado que puede causar infecciones (fungemia) en pacientes inmunocomprometidos (Tuon & Costa, 2008).

La levadura antagonista, *Rhodotorula glutinis*, es un componente importante de la comunidad microbiana epífita en las superficies de las frutas y hortalizas (Elmer & Reglinski, 2006), y se ha propuesto para el control biológico del moho gris en manzana (Zhang et al., 2009), en fresa (Zhang et al., 2010; Zhang et al., 2007), en durazno (Zhang et al., 2008b), en pera (Zhang et al., 2008a) y en mora (Zapata et al., 2011; Zapata et al., 2013b). Por otra parte, Kalogiannis et al. (2006), al evaluar 30 aislamientos de levaduras de la filósfera de tomate, encontraron que la cepa Y-44 de *R. glutinis* redujo en 90 % la incidencia del moho gris bajo condiciones de invernadero, además de reducir en 50 % el porcentaje de heridas infectadas por *B. cinerea*.

Rhodotorula minuta suprimió eficientemente el desarrollo de la antracnosis del mango causada por *Colletotrichum gloeosporioides* en huertos comerciales durante tres temporadas de cosecha, cuando fue aplicada a intervalos mensuales. En esta investigación se demostró que la levadura colonizó el filoplano, compitiendo con el patógeno, lo que resultó en una reducción significativa de la infección de las frutas, ya que se redujo la severidad de la antracnosis del fruto a niveles equivalentes o mejores que el fungicida benomil (Patiño-Vera et al., 2005).

Otras levaduras

Otras levaduras epifíticas también han demostrado alta actividad biocontroladora contra *B. cinerea*; tal es el caso de *Pichia membranaefaciens*, que fue eficaz en el control de *B. cinerea* en cultivos de vid (Masih et al., 2001), ya que inhibió al patógeno por coagulación del citoplasma. Asimismo, Saligkarias, Gravanis y Epton (2002) reportaron niveles de control para *B. cinerea* en plantas de tomate cultivadas bajo invernadero del 83 % con las levaduras *Candida guilliermondii*, aislamientos 101 y US 7, y del 62 % con *Candida oleophila* I-182, al ser aplicadas 24 horas antes del patógeno (Saligkarias et al., 2002).

Cryptococcus albidus también mostró actividad biocontroladora contra el moho gris cuando fue aplicado a las hojas y flores de fríjol y tomate (Elead, Köhl, & Fokkema, 1994a, 1194b). *Metschnikowia fructicola*, aplicado antes de la cosecha en dos temporadas de cultivo de fresa, en ensayos bajo de invernadero, demostró ser igualmente efectivo que el fungicida Fenhexamid para el control de *B. cinerea* en las etapas previas a la cosecha. Por otra parte, en ensayos de campo, la incidencia de la enfermedad se redujo a niveles comercialmente aceptables en precosecha, además de reducir en un 64-72 % la pudrición de las frutas en poscosecha (Karabulut et al., 2004).

Aplicación de hongos biocontroladores usando entomovectores

El uso de las abejas forrajeras como diseminadores de bioplaguicidas garantiza que el agente biocontrolador llegue a las flores a medida que se abren (Albano et al., 2009; Mommaerts et al., 2010; Shafir et al., 2006). Además, las abejas diseminadoras proporcionan un servicio de polinización adicional, que conduce a un aumento del peso y del rendimiento del fruto (Garibaldi et al., 2015; Klatt et al., 2014; Tuohimetsä,

Hietaranta, Uosukainen, Kukkonen, & Karhu, 2014). El sistema implica varias interacciones entre el vector, el cultivo objetivo y el fitopatógeno (Kevan, Kapongo, Al-mazra'awi, & Shipp, 2008).

Varios hongos biocontroladores han sido utilizados exitosamente para el control del moho gris causado por *B. cinerea* en fresa, cuando son llevados por entomovectores (abejas o abejorros) a las flores, lo que conduce a la prevención de la enfermedad. Esto fue demostrado por Peng et al. (1992) quienes aplicaron mediante entomovectores el hongo *Gliocladium roseum* (sinónimo *Clonostachys rosea*). Otros autores evaluaron las cepas de *T. harzianum*, como la cepa 1295-22 de *T. harzianum* (Kovach, Petzoldt, & Harman, 2000); la cepa T39, aplicada como el producto formulado Tricodex (Bilu, Dag, Elad, & Shafir, 2004), y la cepa T-22 (Albano et al., 2009).

Bacterias en el control biológico de patógenos foliares

En varios trabajos se ha descrito el potencial de uso de diferentes bacterias en el control biológico en la filósfera, usándolas solas o en mezclas; por ejemplo, *Bacillus cereus* (Kokalis-Burelle et al., 1992), *Pseudomonas fluorescens* (Rabindran & Vidhyasekaran, 1996; Umesha, Dharmesh, Shetty, Krishnappa, & Shetty, 1998), *Bacillus subtilis* (Arya & Parashar, 2002), *Bacillus cereus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus pumilus*, *Brevibacillus laterosporus* y *Paenibacillus polymyxa* (Alippi, Perelló, Sisterna, Greco, & Cordo, 2000), *Pseudomonas syringae* (Völksch & May, 2001), *Nocardioides thermolilacinus* (Carrer Filho, Romeiro, & Garcia, 2008), *Pantoea agglomerans* (Sharma et al., 2009), *Paenibacillus lentimorbus* (Khan, Mishra, & Nautiyal, 2012), *Pseudomonas aeruginosa* (Maiti, Sen, Paul, & Acharya, 2012), *Streptomyces griseoviridis*, *Streptomyces lydicus* (Cuppels, Higham, & Traquair, 2013), *Streptomyces lavendulae*, *Streptomyces coelicolor* (Abdallah, Haroun, Gomah, El-Naggar, & Badr, 2013), *Serratia nematodiphila* (Khoa, Giàu, & Tuấn, 2016; Lee et al., 2017). Sin embargo, pocos de estos trabajos han conducido a desarrollo de productos y a evaluaciones de campo. A continuación, se profundizará en la presentación de algunas bacterias frecuentemente utilizadas.

Bacillus spp.

El género *Bacillus* pertenece a la división Firmicutes, familia Bacillaceae; se caracteriza por sus estructuras de bacilos gram-positivos y son aerobios estrictos o anaerobios facultativos, que en condiciones de estrés forman una endospora central de forma ovalada o cilíndrica, que le permite resistir condiciones desfavorables del ambiente. En general, son móviles, con flagelos perítricos (Turnbull, 1996).

Bacillus spp. se encuentra entre los agentes de control biológico bacterianos más potentes. Aunque se utiliza principalmente para controlar patógenos del suelo, esta bacteria ha sido usada en menor medida para el control de enfermedades foliares (Perelló & Mónaco, 2007). La capacidad de los bacilos para producir esporas los hace extremadamente resistentes a las altas temperaturas, pH desfavorables, radiación ultravioleta, desecación, congelación extrema, escasez de nutrientes y de agua, y desinfectantes químicos (Cano & Borucki, 1995). Estas esporas son producidas por *Bacillus* spp. cuando las condiciones ambientales son desfavorables (Nakano & Zuber, 1998), lo que les permite sobrevivir en la filósfera y controlar fitopatógenos. Las especies más utilizada en el control biológico de fitopatógenos son ubicuas, saprófitas, y se aíslan frecuentemente de suelo, de agua, de aire y de material vegetal en descomposición (Piggot & Hilbert, 2004).

Bacillus subtilis ha sido la bacteria más utilizada. Baker, Stavely y Mock (1985) lograron una reducción del 75 % de la roya del fríjol con tres aplicaciones semanales de esta bacteria, en comparación con el testigo, encontrando en varios ensayos que *B. subtilis* fue más efectivo que el fungicida Mancozeb. En otros trabajos, se demostró que esta bacteria también controló eficazmente la mancha foliar de la remolacha azucarera, producida por *Cercospora beticola* (Collins & Jacobsen, 2003), y varias enfermedades limitantes del tomate, como el tizón tardío, producido por *Phytophthora infestans*; el tizón temprano, ocasionado por *Alternaria* sp.; el mildeo polvoso, producido por *Oidium neolycopersici*, *Erysiphe orontii*, *Leveillula taurica*, y el moho de la hoja, producido por *Fulvia fulva* (Sultan, 2012). En un estudio reciente, se demostró que la cepa UD1022 de *B. subtilis* ejerció control de *Pseudomonas syringae* en *Arabidopsis thaliana* (Kumar & Purohit, 2012).

Por otra parte, Ali y Nadarajah (2014) demostraron que la aplicación en mezcla de *Trichoderma* spp. y de *B. subtilis* controló efectivamente *Magnaporthe grisea* en arroz. Además, *B. subtilis* también ha sido utilizado contra los hongos de la madera (*Phaeoacremonium aleophilum*, *Phaeomoniella chlamydospora*) en vid (Alfonzo, Conigliaro, Torta, Burruano, & Moschetti, 2009), contra la antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*) en chile (Ashwini & Srividya, 2014), contra la roya del fríjol (*Uromyces phaseoli*) (Baker et al., 1985), contra la cercosporiosis de la remolacha azucarera (Collins & Jacobsen, 2003), contra el mildeo velloso (*Peronospora, Pseudoperonospora*) en hortalizas (Fravel, 1999), contra la mancha negra del aguacate (*Pseudocercospora purpurea*) (Korsten, De Villiers, Wehner, & Kotzé, 1997), contra las bayas momificadas (*Monilinia vaccinii-corymbosi*) en arándano (Scherm, Ngugi, Savelle, & Edwards, 2004) y contra la sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*) en banano (Serrano, Manker, Brandi, & Cali, 2013).

Otras especies de *Bacillus* también se han utilizado contra diferentes fitopatógenos. *Bacillus amyloliquefaciens* FZB24 se ha evaluado exitosamente contra *Phytophthora*, contra las manchas de las hojas y el mildeo polvoso en hortalizas y cucurbitáceas (Bochow, El-Sayed, Junge, Stavropoulou, & Schmiedeknecht, 2001; Borriss, 2011) y contra la antracnosis (*Colletotrichum dematium*) en morera (Hiradate, Yoshida, Sugie, Yada, & Fujii, 2002). *Bacillus mycoides* se ha utilizado contra el moho gris (*Botrytis cinerea*) en fresa (Guetsky et al., 2001) y *B. pumilus* contra *Alternaria*, mildeo velloso, mildeo polvoso, roya negra y sigatoka negra en banano y en otros cultivos (Serrano et al., 2013).

Streptomyces spp.

Streptomyces es una bacteria gram-positiva, cosmopolita, perteneciente a la familia Streptomycetaceae y es el género más representativo dentro de las Actinobacterias (Kämpfer, 2006), que incluye cerca de 550 especies (National Center for Biotechnology Information [NCBI], 2017). Los miembros de *Streptomyces* son bien conocidos por su habilidad para producir una variedad de compuestos bioactivos con diferentes funciones como antibacteriano (Ramesh & Mathivanan, 2009; Ser et al., 2016), antimicótico (Lam, 2006) y antiviral (Ara, Bukhari, Aref, Shinwari, & Bakir, 2012). Varias cepas de este género han demostrado potencial para el control biológico de fitopatógenos foliares, especialmente de hongos tales como *Alternaria* (Tahvonen & Avikainen, 1987), *Phoma medicaginis* (Samac, Willert, McBride, & Kinkel, 2003), *Streptomyces scabies* (Hiltunen, Ojanpera, Kortemaa, Richter, Lehtonen, & Valkonen, 2009) y *Colletotrichum gloeosporioides* (Palaniyandi, Yang, Cheng, Meng, & Suh, 2011). En una investigación reciente sobre el control biológico de la piriculariosis, producida por el hongo *Magnaporthe oryzae* (anamorfo *Pyricularia oryzae*), se demostró potencial de diferentes especies de *Streptomyces* como agentes de control biológico altamente efectivos cuando se aplicaron a plántulas infectadas por el patógeno, resultando en hasta 88,3 % de reducción de la enfermedad bajo condiciones de invernadero (Law et al., 2017).

Micovirus en el control biológico de patógenos foliares

Los micovirus son un grupo de virus que habitan y se replican en células de hongos filamentosos, levaduras y oomicetos (Ghabrial & Suzuki, 2009). Los micovirus pueden usarse como agentes de control biológico de enfermedades fúngicas en las plantas. Algunos pueden atenuar la patogenicidad de sus hongos hospederos, ejerciendo así control biológico de las enfermedades fúngicas. Un ejemplo clásico lo representa la cepa RNA hipovirus Cryphonectria 1 (CHV1), utilizada para controlar el chancro del castaño causado por *Cryphonectria* (syn. *Endothia*) *parasítica* en Europa (Anagnostakis, 1982); sin embargo, los resultados no fueron muy prometedores. Contrariamente, cuando se utilizó esta cepa en Estados Unidos, se obtuvieron resultados satisfactorios, ya que existen grupos de compatibilidad vegetativa (VCG, por su sigla en inglés) en las poblaciones del patógeno *C. parasitica* en Estados Unidos, que los que existen en Europa, lo que permite la transmisión horizontal del micovirus y, en consecuencia, ocurre el control de la enfermedad (Milgroom & Cortesi, 2004).

Se ha sugerido que la identificación de cepas hipovirulentas de *Botrytis* podría representar una opción para el control de enfermedades causadas por *Botrytis* spp. Los micovirus de ARN que infectan a *Botrytis* se registraron por primera vez en 1995 y hasta ahora se

han registrado varias especies de micovirus ARN de cadena doble o simple (dsRNA o ssRNA por sus siglas en inglés), pertenecientes a Alpha flexiviridae, Gamma flexiviridae, Narnaviridae, Partitiviridae, Totiviridae y a una familia no asignada. Se ha demostrado en *B. cinerea* la cepa BcMV1 que atenúa el crecimiento micelial y la patogenicidad de su hospedero, que además presenta transmisión vertical de hifas a conidios y transmisión horizontal desde aislamientos hipovirulentos a aislamientos virulentos del patógeno (Wu, Zhang, Yang, & Li, 2016). En consecuencia, existe gran interés en el estudio de los micovirus de *Botrytis* y su utilización como una estrategia viable de control; sin embargo, todavía hay preguntas no resueltas sobre la propagación de los micovirus presentes en los aislamientos donantes y su transmisión a las cepas patogénicas, dado que las poblaciones de *B. cinerea* contiene al menos 66 grupos de compatibilidad vegetativa (Beever & Weeds, 2004), lo que potencialmente representa un gran obstáculo para el uso exitoso de dichos micovirus (Pearson & Bailey, 2013).

Control biológico de virus de plantas

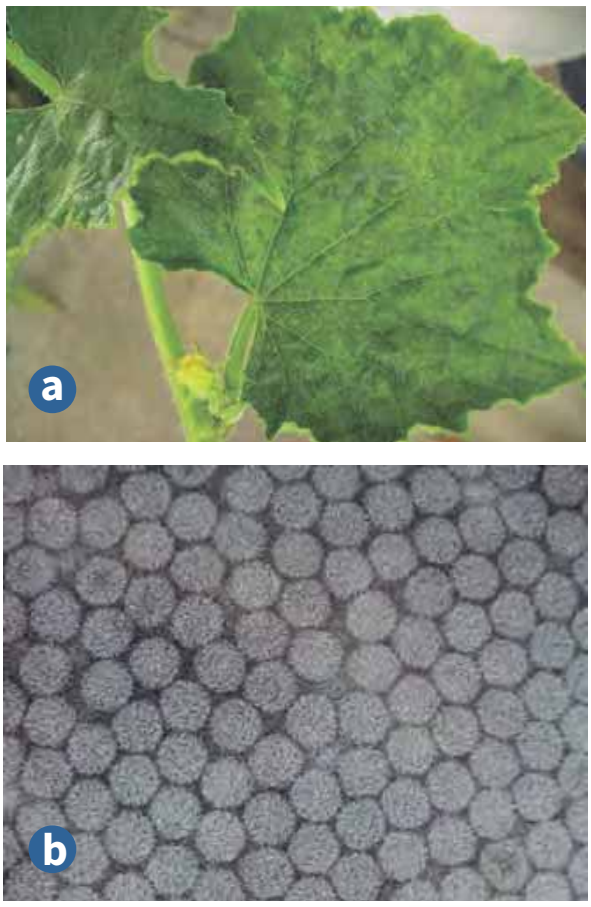
Más de 2.000 virus patógenos han sido reportados a nivel mundial por causar pérdidas económicas considerables, al afectar varias especies de plantas que son utilizadas por el hombre para diferentes objetivos (Hull, 2014). Por ejemplo, el virus del bronceado del tomate (*Tomato spotted wilt virus*) causa marchitamiento y necrosis, y el virus africano del mosaico de la yuca (*African cassava mosaic virus*) produce mosaicos severos y causan una disminución considerable del rendimiento de la planta (Thresh & Cooter, 2005).

Aunque el control de enfermedades virales mediante métodos químicos o biológicos es reciente y ha tenido poco desarrollo, en el presente capítulo se introducirán los fitopatógenos virales y se mostrarán algunas opciones para su manejo.

Daños en plantas causados por virus y sus características

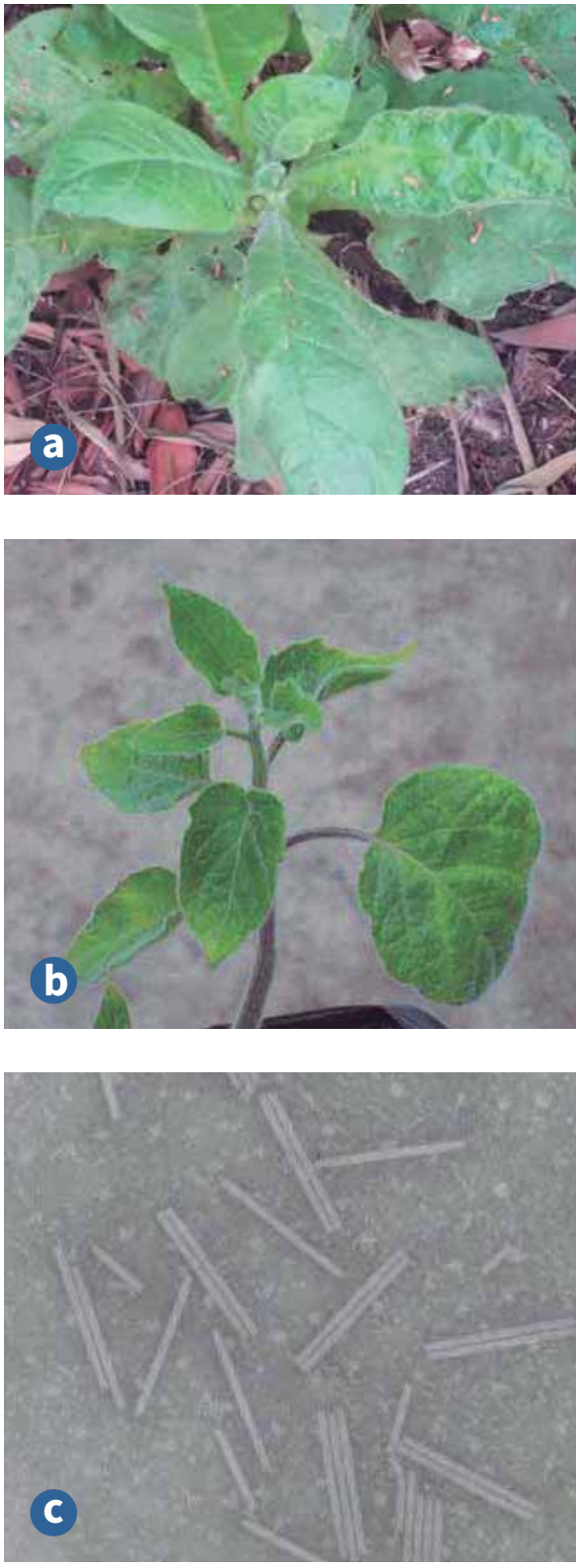
A nivel mundial, en el 2.002 se calculó que las pérdidas por enfermedades virales eran del 14,6 % de la producción de los cultivos, lo que equivale aproximadamente a 220 mil millones de dólares (Agrios, 2015).

Los virus de plantas son partículas muy pequeñas que solo se pueden reproducir dentro de las células vivas del hospedero y pueden causar infección. Las partículas virales consisten de material genético (la mayoría con arn y otros con adn) y una proteína de cubierta que protege estos genes que contienen el código genético mínimo para su replicación y protección. El mecanismo de replicación del virus depende completamente de las células y la maquinaria bioquímica del huésped, lo que hace difícil su control. En las figuras 1.10 y 1.11 se presentan plantas afectadas por diferentes virus.



Fotos: Sadao Kobayashi y Saroshi T. Ohki

Figura 1.10. Virus del mosaico del pepino (CMV). a. Síntomas típicos en hojas de pepino afectadas; b. Partículas del virus vistas al microscopio electrónico.



Fotos: Sadao Kobayashi y Satoshi T. Ohki

Figura 1.11. Virus del mosaico del tabaco (TMV). a. Síntomas típicos en hojas afectadas en tabaco; b. Síntomas típicos en hojas afectadas en uchuva; c. Partículas del virus vistas al microscopio electrónico.

Métodos de control de los virus de las plantas

Actualmente, existen varios métodos importantes para el control de virus en plantas, como el control de los vectores por medio del control biológico, el control cultural y el desarrollo y producción de vacunas que contienen virus atenuados o el desarrollo de agentes antivirales. Adicionalmente, también se recomienda el control cultural mediante el uso de semillas sanas y libres de virus, la propagación de cultivos a partir de meristemos certificados como libres de virus o la inserción de genes de resistencia en plantas susceptibles.

Control de vectores

Se conoce que la mayoría de los virus de plantas (alrededor del 76 %) son transmitidos por vectores como los artrópodos (áfidos, moscas blancas, trips, ácaros, cochinillas; saltahojas como *Sogatella furcifera*, *Nilaparvata lugens* y *Laodelphax striatellus*; saltaplantas como *Bothrogonia ferruginea* y *Recilia dorsalis*, y escarabajos); nematodos como *Xiphinema americanum* que trasmite el virus de la mancha anular del tabaco (TRSV, por las siglas de *Tobacco ringspot virus*) (McGuire, Kim, & Douthit, 1970), y algunos hongos como *Olpidium virulentus*, que transmite el virus Mirafiori o virus de la vena ancha de la lechuga (*Mirafiori lettuce big-vein virus*) (figura 1.12) (Momonoi, Mori, Matsuura, Moriwaki, & Morikawa, 2015).

Otros microorganismos transmisores de virus, clasificados como Protista, los representan los plasmodiofóridos; tal es el caso de *Polymyxa* spp., *Plasmodiophora* spp. y *Spongospora* spp., que afectan cereales, hortalizas y papa (Singh, Verma, & Varma, 2008). Dentro del grupo de los vectores, los más importantes son los áfidos, que transmiten el 55 % de los virus descritos en plantas (Hogenhout, Ammar, Whitfield, & Redinbaugh, 2008), siendo el control de estos insectos hemípteros uno de los métodos más importantes para manejar diferentes enfermedades virales de gran impacto. Varios microorganismos han demostrado ser eficaces en el control de los insectos vectores de

virus; tal es el caso de los hongos entomopatógenos *Lecanicillium lecanii, Beauveria bassiana, Paecilomyces tenuipes* (ver capítulo 6 de este libro sobre "Hongos entomopatógenos en el control biológico de insectos plaga"), y de bacterias entomopatógenas como *Bacillus thuringiensis* (ver capítulo 5 de este libro sobre "Bacterias entomopatógenas en el control biológico de insectos").

Fotos: Sadao Kobayashi

Figura 1.12. Síntomas típicos del virus de la vena ancha de la lechuga.

Vacunas o virus atenuados

Una planta que haya sido infectada con un virus en particular no puede infectarse con cepas diferentes del mismo virus o con virus estrechamente relacionados.

Este fenómeno se llama protección cruzada y fue descrito por primera vez para el virus del mosaico del tabaco (TMV) (McKinney, 1929). Posteriormente, Holmes (1934) planteó la posibilidad de desarrollar un virus atenuado de TMV que podría usarse en plantas de tomate, como una vacuna frente a otros virus similares. Esto significa que una cepa de un virus latente y asintomático o de un virus atenuado que se inocula previamente en una planta puede protegerla de la infección de una cepa virulenta sin causar daño.

Para la elaboración de vacunas con virus atenuados, el material genético debe ser seleccionado a partir de virus mutantes. Uno de los métodos más usados para el logro de mutantes es empleando tallos de plantas, que son infectados de manera sistemática y se almacenan

durante varias semanas a temperaturas desde -15 °C a 35 °C. Posteriormente, se induce la mutación por efecto de la radiación de luz ultravioleta o por suspensión en ácido nitroso. La savia de las hojas infectadas con el virus o solo la suspensión del ácido nucleico del virus se mantiene bajo irradiación ultravioleta o en una solución de ácido nitroso. Algunas veces, los virus mutantes atenuados se encuentran de manera latente en plantas hospederas infectadas, como por ejemplo el virus de la tristeza de los cítricos (*Citrus tristeza virus*) (Grant & Costa, 1951) y el virus de los brotes hinchados en cacao (*Cacao swollen-shoot virus*) (Hughes & Ollennu, 1994). Finalmente, los virus mutantes son seleccionados por aislamiento de una lesión y reinoculados en las plantas originales para seleccionar un aislamiento que no muestre ningún síntoma o que presente síntomas muy suaves (tabla 1.2).

Un virus atenuado debe tener las siguientes características: 1) que no produzca ningún síntoma o que los síntomas sean muy suaves y no causen reducción en los rendimientos del cultivo tratado; 2) que sea estable durante un largo período; 3) que no sea transmitido por vectores; 4) que proteja contra una amplia gama de virus y cepas; 5) que no cause lesiones severas en coinfección con otros virus; y 6) que sea fácil de multiplicar y conservar para usos prácticos.

El primer virus atenuado de TMV, denominado L11A, fue seleccionado a partir de cepas avirulentas que fueron obtenidas de tallos de tomate inoculados con el virus e incubados a 35 °C durante 14 días (tabla 1.2). Desde entonces, y por más de 30 años, este virus ha sido usado para proteger de la infección por cepas virulentas al tomate cultivado bajo condiciones de invernadero (Oshima, 1981) (tabla 1.2). Otro ejemplo de virus atenuado es la cepa ZYMV-2002, del virus del mosaico amarillo del calabacín (*Zucchini yellow mosaic virus*), que se encuentra registrado en Japón desde el 2011 como un producto "químico agrícola" liofilizado. Estos virus atenuados han mostrado un comportamiento excelente, teniendo en cuenta que no se ha reportado una reducción en el rendimiento de la producción, en comparación con la reducción causada por la cepa virulenta. Es importante resaltar que obtener virus atenuados es un proceso complicado y su punto débil es que solo son efectivos para prevenir la infección causada por el mismo virus activo o por una cepa muy cercana.

Inicialmente, se creía que el modo de acción de los virus atenuados era la producción por parte de la planta de varias réplicas de proteínas de la cubierta viral, que impiden que, al momento de la infección, el virus virulento pueda quedar sin la cubierta para poder iniciar su replicación (Beachy, 1999). Es importante mencionar que, para que la vacuna pueda ser efectiva en el control de la enfermedad, las proteínas deben ser específicas para cada virus.

Otro modo de acción de los virus atenuados es el silenciamiento del ARN como una reacción de defensa de la planta hospedera. Un ejemplo de este mecanismo es el virus atenuado o cepa L11A de TMV, que tiene en su ARN 11 substituciones de bases, comparado con su cepa virulenta L (Nishiguchi et al., 1985). Este cambio fue causado por una mutación en la proteína de 130k Da, de la cepa L11A, que controla el silenciamiento del ARN y que muestra menos actividad que la virulenta (Kubota, Tsuda, Tamai, & Meshi, 2003).

Otro ejemplo de virus atenuado corresponde a la cepa CM95 del virus del mosaico de pepino (CMV, por las siglas de *Cucumber mosaic virus*), que presenta una mutación en la proteína 2b (Nakazono-Nagaoka, Sato, Kosaka, & Natsuaki, 2004) y actúa como supresor de silenciamiento del ARN (Brigneti et al., 1998; Ding, Li, & Symons, 1995) (tabla 1.2). La cepa ZYMV-2002 del virus del mosaico amarillo del calabacín (*Zucchini yellow mosaic virus*) tiene cuatro sustituciones de aminoácidos en la proteína multifunción HC-Pro (*helper component protein*), cuya función es actuar como un silenciador del supresor y también de la HC-Pro, que es requerida para la transmisión por áfidos. La mutación de la proteína del componente auxiliar HC-Pro evidenció la pérdida de la capacidad de transmisión por áfidos del ZYMV-2002, lo que demostró que no pudo multiplicarse de forma natural (Hokama, Kawano, & Tokashiki, 1993).

Algunos de los virus atenuados tienen ARN satélite, que es una pequeña secuencia de ARN que depende de un virus cooperante o auxiliar (*helper* o máster), necesario para su replicación. A menudo el ARN satélite actúa sobre la multiplicación o sobre los síntomas causados por el virus auxiliar (Roossinck, Sleat, & Palukaitis, 1992). Un ejemplo bien conocido es la cepa atenuada de CMV, que se produjo por unión de su ARN satélite, para controlar la enfermedad causada por este virus (Yoshida, Goto, & Iizuka, 1985).

Tabla 1.2. Principales virus atenuados usados para la protección cruzada en plantas

Virus	Cepa/ Aislamiento	Método de obtención	País	Cultivo	Reporte
Virus de la tristeza de los cítricos *(Citrus tristeza virus)*	HM55a	a	Japón	Cítricos	Sasaki (1974)
	M-16A	b	Japón		Ieki et al. (1997)
	Cepas inactivas	a	Brasil		Costa y Müller (1980)
Virus del mosaico del moteado verde del pepino *(Cucumber green mottle mosaic virus)*	SH33b	b, d, e	Japón	Melón	Motoyoshi y Nishiguchi (1988)
Virus del mosaico del pepino *(Cucumber mosaic virus)*	S51	a, f	China	Tomate	Tien y Wu (1991)
	S52	a, f	China	Tomate	Tien y Wu (1991)
	KO3	a, f	Japón	Tomate	Sayama et al. (1993)
	CM95	a	Japón	Pepino, etc.	Kosaka y Fukunishi (1997)
Virus de mosaico de brotes hinchados de cacao *(Cocoa swollen shoot mosaic virus)*	Cepas inactivas	a	Ghana	Cacao	Hughes y Ollennu (1994)
Virus del moteado atenuado del pimiento *(Pepper mild mottle virus)*	Pa18	b	Japón	Pimienta	Goto et al. (1984)
	C-1421	b	Japón		Nagai (1987)
Virus de la mancha anular de la papaya *(Papaya ringspot virus)*	HA5-1	d	EE. UU., Taiwán	Papaya	Yeh y Gonsalves (1984)
Virus del mosaico de la soja *(Soybean mosaic virus)*	Ala15-M2	c	Japón	Soya	Kosaka y Fukunishi (1993)
Virus del mosaico del tabaco *(Tobacco mosaic virus)*	M	b	EE. UU.	Tabaco	Holmes (1934)

(Continúa)

(Continuación tabla 1.2)

Virus	Cepa/ Aislamiento	Método de obtención	País	Cultivo	Reporte
Virus del mosaico del tomate *(Tomato mosaic virus)*	L11A	b	Japón	Tomate	Goto y Nemoto (1971); Oshima (1981)
	MII-16	d	Holanda, Reino Unido, etc.		Rast (1975)
	K	d	China		Yang et al. (2002)
Virus del mosaico amarillo del calabacín *(Zucchini yellow mosaic virus)*	ZY95	c, d	Japón	Pepino	Kosaka y Fukunishi (1997)

*Método: a. Selección natural; b. Alta temperatura; c. Baja temperatura; d. Ácido Nitroso; e. Radiación ultravioleta; f. RNA satélite.
Fuente: Adaptada de Nishiguchi & Kobayashi (2011)

Agentes antivirales

Allard (1915) reportó el primer inhibidor de una infección causada por fitovirus, a partir de una proteína antiviral extraída de la planta conocida como hierba carmín (*Phytolacca americana*). Hasta el momento, se han examinado muchos materiales vegetales para evaluar el control de los virus de las plantas. Entre los antivirales de origen vegetal, la proteína antiviral PAP, aislada de *P. americana*, es bien conocida (Duggar & Armstrong, 1925). Otros antivirales de proteínas aisladas son la glicoproteína Dianthina del clavel (*Dianthus caryophyllus*) (Stirpe, Williams, Onyon, Legg, & Stevens, 1981), la proteína antiviral MAP de *Mirabilis jalapa* (Kubo, Ikeda, Imaizumi, Takanami, & Mikami, 1990), IRIP de *Iris hollandica* (Van Damme et al., 1997), Trichosanthin de *Trichosanthes kirilowii* (Lam et al., 1996) y Figaren de *Cucumis figarei* (Fujiwara, Kanamori, Ohki, & Osaki, 2001).

Estos inhibidores son proteínas inactivadoras de ribosomas (PIR), que muestran actividad antiviral frente a virus de plantas y animales (Barbieri, Battelli, & Stirpe, 1993). Adicionalmente, estas proteínas o glicoproteínas vegetales parecen bloquear específicamente los sitios de infección en las plantas y no inhiben la transmisión por áfidos.

Además de las PIR, se ha reportado que el filtrado del caldo de cultivo de crecimiento de algunos hongos causa reducción de la infección viral en plantas. Un ejemplo de esta actividad es la demostrada para el hongo patógeno *Trichothecium roseum*, que causa putrefacción rosada en varias frutas y hortalizas, pero se caracteriza porque produce un polisacárido llamado T-poli, que induce resistencia sistémica en las plantas, contrarrestando la infección viral (Gupta, Chandra, Verma, & Verma, 1974).

Otros inductores de resistencia sistémica han sido aislados a partir de *Fomes fomentarius* (BAS, polisacárido) (Aoki et al., 1993), *Phytophthora megasperma* (glicoproteína) (Parker, Schulte, Hahlbrock, & Scheel, 1991), *Boerhavia diffusa* (glicoproteína) (Verma & Awasthi, 1980), *Clerodendrum aculeatum* (proteína) (Verma, 1994), *Cyamopsis tetragonoloba* (proteína) (Khan & Verma, 1990), *Bougainvillea spectabilis* (proteína) (Verma & Dwivedi, 1984). El modo de acción de estos no está claro, pero se sabe que no actúan directamente sobre el virus y que el agente inhibidor se sintetiza en plantas inoculadas con el inductor y no

en plantas inoculadas con virus. Esto fue demostrado por Verma y Dwivedi (1984), quienes reportaron que el agente antiviral fue producido en las hojas basales de plantas tratadas con el extracto de raíz de *Boerhavia diffusa* (sin inoculación de virus). En el mismo trabajo (Verma & Dwivedi, 1984), la proteína inducida por *B. diffusa* fue eficaz no solo en plantas de su misma especie, sino también en otras especies, en las que se produjo inducción de resistencia sistémica causando reducción de la infección viral.

Un ejemplo del uso de este tipo de control es el adoptado por los agricultores japoneses, quienes cultivan Shiitake (*Lentinula edodes*) en restos de caña de azúcar y aplican Lentemin®, que es un extracto de medio de cultivo que está registrado y se comercializa para evitar la infección por virus en cultivos de tomate, pimiento verde, pepino, melón y orquídeas (Kobayashi, Hiramatsu, & Akatsuka, 1987).

Todos los agentes mencionados anteriormente actúan como inhibidores de la infección viral, pero no son inhibidores de su multiplicación. En contraste, el antibiótico Blasticidin S, que se usaba como fungicida en arroz, mostró actividad antiviral (Hirai et al., 1966) al inhibir la síntesis de proteínas, y al parecer también la síntesis viral de la polimerasa.

No obstante, aunque los agentes antivirales tienen la ventaja de poder controlar varios virus al tiempo, están muy lejos de poder ser implementados dentro de estrategias de manejo, puesto que son muy pocos los intentos de evaluarlos bajo condiciones de campo.

Herramientas biotecnológicas para el control de fitovirus

El ácido nucleico viral tiene al menos tres genes: uno para codificar la proteína de la cubierta, otro para la enzima replicasa y otro para la proteína de movimiento. Estos tres pueden ser los objetivos para el desarrollo de estrategias de control biotecnológico. El TMV es el modelo pionero y se ha utilizado para la primera prueba real de la resistencia mediada por la proteína de la cubierta (Abel et al., 1986), la resistencia mediada por la replicasa (Golemboski, Lomonossoff, & Zaitlin, 1990) y la resistencia mediada por la proteína de movimiento (Deom et al., 1990).

Una vez el virus invade una célula de la planta, la cápside se desarma y su ácido nucleico penetra en el núcleo para la traducción y su posterior replicación. Con base en esto, se ha demostrado que cuando a una planta, antes de que sea infectada por el virus, se le transfiere un gen que codifica para alguna proteína de cápside y esta es replicada y sintetizada, puede inhibir tanto el proceso de replicación del virus como el recubrimiento del virus invasor. En la actualidad, se ha demostrado que este método es eficiente en la prevención o reducción de la infección y la enfermedad causada por virus idénticos y estrechamente relacionados. Adicionalmente, también se ha reportado protección mediada por proteínas de cubierta para TMV (Sanders et al., 1992), CMV (Shigetou, Kaishu, Gonsalves, Gonsalves, & Slightom, 1991), el virus X de la papa (PVX, por las siglas de *Potato virus X*) (Hemenway, Fang, Kaniewski, Chua, & Tumer, 1988), el virus Y de la papa (PVY, por las siglas de *Potato virus Y*) (Perlak, Kaniewski, Lawson, Vincent, & Feldman, 1994) y el virus de la mancha anular de la papaya (PRSV, por las siglas de *Papaya ringspot virus*) (Kaniewski, Lawson, & Thomas, 1993).

Uno de los ejemplos exitosos de este mecanismo de acción es la resistencia de las plantas de papaya a PRSV, que causó graves pérdidas en los principales países productores. La planta de papaya transgénica llamada Rainbow o línea 51-5, a la que se le transfirió el gen que codifica una proteína de la cubierta viral de este virus cepa HA5-1, demostró ser resistente frente a la infección del virus y se empezó a comercializar desde 1998 en Hawaii (Fitch, Manshardt, Gonsalves, Slightom, & Sanford, 1992). Es importante aclarar que, aunque las plantas Rainbow 51-1 contienen un gen que codifica una proteína viral, la resistencia no se debe a la inhibición del revestimiento del virus como tal, sino que se atribuye al silenciamiento del gen (Ruanjan, Kertbundit, & Juříček, 2007).

También se reportó la resistencia mediada por la replicasa, cuyo gen se introdujo en plantas empleando biotecnología, frente a PVX (Audy, Palukaitis, Slack, & Zaitlin, 1994), al virus del mosaico de la alfalfa (AMV, por las siglas de *Alfalfa mosaic virus*) (Brederode, Taschner, Posthumus, & Bol, 1995), al CMV (Hellwald & Palukaitis, 1995), al virus del rizado amarillo del tomate (TYLCV, por las siglas de *Tomato yellow leaf curl virus*) (Noris et al., 1996) y a TMV. Las plantas transgénicas resistentes a TMV contienen una

secuencia que codifica un fragmento de 54 kDa de la enzima replicasa, sin que la proteína sea detectada posteriormente en las células (Golemboski et al., 1990). Por eso, la resistencia mediada por ARN viral puede considerarse en plantas como un ejemplo de silenciamiento de genes post-transcripcional (Prins et al., 2008).

La proteína de movimiento codificada por el virus ayuda a las partículas virales o al ácido nucleico viral a moverse de una célula a las células vecinas, por vía plasmodesmos. Las plantas transgénicas en las que se altera la acumulación de las proteínas de movimiento evidenciaron resistencia frente a TMV (Deom et al., 1990). Posteriormente, Cooper, Lapidot, Heick, Dodds y Beach (1995) describieron que las plantas de tabaco transgénicas, con este mecanismo, no solo mostraron un alto nivel de resistencia a TMV (Tobamovirus), sino también frente a virus no relacionados como el virus del cascabeleo del tabaco (TRV, por las siglas de *Tobacco rattle virus*) (Tobravirus), el virus de la estría clorótica del maní (PCISV, por las siglas de *Peanut chlorotic streak virus*), (Caulimovirus), el virus de la mancha anillada del tabaco (TRSV, por las siglas de *Tobacco ringspot virus*) (Nepovirus), el virus del mosaico de la alfalfa AMV (Alfamovirus) y el CMV (Cucumovirus).

Otros ejemplos de plantas transgénicas que han sido comercializadas corresponden a las que evidencian resistencia frente a ZYMV y al virus del mosaico de la sandía (WMV, por las siglas de *Watermelon mosaic virus*) (Fuchs & Gonsalves, 1995), así como plantas de papa que han demostrado resistencia frente al virus del enrollamiento de la hoja de papa (PLRV, por las siglas de *Potato leafroll virus*) y a PVY, entre otras (International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications [ISAAA], 2017).

Como se ha ilustrado en este capítulo, la ingeniería genética es un método de control muy eficaz para contrarrestar las infecciones virales en una amplia gama de cultivos, ya que consiste en una tecnología rápida y exacta para obtener plantas resistentes a los virus. Es importante resaltar que los cultivos transgénicos o los virus transformados están sujetos a normas de bioseguridad, por los posibles impactos negativos que pueden tener sobre el medio ambiente y la salud humana, sin que se haya reportado algún tipo de problema.

A pesar de las grandes ventajas del uso de plantas transgénicas resistentes a virus, su uso es muy limitado. Se estima que el área global de cultivos genéticamente modificados por país en el 2016 fue así: en EE. UU., 72,9 millones de ha (39,4 %); en Brasil, 49,1 millones de ha (26,5 %); en Argentina, 23,8 millones de ha (12,9 %); en Canadá, 11,6 millones de ha (6,2 %), y en India, 10,8 millones ha (5,8 %), entre otros; el área cultivada dentro de estos cinco países es de 168,2 millones de ha (90,9 %) (ISAAA, 2017). Este dato indica que, incluso en los países donde esta tecnología es adoptada, su uso sigue siendo limitado, principalmente por la baja aceptación pública; por esta razón, se debe continuar realizando estudios, con el fin de demostrar que las plantas transgénicas son seguras y aún hay un largo camino por explorar.

Modos de acción de los biocontroladores de patógenos foliares

La actividad biocontroladora de fitopatógenos foliares depende de diversos mecanismos de acción, como la competencia por espacio y por nutrientes, el hiperparasitismo, la lisis, la antibiosis, la inducción de resistencia en la planta hospedera, la restricción de los factores de patogenicidad, la reducción de la capacidad saprofítica del patógeno —cuando esta existe— y la diseminación de sus esporas. En general, los patógenos necrótrofos como *B. cinerea* dependen de nutrientes exógenos y son susceptibles a la competencia de agentes microbianos o de sus secreciones inhibitorias, mientras que los patógenos biotróficos, como los que causan el mildeo, son independientes de nutrientes exógenos durante la germinación y la penetración, y pueden establecer una infección en una superficie vegetal agotada. No obstante, en la superficie de la planta, los conidios o los tubos germinativos de los biótrofos son susceptibles a antibióticos y enzimas líticas producidas por microorganismos (Elad, 1996), A continuación, se describirán los principales mecanismos involucrados en el control biológico de patógenos foliares.

Competencia

Desde la perspectiva de un microorganismo, la superficie de las plantas es un ambiente hostil, limitado en cuanto a la disponibilidad de nutrientes (Andrews, 1992). De acuerdo con esto, para que un microorganismo pueda colonizarla debe competir por los nutrientes y por el lugar donde estos se encuentran (Pal & Gardener, 2006).

En este sentido, la competencia como forma de supervivencia es uno de los modos de inhibición de fitopatógenos más importante y es definido como el comportamiento desigual de dos o más organismos ante un mismo requerimiento, ya sea este un nutriente o un nicho específico para su crecimiento (Hjeljord & Tronsmo, 1998). Por lo tanto, características como la adaptación a diferentes condiciones ecofisiológicas, como la temperatura, la humedad y el pH presente en la filosfera, así como la velocidad de crecimiento y desarrollo del biocontrolador, pueden favorecer la colonización de un sustrato por una determinada comunidad microbiana en detrimento de otra (Hjeljord & Tronsmo, 1998; Muccilli & Restuccia, 2015).

La competencia por nutrientes, sean estas fuentes de nitrógeno, carbono o cualquier microelemento, es un modo de acción asociado particularmente a las bacterias y a las levaduras (aunque no exclusivas de estas), debido a la relación superficie/volumen que estos microorganismos presentan, así como su crecimiento exponencial, cualidad que les permite consumir con mayor rapidez los nutrientes disponibles, en comparación con los tubos germinativos de los conidios de los hongos fitopatógenos. Las levaduras constituyen un grupo de microorganismos caracterizados por su capacidad de crecer y sobrevivir en condiciones adversas y estresantes, y de colonizar una amplia variedad de ambientes, siendo uno de los grupos de microorganismos dominantes en la filósfera (Droby, Wisniewski, Macarisin, & Wilson, 2009; Janisiewicz, Tworkoski, & Sharer, 2000; Muccilli & Restuccia, 2015).

En el mismo sentido, la competencia por sustrato, ligada a la capacidad de asimilar diferentes fuentes de nutrientes, es considerada como un atributo de adaptación ecológica, sumado a una alta velocidad de crecimiento, abundante producción de cuerpos fructíferos o esporulación; asimismo, un metabolismo eficiente, que le permita mediante la producción de una variedad de metabolitos y enzimas colonizar diferentes sustratos, es un eficiente mecanismo utilizado por varios biocontroladores.

Patógenos como *Botrytis cinerea* son particularmente susceptibles a la ausencia de nutrientes, ya que este factor limita la germinación de los conidios, la formación del tubo germinal y los procesos posteriores de infección (Elad, 1996; Filonow, Vishniac, Anderson, & Janisiewicz, 1996). En este sentido, la aplicación preventiva de agentes de control biológico como las levaduras puede reducir la incidencia del patógeno y, por supuesto, las pérdidas que este provoque.

Este modo de acción se ha demostrado para muchas levaduras, entre ellas *Sporobolomyces roseus* contra *B. cinerea*, cuando es inoculada simultáneamente con el patógeno y antes de que este colonice heridas de manzanas, obteniendo una incidencia del 25 %, comparada con el 99 % de incidencia del tratamiento *B. cinerea* y con el 92 % alcanzado con benomil (Filonow et al., 1996).

Igualmente, las levaduras en las heridas de las frutas crean un ambiente pobre en oxígeno y en hierro, ya que producen sideróforos para capturar el hierro, afectando la germinación de los conidios de los patógenos. *Rhodotorula glutinis* produce ácido rodotorúlico, que es un sideróforo hidroxamato esencial en el control de *Penicillium expansum* en manzanas (Calvente, Benuzzi, & de Tosetti, 1999), en tanto que *Metschnikowia pulcherrima* y *Metschnikowia fructicola* producen un pigmento rojo denominado "pulquerrimina", involucrado en el control de *B. cinerea, Alternaria alternata* y *P. expansum* en manzanas (Saravanakumar, Spadaro, Garibaldi, & Gullino, 2009).

Por otra parte, patógenos biótrofos como los causantes de los mildeos o las royas, que no dependen de nutrientes exógenos para la germinación de los conidios y para la penetración, también pueden establecerse sobre la superficie de la planta, aunque los nutrientes se hayan agotado. Sin embargo, los conidios o tubos germinales están expuestos a los antibióticos y a las enzimas líticas producidas por diferentes microorganismos (principalmente bacterias como *Bacillus* spp., y *Pseudomonas* spp.), que pueden inhibir la germinación y lisar los tubos germinativos (Elad & Freeman, 2002).

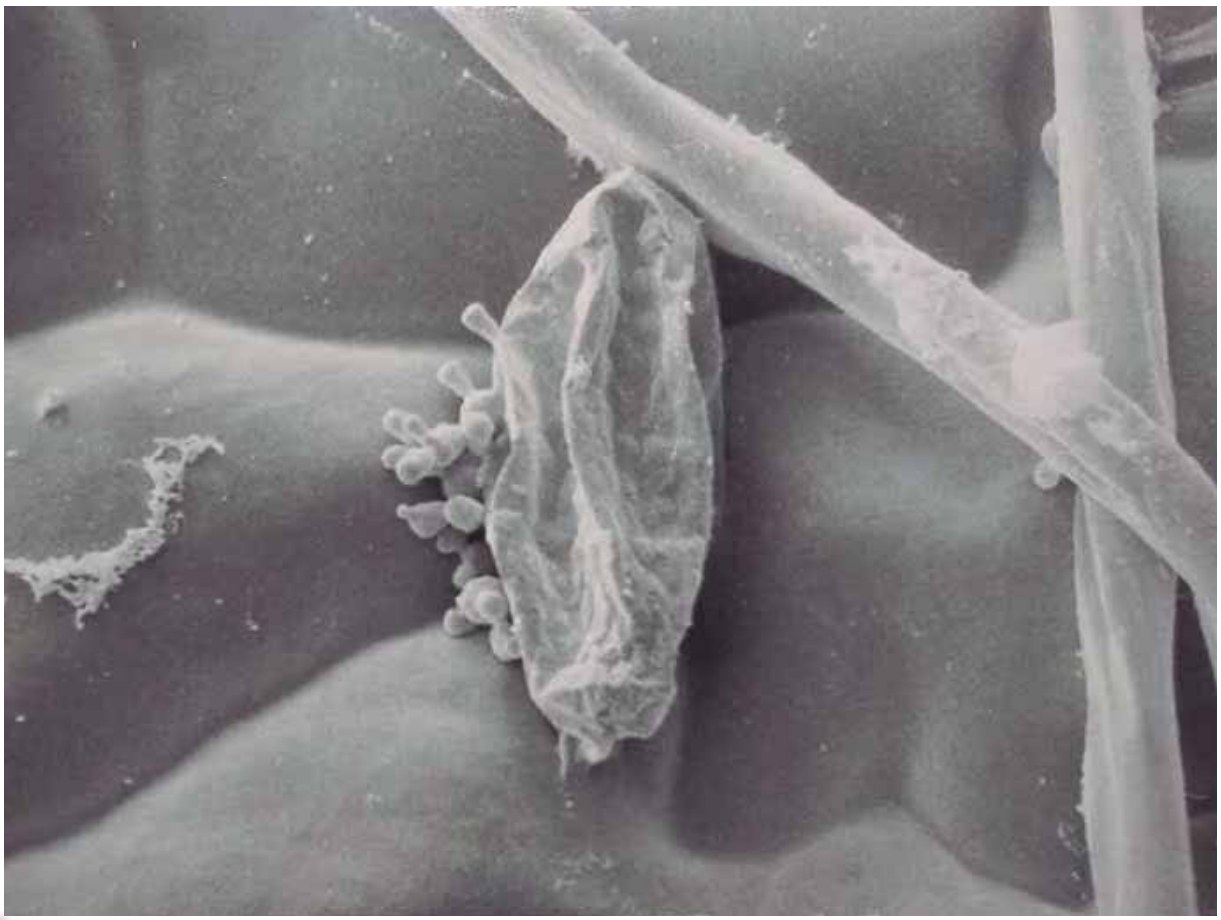
Por otro lado, el hongo *Trichoderma* spp. está biológicamente adaptado para realizar una colonización agresiva de los sustratos; además, tolera condiciones adversas para sobrevivir mediante crecimiento activo o formando clamidosporas que le sirven como estructuras de resistencia. Su alta velocidad de crecimiento, abundante esporulación y la amplia variedad de enzimas que produce hacen que sea un muy eficiente saprófito y un excelente agente de control biológico (Harman, 2000; Sawant, 2014).

En el control de fitopatógenos, la competencia por nutrientes ha presentado resultados importantes, particularmente contra hongos necrotróficos. De acuerdo con Kessel (1999, citado por Lindow et al., 2004), el control de estos patógenos puede obtenerse durante su fase saprofítica, cuando este es susceptible a la ausencia de nutrientes, limitando así su desarrollo y la producción de las enzimas necesarias para la invasión de los tejidos (Lindow et al., 2004).

Micoparasitismo y lisis

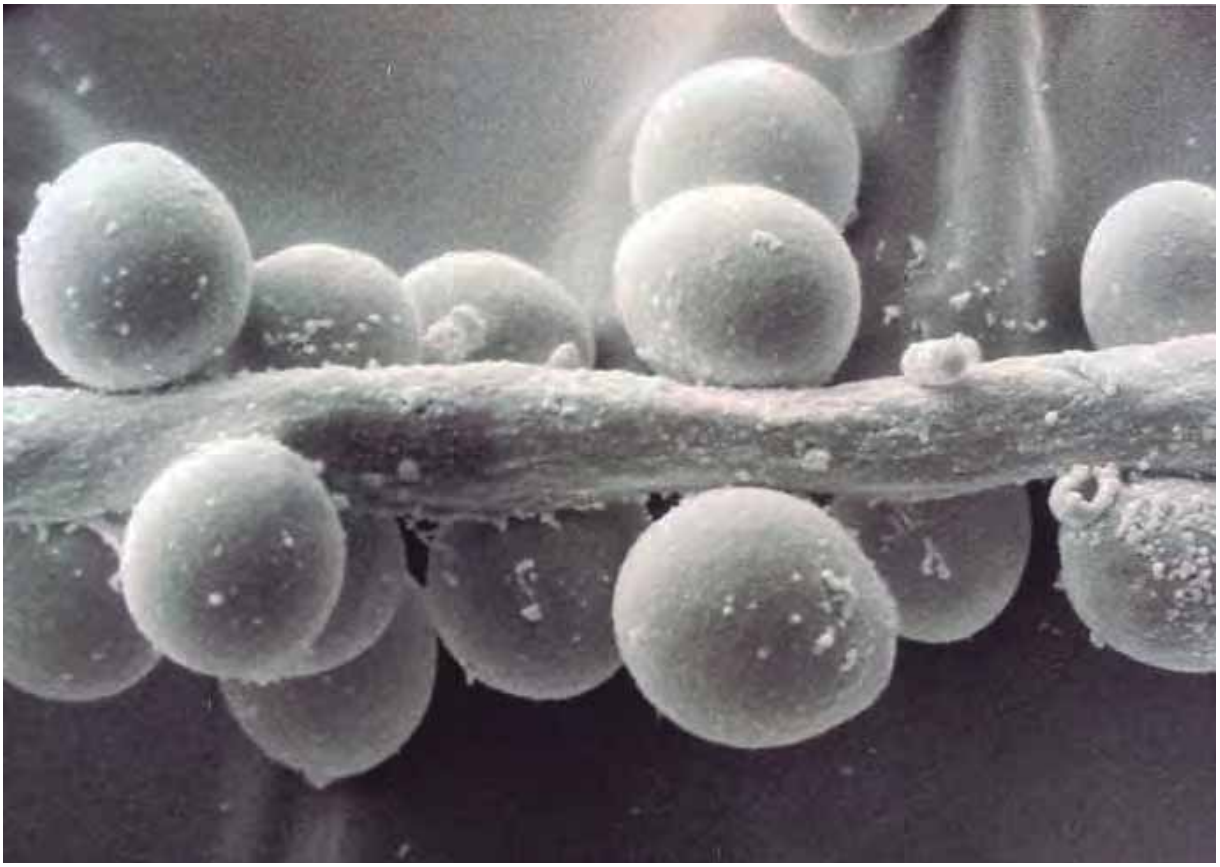
El ataque directo por el antagonista hacia un fitopatógeno específico, sea necrótrofo o biótrofo, es uno de los ejemplos más usados para describir el micoparasitismo realizado por especies del género *Trichoderma*, uno de los microorganismos más característicos por presentar este modo de acción; en general, esto ocurre concomitantemente con la producción de metabolitos secundarios tóxicos y de enzimas como quitinasas, celulasas y β 1-3 glucanasas, que degradan la pared celular de diversos fitopatógenos (Lindow et al., 2004; Stefanova, Leiva, Larrinaga, & Coronado, 1999).

Varias levaduras también ejercen un micoparasitismo (figura 1.13), como *Pseudozyma aphidis* en su interacción con *Podosphaera xanthii*, que además de antibiosis y resistencia inducida parasita al patógeno (Gafni et al., 2015).



Fotos: Yigal Elad

Figura 1.13. Conidios del mildeo polvoso colapasados por una levadura. Imagen al microscopio electrónico de barrido.



Fotos: Yigal Elad

Figura 1.14. Adhesión de conidios de *Trichoderma harzianum* T39 sobre hifa de *Botrytis cinerea*. Imagen al microscopio electrónico de barrido.

Una gran variedad de hongos exhibe el micoparasitismo como mecanismo de consecución de nutrientes, siendo algunos de ellos *Ampelomyces*, *Trichoderma*, *Gliocladium* y *Pythium* spp., que han sido empleados como principio activo de diferentes bioplaguicidas (Chet, Benhamou, & Haran, 1998; Elad, 1995; Szentiványi & Kiss, 2003).

En *Trichoderma* spp., el proceso de parasitismo exhibe un crecimiento quimitrófico hacia el fitopatógeno blanco. Posteriormente, se presenta un período de reconocimiento molecular entre este y el huésped, siendo el evento que precede al proceso de antagonismo propiamente dicho, que es mediado por la interacción entre lectinas y carbohidratos (Chet et al., 1998); luego, se produce la adhesión (figura 1.14) y el enrollamiento sobre el micelio del huésped, mediante la formación de apresorios y la producción de enzimas líticas extracelulares, fundamentalmente quitinasas, glucanasas y proteasas que degradan las paredes celulares del huésped, facilitando la penetración de las hifas de *Trichoderma* spp., para luego absorber los nutrientes del interior del hongo parasitado (Bélanger, Dufour, Caron, & Benhamou, 1995; Elad & Kapat, 1999; Harman, 2000; Howell, 2003).

Entre los micoparásitos más conocidos por atacar el micelio de *B. cinerea*, se encuentran *Trichoderma*, *Gliocladium* y *Pythium* spp. (Elad, 1996). El parasitismo de los esclerocios de *B. cinerea* también se ha descrito (Köhl & Schlösser, 1989); además, se ha demostrado que varias enzimas están implicadas en el micoparasitismo de este patógeno, incluyendo las que degradan la pared celular, como proteinasas, mananasas, laminarinasas y quitinasas (Labudova & Gogorova, 1988). Se han logrado nuevos avances en el entendimiento de las interacciones Botrytis-biocontrolador, con el análisis de patrones de proteínas secretadas por *T. harzianum* ETS 323 en condiciones de laboratorio (Yang, Yang, Peng, Lo, & Liu, 2009).

Un L-aminoácido oxidasa (LAAO) y dos endoquitinasas del biocontrolador se indujeron en el medio de cultivo que contenía micelio inactivo de *B. cinerea*, como la única fuente de carbono. Las enzimas β-1,3-glucanasas, β-1,6-glucanasas, quitinasas, proteasas y xilanasas fueron significativamente mayores en los medios que contenían *B. cinerea* inactivo que, en otros medios, lo que sugiere que la pared celular de *B. cinerea* es el objetivo principal del biocontrolador (Yang et al., 2009).

El micoparasitismo ha sido demostrado en diferentes accesiones de *Trichoderma* spp., que hacen parte del Banco de Germoplasma de Microorganismos con Interés en Control Biológico de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica). Estas cepas han sido aisladas de variedad de sustratos y de lugares de Colombia (Smith et al., 2013). Este modo de acción también lo presenta la cepa colombiana *Trichoderma koningiopsis* cepa Th003, principio activo del bioplaguicida Tricotec®, desarrollado por la misma entidad, que parasita eficientemente el micelio y los esclerocios de *Sclerotinia sclerotiorum* en sistemas de producción de hortalizas (Moreno et al., 2010b).

Las enzimas producidas por el biocontrolador pueden jugar no solamente efecto directo durante el proceso de micoparasitismo, sino inhibición de la actividad patogénica. En este sentido, Elad y Kapat (1999) observaron que las proteasas producidas por *T. harzianum* T39 en las hojas reducían la germinación de los conidios y la actividad de las enzimas de *B. cinerea*, lo que detuvo el desarrollo de la enfermedad. Asimismo, se ha encontrado que varias especies de la bacteria *Lysobacter* son productoras de una gran variedad de enzimas líticas como quitinasas, β 1-3 glucanasa, lipasas y proteasas, que inhiben el crecimiento de patógenos como *B. cinerea* y *Phytophthora capsici*, ya sea por cambios estructurales producidos en la pared celular de los hongos o por la inhibición de la actividad de sus enzimas (Gómez-Expósito, Postma, Raaijmakers, & De Bruijn, 2015; Ko, Jin, Krishnan, Lee, & Kim, 2009).

Este efecto también se ha observado con otros metabolitos como los sideróforos, particularmente con la enteroquelina producida por la enterobacteria *Rahnella aquatilis*, que reduce la actividad de las enzimas poligalacturonasa y lacasa producidas por *B. cinerea* (Sansone et al., 2011).

En contraste con la competencia por espacio y nutrientes, el parasitismo ligado a la lisis es el modo de acción eficiente en el control de fitopatógenos obligados como mildeos o royas. Hongos como *Ampelomyces quisqualis* ha mostrado alta eficiencia en el control de mildeo polvoso en vid, manzanos y rosales; mediada por la producción y acción de exo-β-1,3-glucanasa, las hifas penetran tanto estructuras asexuales como micelio y conidios, así como estructuras sexuales como cleistotecios. Una vez se desarrolla, produce sus picnidios, lo que le permite parasitar las estructuras de resistencia o hibernantes del patógeno, ampliando el potencial de control (Kiss, 2003; Punja & Utkhede, 2003; Szentiványi & Kiss, 2003).

El fenómeno de micoparasitismo sobre el mildeo polvoso y algunas royas también ha sido demostrado para el hongo entomopatógeno *Lecanicillium lecanii* que, aparte de controlar insectos plaga como afidos, también ha sido eficiente en el control de fitopatógenos (Kim, Goettel, & Gillespie, 2007). Al realizar aplicaciones de Mycotal®, cuyo principio activo es *L. lecanii*, parasitó el micelio de *Sphaerotheca fusca* en melón bajo invernadero, siendo más eficiente en el control cuando se aplicó en etapas tempranas de la infección del patógeno, comparado con otros micoparásitos como *Acremonium alternatum* y *A. quisqualis* (Jackson, Skillman, & Vandermeer, 2012; Romero et al., 2007b; Romero, Rivera, Cazorla, De Vicente, & Pérez-García, 2003). Jackson et al. (2012) también observaron la capacidad de parasitismo de *L. lecanii* contra la roya del café *Hemileia vastatrix*, al realizar aplicaciones para el control de la escama verde de café *Coccus viridis*.

Antibiosis

La antibiosis se define como la interacción que involucra un compuesto de bajo peso molecular o un antibiótico producido por un microorganismo que tiene un efecto negativo sobre otro (Lo, 1998), mecanismo de supresión atribuido particularmente a ciertas especies de bacterias y hongos. La capacidad de producir diferentes antibióticos probablemente

está involucrada en la supresión de los competidores, algunos de los cuales son patógenos de las plantas. Este modo de acción es ejercido por un amplio número de bacterias y hongos biocontroladores para el control de patógenos necrótrofos o biótrofos. Un ejemplo de este es la levadura *Pseudozyma flocculosa*, habitante común de la superficie de hojas y frutas, que produce y libera metabolitos con actividad antifúngica eficaz en el control de diferentes fitopatógenos (Lindow et al., 2004).

Diferentes especies de los géneros *Pseudomonas* spp., *Bacillus* spp. y *Streptomyces* spp. también se han caracterizado por producir una gran variedad de antibióticos, siendo además los dos primeros los más estudiados y utilizados como agentes de control biológico. En cuanto al género *Bacillus*, especies como *B. amyloliquefaciens*, *B. licheniformis*, *B. megaterium*, *B. mycoides*, *B. pumilus* y *B. subtilis* son conocidas por ser muy eficientes en la producción de varios antibióticos; por ejemplo, aproximadamente el 5 % del genoma de *B. subtilis* está dedicado para la síntesis de antibióticos, en tanto que para *B. amyloliquefaciens* es el 8 %. Esto les confiere capacidad para producir más de una veintena de compuestos antimicrobianos estructuralmente diferentes (Chen et al., 2009; Rückert et al., 2011; Stein, 2005).

Los antibióticos producidos por diferentes especies de *Bacillus* se encuentran agrupados en tres familias: las surfactinas, las iturinas y las fengicinas, que de acuerdo con las características genéticas de cada cepa varían en su estructura (Abriouel, Franz, Omar, & Gálvez, 2011; Arguelles-Arias et al., 2009; Stein, 2005). Se han demostrado los efectos de metabolitos de *Bacillus* spp. en el control de patógenos foliares. Ali et al. (2016) encontraron que, al realizar aplicaciones foliares tanto preventivas como posteriores a la inoculación del patógeno de filtrados de cultivo de *B. subtilis* en plantas de flor de Pascua, dieffenbachia y tomate, se logró reducir entre 68 y 81 % el tamaño y número de lesiones causadas por *Alternaria alternata*. Asimismo, se demostró la contribución de las iturinas y de las fengicinas en el antagonismo de *B. subtilis* hacia *Podosphaera fusca*, que infecta las hojas de melón; en este caso, se obtuvo un efecto inhibidor sobre la germinación de los conidios del patógeno (Romero et al., 2007a). En otro trabajo, se demostró el efecto inhibidor de las iturinas de *Bacillus amyloliquefaciens* sobre *Colletotrichum lindemuthianum*, agente causal de la antracnosis en mora (Hiradate et al., 2002).

El género *Pseudomonas* incluye diferentes especies que colonizan el suelo y la superficie de las plantas. Especies como *P. fluorescens*, *P. putida*, *P. aeruginosa* y *P. aureofaciens* producen diferentes antibióticos que pueden ser agrupados en varias clases: 1) floroglucinoles (2,4-diacetilfloroglucinol), 2) fenazinas, 3) pirrolnitrina (a partir de este antibiótico se desarrolló el fungicida fludioxonil), 4) pioluteorina y 5) cianuro de hidrógeno (Meena, 2014). La actividad de estos antibióticos está relacionada con daños en la membrana celular, que en los conidios causa su permeabilización, inhibiendo así su germinación, y en el micelio provoca su disrupción y vacuolización (Chitarra et al., 2003; Etchegaray et al., 2008). Aunque no son muchos los ejemplos de control de patógenos foliares con Pseudomonas, atribuidos a antibióticos, Défago et al. (1990) demostraron que el cianuro secretado por la cepa CHAO de *P. fluorescens* desempeñaba un papel importante en el control de *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*; posteriormente, se le atribuyó al 2,4-diacetilfloroglucinol efecto en el control de este patógeno (Keel et al., 1992). Por otra parte, Sreenivasulu y Aparna (2001) le atribuyen el control de *Ganoderma lucidum* en coco a un metabolito volátil también producido por *P. fluorescens*.

Algunos hongos, particularmente especies de *Trichoderma*, producen diferentes metabolitos con propiedades antibióticas, que pueden ser de naturaleza volátil y no volátil. Aunque en un principio se consideró que la acción inhibitoria sobre otros hongos se debía a compuestos no volátiles, Dennis y Webster (1971) identificaron que la actividad de control se debía a compuestos volátiles, notando que las accesiones más eficientes producían un fuerte olor a coco, relacionado quizás con la actividad antagonista.

Entre los metabolitos volátiles, el 6 pentil-α-pirona (6PAP) es el más conocido y estudiado, producido por especies como *T. atroviride*, *T. koningii*, *T viride* y *T. harzianum*; este metabolito es un poliquétido con un dulce aroma a coco y cuya toxicidad se relaciona con su capacidad hidrofóbica, que le permite adsorberse dentro de las membranas celulares, formando una capa hidrorrepelente sobre la pared celular, que impide la absorción de agua por la célula del hongo (Jeleń,

Błaszczyk, Chełkowski, Rogowicz, & Strakowska, 2014; Scarselletti & Faull, 1994; Sivasithamparam & Ghisalberti, 1998). La actividad de los metabolitos volátiles se relaciona con un efecto esencialmente fungistático, ya que debilita al patógeno, haciéndolo aún más sensible a los antibióticos no volátiles, lo que se conoce como un "hiperparasitismo" de origen enzimático (Bélanger et al., 1995).

En cuanto a los antibióticos no volátiles, diferentes especies de *Trichoderma* se han caracterizado por producir antibióticos como alameticina, dermadina, furanona, gliotoxina, pacibasina, suzukacilina, trichodermina, trichotecenos, trichorzianina y viridina, que causan a nivel celular la vacuolización, granulación, coagulación, desintegración y lisis (Howell, 2003; Mukherjee, Horwitz, & Kenerley, 2012; Sivasithamparam & Ghisalberti, 1998). Aunque son pocas las demostraciones del efecto biocontrolador de los metabolitos volátiles de *Trichoderma* spp. en condiciones de campo, se han desarrollado algunos trabajos utilizando aislamientos de *T. harzianum, T. virens, T. viride, T. reesei* y *T. saturnisporum*, cuyos metabolitos inhibieron el desarrollo de *Colletotrichum capsici* en pimiento (Ajith & Lakshmidevi, 2010).

En otro estudio, se demostró que 34 aislamientos de *Trichoderma* spp. produjeron metabolitos volátiles, tóxicos para *C. gloeosporioides* en vid (Sawant, Rajguru, Salunkhe, & Wadkar, 2012).

Por otra parte, aun cuando la producción de antibióticos no sea una cualidad atribuida a las levaduras, *Pseudozyma flocculosa* y *Pseudozyma rugulosa* son conocidas por su actividad de control sobre mildeo polvoso mediante la producción de antibióticos, que son una mezcla de ácidos grasos, particularmente los ácidos 9-heptadecenoico, 6-metil-9-heptadecenoico y 4-metil-7,11-heptadecadienoico. Estos tienen una acción citotóxica, ya que los ácidos grasos antifúngicos se insertan naturalmente en la membrana lipídica de las membranas fúngicas, produciendo una interrupción física (o mecánica) que induce una elevada volatilidad. Este efecto es producido por la alta libertad de movimiento de los ácidos grasos, que implica la rotación de la molécula en la membrana fúngica y el desplazamiento de los componentes de la membrana, debido al doblez o curvatura fija en estos ácidos grasos insaturados, lo que causa una elevada humedad de la membrana. Los esteroles tienden a neutralizar esta elevación en la fluidez de la membrana inducida por el estrés, pero los hongos que tienen un contenido bajo en esteroles, como los causantes del mildeo polvoso, no son capaces de hacer frente a una elevación excesiva de la fluidez de la membrana. Esto provoca una desorganización generalizada de la membrana, que conduce a la liberación de componentes intracelulares, trastorno citoplasmático y, finalmente, a la desintegración celular (Avis & Bélanger, 2002).

En relación con la inhibición de *Botrytis* spp. por compuestos antimicrobianos, se ha demostrado que *Penicillium chrysogenum* produce compuestos que reducen la germinación conidial de *Botrytis fabae*, reduciendo las lesiones producidas por el patógeno en las vainas de fríjol (Jackson et al., 1997). Por otra parte, los biocontroladores *T. harzianum* y *Gliocladium virens* producen los antibióticos peptaibol y gliotoxin, respectivamente, que inhibieron la germinación de los conidios de *B. cinerea* (Schirmböck et al., 1994). *Bacillus brevis* secreta gramicidina S, que es un potente inhibidor de *B. cinerea* (Edwards & Seddon, 1992). Otras bacterias como *Serratia plymuthica* y varias especies de *Pseudomonas* descritas como biocontroladores producen el antibiótico pirrolnitrina, que inhibe el crecimiento micelial de *B. cinerea* (Ajouz et al., 2010).

Inducción de resistencia

Las plantas tienen la capacidad de responder a una gran variedad de estímulos químicos producidos por los microorganismos asociados a estas, ya sean saprófitos, promotores de crecimiento vegetal y cepas de los patógenos no virulentas. Estos estímulos inducen las defensas de la planta mediante cambios bioquímicos que potencian la resistencia contra la infección posterior de diferentes fitopatógenos, tanto del suelo como de la filósfera e, incluso, protegen contra el ataque de los insectos fitófagos (Elad & Stewart, 2004).

Las respuestas de defensa pueden ser de naturaleza local, denominada *resistencia sistémica adquirida* (SAR) o *resistencia sistémica inducida* (ISR), dependiendo del tipo y cantidad del estímulo. La SAR está mediada por el ácido salicílico, un compuesto que se produce

tras la infección de un patógeno y que conduce a la expresión a la activación de varios genes responsables de la síntesis de proteínas relacionadas con la patogénesis, que incluyen enzimas como peroxidasas, quitinasas, proteasas y β-1,3-glucanasas, que pueden actuar directamente para lisar las células del patógeno, para reforzar la pared celular con el fin de resistir la infección, o para inducir muerte celular localizada (Pal & Gardener, 2006).

El efecto de la actividad en la inducción de respuestas de defensa se ha demostrado para diferentes bacterias; por ejemplo, Ramarathnam, Fernando y de Kievit (2011) obtuvieron los mejores resultados en el control del pie negro de la canola producido por *Phoma lingam*, cuando realizaron aplicaciones de *Pseudomonas chlororaphis* (cepas DF 190 y PA23), de *B. cereus* (cepa DFE4) y de *B. amyloliquefaciens* (cepa DFE16). En un principio se suponía que, dado que estas bacterias producen una gran variedad de antibióticos, este modo sería el causante de la actividad de biocontrol; sin embargo, la protección se observó en aquellas partes de la planta que no habían sido inoculadas con las bacterias, demostrando el efecto de inducción de resistencia sistémica.

Con *Trichoderma* spp. se ha logrado un progreso significativo en la comprensión de los mecanismos de acción implicados en la inducción de resistencia (De Meyer, Bigirimana, Elad, & Höfte, 1998). Varios de ellos se describirán a continuación, en un caso de estudio con la cepa T39 de *T. harzianum*. Navazio et al. (2007) descubrieron, en el caso de *T. atroviride*, el efecto de metabolitos complejos secretados en las células vegetales, que detectan las moléculas producidas por el biocontrolador, mediante cambios intracelulares de Ca 2+, y que las células vegetales tienen la capacidad de discriminar señales, originadas en la interacción con uno o dos hongos y modular sus respuestas de defensa. De hecho, se sabe que la interacción planta-*Trichoderma* spp. se correlaciona con los cambios con el proteoma y con el transcriptoma de la planta (Shoresh et al., 2010).

Cambios en la superficie de las plantas

El comportamiento de los patógenos en la superficie de plantas puede cambiar cuando los agentes de control biológico modifican las propiedades de dicha superficie. Por ejemplo, *Bacillus brevis*, aplicado a col china, produce gotas de agua que se extienden y secan, cambiando la humectabilidad de la superficie de las plantas (Edwards & Seddon, 1992). Además, la unión de microorganismos al patógeno puede estar implicada en varios mecanismos de control biológico; en este caso, la unión de las levaduras *Rhodotorula glutinis* y *Cryptococcus albidus* a los conidios de *B. cinerea* se asocia con la formación de un material fibrilar, que al parecer es una matriz extracelular de tipo polisacárido (MEC) que produce el patógeno. Según sugirió Elad (1996), esta matriz se trata de una lectina; Meyer, Fischer, Barbul y Elad (2001), al analizar la interacción entre *Trichoderma* y *B. cinerea* mediante microscopía electrónica, demostraron que *Trichoderma* se adhiere a dicha matriz, reduciendo la penetración del tejido por parte del patógeno.

Reducción de la producción del inóculo patogénico

La reducción en la producción de inóculo patogénico ha sido demostrada en *Botrytis* spp., que es comúnmente policíclico, por lo que dicha reducción puede crear un efecto acumulativo sobre varios ciclos de enfermedad (Köhl & Fokkema, 1993). También se ha demostrado que varios microorganismos suprimen la conidiación de *B. cinerea* en fresa (Peng & Sutton, 1991) y en otros cultivos (Morandi et al., 2000). *Ulocladium atrum* redujo la esporulación de *B. cinerea* en hojas muertas de lirio y de cebolla expuestas a condiciones de campo; además, la colonización de tejido necrótico por *U. atrum* previene la colonización saprófita de esas hojas por *B. cinérea* (Köhl, Molhoek, Van der Plas, & Fokkema, 1995).

Otros modos de acción

Dado que uno de los factores de patogenicidad producido por *B. cinerea* y *Sclerotinia sclerotiorum* es el ácido oxálico, se ha demostrado la capacidad que tienen varias bacterias biocontroladoras para degradarlo, lo que se tradujo en su actividad protectora contra *B. cinerea* en pepino, vid, tomate y *Arabidopsis thaliana* (Schoonbeek, Jacquat-Bovet, Mascher, & Métraux, 2007).

Modo de acción de *T. harzianum* T39, un caso de estudio

Uno de los casos más estudiados en relación con los mecanismos de acción de patógenos foliares es el de *Trichoderma harzianum* cepa T39, principio activo del biofungicida Trichodex® (desarrollado por el Volcani Center de Israel), cuyo patógeno blanco es *B. cinerea*. Los modos de acción resumidos se muestran en la figura 1.15.

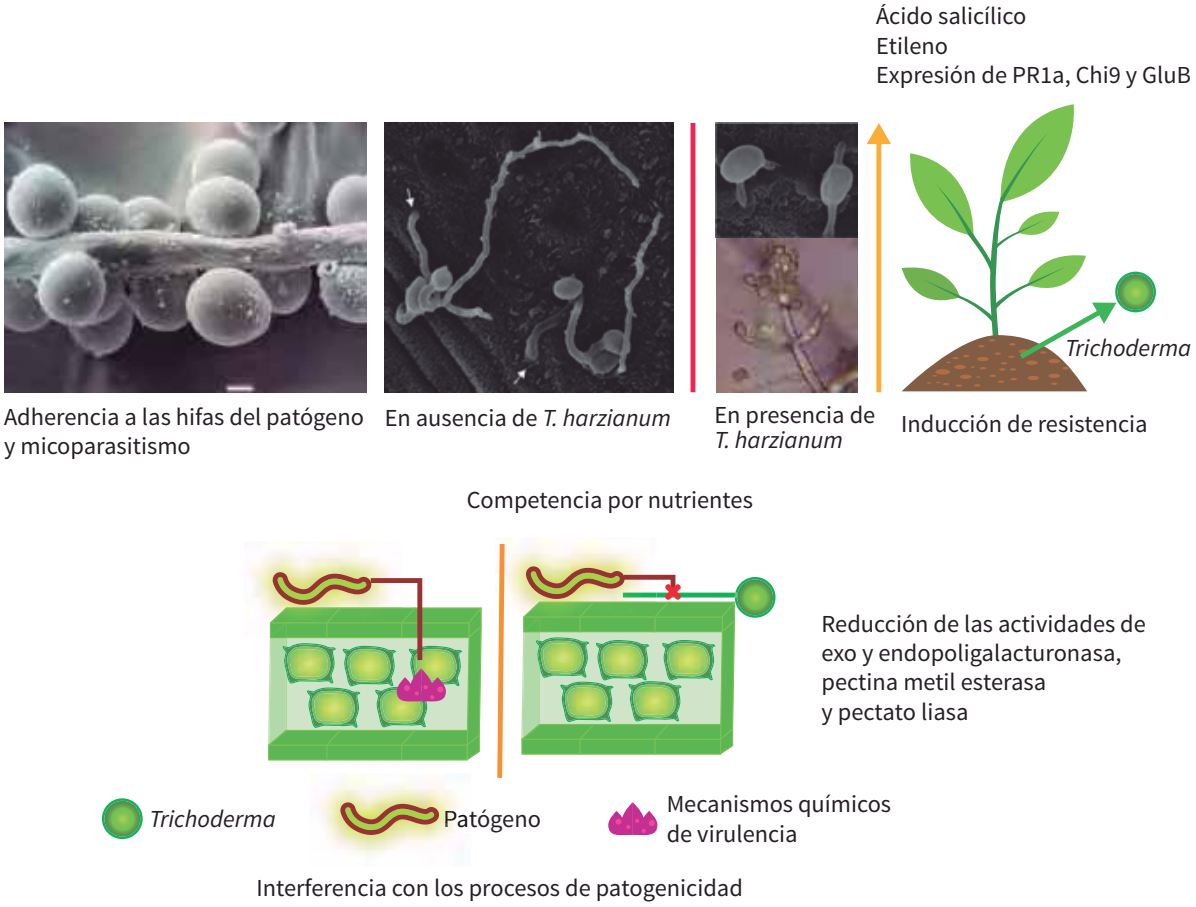


Figura 1.15. Modos de acción utilizados por *T. harzianum* T39 en el control de patógenos foliares.

Fuente: Elaboración propia

Mediante diferentes estudios, se ha demostrado que la actividad de *T. harzianum* T39 contra patógenos foliares está mediada por varios modos de acción, y que esta cepa es capaz de adherirse y micoparasitar al patógeno (figura 1.14).

No obstante, esta ejerce modos de acción diversos, algunos de los cuales no habían sido descritos previamente para otros agentes de control biológico (Elad, 2000a). Estos mecanismos incluyen:

Resistencia inducida

Este fenómeno ocurre tanto local como sistémicamente y se demostró cuando se aplicaron células vivas (figura 1.16) o muertas de T39 a las raíces de varias plantas, obteniéndose supresión del moho gris en las hojas de fríjol, tomate y pimiento, y del mildeo polvoso en las hojas de pepino, pimiento y tabaco (De Meyer et al., 1998; Elad, 2000a).

También se demostró que *T. harzianum* T39 participa en una compleja reprogramación transcripcional en vid (Palmieri et al., 2012), que afecta a las proteínas asociadas con respuestas a estrés, fotosíntesis, señalización redox y metabolismo energético (Perazzolli et al., 2012). Observaciones de la infección por *B. cinerea* en hojas cosechadas de plantas cultivadas en los suelos tratados con el biocontrolador revelaron el fenómeno de resistencia sistémica inducida contra *B. cinerea*, que se demostró por la expresión génica relacionada con el ácido salicílico (SA) y con etileno (ET), de una manera proporcional a la concentración de *Trichoderma* utilizada (Harel, Mehari, Rav-David, & Elad, 2014). *T. harzianum* T39 también tuvo efectos sobre la expresión de PR1a, Chi9 y GluB. La expresión de los genes EFR1 y ACO1, relacionados con ET, también fue inducida por T39. En el caso de las interacciones *P. viticola* -vid - T39, ocurrió inducción de los genes Lox9 en plantas tratadas con el biocontrolador. Antes de la inoculación con *B. cinerea*, los genes sensibles a SA fueron inhibidos por T39 y, después de la inoculación con el patógeno, T39 indujo una fuerte expresión de los genes sensibles a SA (Perazzolli, Roatti, Bozza, & Pertot, 2011).

Interferencia con los procesos de patogenicidad

La cepa T39 de *T. harzianum* impide la penetración de *B. cinerea* en el tejido del huésped e interfiere con los procesos de patogenicidad (Zimand, Elad, & Chet, 1996). T39 redujo las actividades de exo y

Fotos: Yigal Elad

Figura 1.16. Resistencia sistémica inducida contra *Botrytis* sp. en el dosel. Izquierda: testigo sin aplicación del biocontrolador; derecha: efecto de resistencia inducida en el dosel cuando *T. harzianum* T39 fue aplicada al suelo.

endopoligalacturonasa, pectín-metil-esterasa y pectato liasa (Zimand et al., 1996), quitinasa, β-1,3-glucanasa y cutinasa, producida por *B. cinerea* (Kapat, Zimand, & Elad, 1998). Se demostró que *T. harzianum* T39 produjo una cisteín-proteasa que redujo la actividad patogénica relacionada con las enzimas de *B. cinerea* y el desarrollo subsecuente de la enfermedad (Elad & Kapat, 1999), como parte de su mecanismo de control biológico; esto fue demostrado al utilizar un inhibidor específico de la proteasa de T39 que anuló su actividad biocontroladora (Elad, Kirshner, Yehuda, & Sztejnberg, 1998). Por otra parte, T39 también suprimió el estallido oxidativo causado por el ataque de *B. cinerea* (Lapsker & Elad, 2001).

Competencia

Esta cepa también mostró capacidad para competir por los nutrientes que *B. cinerea* requiere para germinar (Elad & Kapat, 1999); de esta forma, afecta la germinación de los conidios del patógeno y su penetración en los tejidos de la planta (Zimand et al., 1996).

Es obvio que una combinación de estos modos de acción —y tal vez también de otros— sea responsable del control biológico; sin embargo, en el caso de la cepa T39, la actividad biocontroladora no estuvo relacionada con antibiosis, ni con micoparasitismo, a pesar de que este agente de control biológico es capaz de degradar polímeros de las paredes celulares fúngicas, como la quitina (Elad, 2000a).

Es probable que para cada enfermedad que T39 controla operen diferentes mecanismos de acción, si se tiene en cuenta que el mildeo polvoso fue controlado por resistencia inducida, mientras que en el caso de necrótrofos, como *B. cinerea*, se demostró competencia, restricción de las enzimas de patogenicidad y resistencia inducida como los mecanismos involucrados en el control.

Algunas experiencias exitosas en el control de fitopatógenos foliares

La incorporación del control biológico en el manejo de fitopatógenos foliares ha permitido reducir las aplicaciones de plaguicidas de síntesis en diferentes sistemas productivos, aportando a la inocuidad y a su cadena de valor. A continuación, se mencionan algunas experiencias exitosas que han utilizado agentes de control biológico en el control de enfermedades foliares en diferentes cultivos.

Trichodex®

El aislamiento T39 de *T. harzianum* fue el primer agente de biocontrol que se desarrolló como bioplaguicida, con el nombre comercial de Trichodex®. Este fue comercializado, registrado y usado para el control de patógenos foliares en cultivos bajo invernadero y en viñedos. Trichodex® representa un modelo en el desarrollo de bioplaguicidas, respaldado por una sólida base científica liderada por el investigador Yigal Elad, que contó además con una alianza con la empresa Makhteshim Agan Industries, de Israel, gracias a la cual se logró el desarrollo del producto y su lanzamiento.

Trichodex® se encuentra entre los primeros bioplaguicidas registrados para el control de fitopatógenos; sin embargo, tuvo que enfrentar cuellos de botella importantes para su implementación, lo que llevó a su retiro del mercado. Trichodex® consistió en un polvo mojable a base de conidios y fragmentos de micelio, compatible con las prácticas agrícolas regulares. Fue registrado para 20 países y su tecnología fue patentada en todos los países de destino. Los registros fueron generalmente para el control del moho gris (*Botrytis cinerea*) en cultivos a libre exposición de vid (uva para vino y uva de mesa), pero en algunos países el objetivo fueron cultivos bajo invernadero. El modo de acción de T39 es complejo y único (Elad, 2001).

A partir de 1986, los esfuerzos en el laboratorio de este investigador se centraron en el aislamiento de un agente

de control biológico que se utilizaría para el control de patógenos foliares. El patógeno fúngico *B. cinerea* fue elegido debido a su importancia agrícola. Los muchos aislamientos que se recolectaron de diversas plantas y partes de plantas se probaron en bioensayos, y algunos de ellos mostraron potencial para el control de *B. cinerea*. El contacto con la industria se estableció en una etapa inicial, mediante un convenio con la empresa Makhteshim Agan Industries (Beer Sheva, Israel), con el objetivo de desarrollar el bioplaguicida. La investigación y el desarrollo se llevaron a cabo en paralelo entre el Volcani Center (Yigal Elad), en cooperación con la Universidad Hebrea (Ian Chet), y por el personal de Makhteshim, dirigido por A. Cohen y H. Abir. Para ello se seleccionaron varios aislamientos de *T. harzianum* y se formularon inicialmente, con el fin de que pudieran aplicarse en condiciones similares a las comerciales.

El aislamiento T39 se eligió después de experimentos en viñedos e invernaderos de hortalizas. Los resultados de control obtenidos fueron publicados (Elad, 1994; Elad et al., 1993a). El personal de Makhteshim y sus agentes en todo el mundo llevaron a cabo ensayos de eficacia y, desde 1993, se logró el registro de Trichodex® en Argentina, Australia, Bulgaria, Estados Unidos, Chile, Colombia, Croacia, Chipre, Grecia, Guatemala, Hungría, Israel, Italia, Marruecos, Paraguay, Rumania, Turquía, Eslovenia, Sudáfrica y los Estados Unidos; en algunos otros países, el proceso de registro tardó más.

Los estudios toxicológicos de Trichodex® se desarrollaron para satisfacer las diversas demandas de todos los países de destino, incluidos Australia, la Unión Europea y Estados Unidos, entre otros. Además, se realizaron estudios para responder preguntas sobre las interacciones potenciales con la fauna natural, con poblaciones microbianas autóctonas, con las abejas polinizadoras y con los enemigos naturales de las plagas de los cultivos agrícolas priorizados, encontrando resultados que respaldaron la afirmación de que el producto era seguro para los cultivos, para los consumidores de productos agrícolas y para el medio ambiente. El desarrollo de la formulación de Trichodex® permitió mejorar y hacer consistente la actividad biocontroladora; su empaque al vacío permitió una prolongada vida útil y alta supervivencia en la planta. Dado que la formulación es un polvo que se dispersa fácilmente en agua, pudo ser aplicada con equipos agrícolas regulares, generalmente utilizados para la aplicación de fungicidas (Elad, 2001).

La eficacia de Trichodex® para el control del moho gris en la vid se determinó en más de 130 experimentos, en 34 variedades, bajo diversas condiciones comerciales en todo el mundo (O'Neill et al., 1996). El bioplaguicida se aplicó generalmente en cuatro etapas: 1) al final de la floración, 2) al cierre de racimos, 3) al comienzo de la maduración de las bayas y 4) dos a tres semanas después. En algunos experimentos, se hicieron aplicaciones adicionales durante la floración o 1-3 semanas antes de la cosecha. En todos los experimentos, se comparó la eficacia del bioplaguicida Trichodex® con la de los fungicidas estándar recomendados. Los experimentos también incluyeron tratamientos en los que *T. harzianum* T39 se integró con fungicidas químicos, aplicándolos de forma alternada. Además, se demostró que el bioplaguicida no afectó el proceso de fermentación del jugo de uva (desarrollo de la levadura, sabor del vino y producción de alcohol).

Cuando Trichodex® se evaluó en cultivos de invernadero, en general se registró control del moho gris en tomate, pepino y fresa, cuando se utilizó solo o alternado con fungicidas químicos. Fue muy efectivo en invernaderos de hortalizas que tenían control de temperatura y en sistemas de agricultura orgánica. Cuando Trichodex® se alternó con productos químicos (principalmente en invernaderos no calentados), se aplicaron las reglas basadas en un sistema de soporte de decisiones desarrollado por Shtienberg y Elad (1997), para adaptar el tiempo de aplicación del agente de biocontrol a las condiciones del invernadero. Además, Trichodex® fue eficaz contra *Sclerotinia sclerotiorum*, *Cladosporium fulvum* y *Pseudoperonospora cubensis* (Elad, 2000a, 2000b).

Uno de los obstáculos que tuvo que enfrentar Trichodex® estuvo relacionado con el largo tiempo que le llevó para penetrar en el mercado en muchos lugares del mundo, principalmente porque fue el primer producto de este tipo. En muchos países, las autoridades responsables del registro de productos fitosanitarios carecían de directrices y normas de registro apropiadas para los agentes de control biológico microbiano, ya que las únicas pautas que existían fueron diseñadas para plaguicidas. Además, las regulaciones relativas al registro varían de un país a otro e, incluso, pueden

variar dentro de un país, si un estado o provincia en particular decide imponer directrices más estrictas que las normas nacionales, como en el caso de California frente al resto de estados en EE. UU.

Por otra parte, dado que el bioplaguicida podía dirigirse a un mercado pequeño, las demandas de las autoridades en ciertos países plantearon una restricción económica sobre la viabilidad del registro; por ejemplo, en un país los costos de registro del producto (tarifas de registro y pruebas de eficacia aprobadas) fueron similares a los ingresos brutos esperados por las ventas del bioplaguicida, lo que lamentablemente no promovió la implementación del control biológico. Además, al ser un organismo vivo, el agente de control biológico se ve más afectado por factores ambientales y requiere atención diferente con respecto a su envío, almacenamiento y uso. Los posibles usuarios y distribuidores deben ser educados sobre su manejo y deben estar convencidos del valor de un producto de control biológico, a pesar de ser más difícil de usar que los plaguicidas estándar; por lo tanto, la adopción de tecnologías de control biológico por parte de los productores fue más lenta de lo esperado. De hecho, en muchos lugares, los agricultores, los asesores agrícolas e incluso los investigadores y el personal de campo no estaban acostumbrados a las demandas especiales de manipulación y uso impuestas por el agente de biocontrol en vivo. Por esta razón, las instrucciones especiales para el uso de Trichodex® tuvieron que ser formuladas y luego tuvieron que ser entregadas a lo largo de la cadena de comercialización, ventas e implementación.

La lección que se lleva a casa es que todos los involucrados en la "cadena de biocontrol", desde investigadores hasta personal de la industria, agencias de registro, vendedores, productores y consumidores, deben desempeñar papeles diferentes a los que jugaron en la "cadena de control químico" (Elad, 2001).

Tricotec®

Tricotec® es un biofungicida desarrollado por Corpoica, cuyo principio activo es el hongo *Trichoderma koningiopsis* cepa Th003, que cuenta con registro de uso ante el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) para el control de *Sclerotinia sclerotiorum* y *Sclerotinia minor*, en lechuga; *Rhizoctonia solani*, en tomate y arroz, y *Fusarium oxysporum*, en tomate.

Dados los atributos en el control de diferentes fitopatógenos, Tricotec® ha sido evaluado con éxito y ahora es utilizado en el control del moho gris en el cultivo de mora (figura 1.17). La principal alternativa de control de esta enfermedad ha sido la aplicación de fungicidas de síntesis química como Carbendazim, Benomil, Mancozeb, Difenoconazol, Procloraz, entre otros; sin embargo, muchos de estos no están registrados para su uso en el cultivo. Adicionalmente, su uso supone graves limitantes dada las características propias de la planta y del patógeno (Zapata et al., 2013a).

Al tratarse de una planta de producción continua que produce dos cosechas por semana, la proximidad entre las aplicaciones de fungicidas, la cosecha de la fruta y su corto período poscosecha posibilitan que la fruta comercializada en los diferentes mercados presente residuos de estos plaguicidas, afectando así su inocuidad, constituyéndose adicionalmente en un riesgo para la salud de los consumidores. De acuerdo con esto, y buscando otra alternativa de control, se realizó la evaluación de la eficacia en el control del moho gris de Tricotec®, en dos cultivos comerciales en el municipio de Silvania, veredas Agua Bonita y Monterrico, (Cundinamarca, Colombia), teniendo como tratamientos testigo las aplicaciones de los fungicidas Procloraz y Difenoconazol, y el tratamiento convencionalmente utilizado por el productor: Carbendazim.

Las aplicaciones de cada producto se realizaron con una frecuencia de cada quince días. El biofungicida se utilizó a una concentración de $1x10^7$ conidios por mL^{-1}, mientras que los fungicidas se aplicaron según la dosis recomendada por la ficha técnica del fabricante, siendo la variable de evaluación la incidencia del moho gris, al determinar el porcentaje de frutos enfermos sobre el total de frutos cosechados semanalmente. Igualmente, se cuantificó la producción de fruta por tratamiento dos veces por semana durante tres meses, con el fin de determinar la diferencia de la fruta cosechada por tratamiento, encontrándose que Tricotec® presentó una mayor eficacia en la disminución de la incidencia de la enfermedad; además, tuvo una reducción de la incidencia superior al 60 %, comparado con los fungicidas

Fotos: Jimmy Zapata

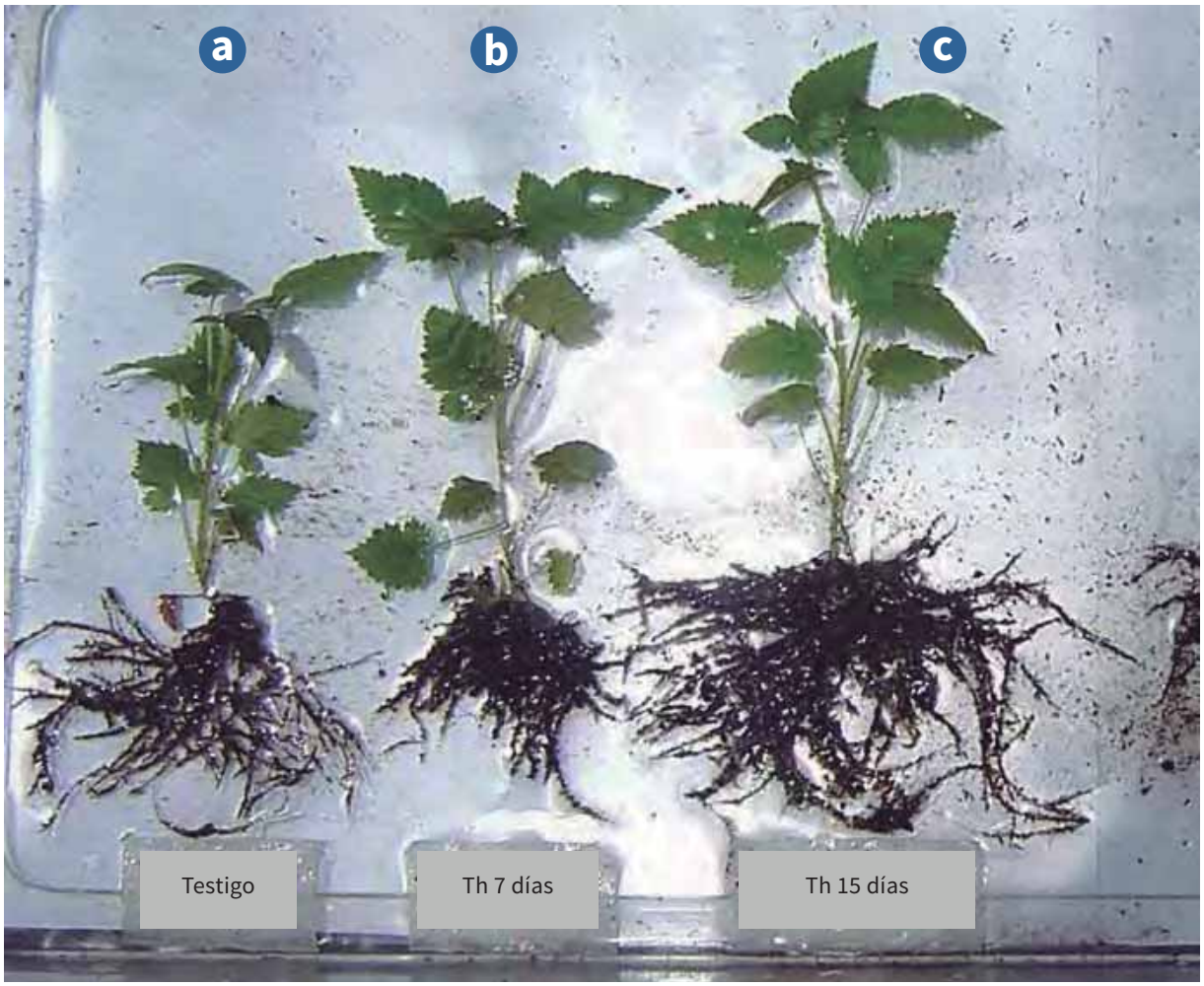
Figura 1.17. Moho gris producido por *B. cinerea* en mora.

Procloraz, Difenoconazol y Carbendazim, con los que se observó una reducción de la incidencia del 58, 46 y 27 %, respectivamente (Zapata & Cotes, 2013).

Por otra parte, en cuanto a la producción de fruta, la mayor cantidad cosechada se obtuvo en el tratamiento en el que se aplicó el biofungicida, con un promedio semanal de 5,6 kg, seguido del tratamiento Procloraz con 4,4 kg, mientras que en el tratamiento productor se obtuvo un promedio de 3,6 kg (cada tratamiento consistió de 30 plantas) (Zapata & Cotes, 2013). Estos resultados son muy satisfactorios, si se tiene en cuenta no solo la cantidad de fruta cosechada, sino el efecto en la reducción de las aplicaciones de funguicidas, lo que tendría un efecto positivo en la inocuidad de la fruta y puede constituir un atributo de valor agregado para algunos segmentos del mercado.

Asimismo, *T. koningiopsis* Th003 no solamente presenta actividad biocontroladora sobre diferentes fitopatógenos, sino que también ha mostrado un efecto de promoción del crecimiento vegetal (Cotes, 2001; Moreno, Smith, & Cotes, 2010a). Teniendo en cuenta esta característica, el biofungicida fue evaluado con el propósito de mejorar las condiciones en el establecimiento de plántulas de mora producidas *in vitro*, y reducir las pérdidas durante la etapa de endurecimiento y siembra definitiva. Se observó que con las aplicaciones del producto, a una concentración de $1x10^6$ conidios.mL^{-1} y con una frecuencia quincenal durante el primer mes del trasplante, se obtuvo mayor crecimiento, relacionado con valores de peso seco promedio de 0,22 g y con más del 47 % en producción de biomasa, comparado con el testigo, que presentó 0,15 g de biomasa seca (Beltrán-Acosta & Cotes-Prado, 2009).

La inoculación del biofungicida Tricotec® en plantas de mora producidas *in vitro*, 35 días después del trasplante, presentó efectos benéficos en su crecimiento y en la adaptabilidad al sustrato (figura 1.18) (Beltrán-Acosta & Cotes-Prado, 2009).



Fotos: Camilo Beltrán-Acosta

Figura 1.18. Efecto promotor de crecimiento del biofungicida Tricotec® en vitroplántulas de mora durante su endurecimiento (35 días). a. Testigo sin inocular; b. Aplicación de Tricotec® semanal; c. Aplicación de Tricotec® quincenal.

Prototipo de bioplaguicida a base de *Rhodotorula glutinis*

Con el propósito de contar con otro agente de control biológico que pudiera usarse de forma alternativa a Tricotec® para el control de *B. cinerea* en mora, se seleccionaron tres cepas de *Pichia onychis* y tres de *Rhodotorula glutinis* destacándose la cepa LV316 (antes codificada como LvCo7). Dicha selección se llevó a cabo a partir de una colección de 100 levaduras aisladas de la filósfera de mora y caracterizadas por los siguientes rasgos: un sistema de microfermentación por su capacidad de crecer a temperaturas entre 5 °C y 37 °C; rangos de pH de 3 a 9; actividad de agua de 0,92 y 0,94; tolerancia a la luz ultravioleta tipo B (UVB) (figura 1.19); adherencia a la superficie foliar, y actividad biocontroladora sobre *B. cinerea* (Cotes et al., 2011; Zapata et al., 2011).

A estas levaduras se les evaluó su actividad biocontroladora contra *B. cinerea* en flores de mora; se inocularon a una concentración de 1x107 células. mL-1. Al inocularlas 24 horas antes que *B. cinerea,* las levaduras redujeron la incidencia de la enfermedad entre un 49 y 75 %, comparada con la presentada por el patógeno en ausencia de las levaduras, siendo nuevamente la levadura LvCo7 (sinónimo Lv316) la que presentó mayor protección (incidencia de 18 %). Al determinar la compatibilidad de las levaduras con

Fotos: Grupo de Control Biológico de Corpoica

Figura 1.19. Caracterización ecofisiológica de las levaduras. a. Inoculación de las levaduras en microplacas con medio de cultivo con diferentes nutrientes, pH, Aw, y su incubación a diferentes temperaturas; b. Células de levadura sometidas durante 10 minutos de exposición a luz ultravioleta tipo B (UVB); c. Viabilidad de las levaduras expuestas a luz UVB, expresada como unidades formadoras de colonia, luego de su incubación a 25 °C por 48 h.

siete fungicidas, se observó que el crecimiento de la cepa Lv316 no se vio afectado por Benomil, Carbendazim, Difeconazol, Iprodión y Procloraz, mientras que Captan y Mancozeb inhibieron el crecimiento de todas las levaduras (Zapata et al., 2013a). Estos resultados permitieron seleccionar la levadura *R. glutinis* cepa Lv316 para desarrollar un prototipo de bioplaguicida para el control de *B. cinerea* en cultivos de mora. Se diseñó un medio de cultivo eficiente para la producción de biomasa de esta levadura mediante un sistema de tanque agitado; asimismo, se desarrolló un prototipo de formulación líquido que contiene un protector contra la radiación uvb (figura 1.20), que le confirió una protección del 62 % frente a esta radiación; además, este prototipo tuvo estabilidad de 6 meses de almacenamiento a 8 °C (Zapata & Cotes, 2013).

Para evaluar la eficacia en el control de *B. cinerea* en cultivos de mora, se establecieron dos parcelas experimentales en el municipio de Silvania (Cundinamarca), sembrando plantas del ecotipo Monterrico, obtenidas a partir de vitroplantas. Después de 77 días de evaluación, el prototipo de formulación a base de la levadura mostró una alta eficacia para el control de *B. cinerea*, presentando una reducción de la incidencia entre 55 y 65 %, comparado con la obtenida al usar los fungicidas químicos Plocloraz, Difenoconazol y Carbendazim, con los cuales se observó una reducción de la incidencia entre 26 % y 45 % (Zapata & Cotes, 2013).

Fungifree AB®

México es uno de los principales productores de mango a nivel mundial; sin embargo, para el 2013 solo el 29 % de su producción fue exportada. La baja cantidad de exportación de este producto se debió a la alta incidencia de la antracnosis, enfermedad causada por el hongo *Colletotrichum gloeosporioides*, que afecta severamente los rendimientos y calidad de la fruta (Comité Nacional Sistema Producto Mango [Conaspromango], 2012). Adicionalmente, a partir del 2005, países compradores de mango como Estados Unidos, Canadá y Japón restringieron el uso de fungicidas químicos al establecer "límites máximos de residuos" y al restringir el uso de algunas moléculas con acción fungicida (Conaspromango, 2012).

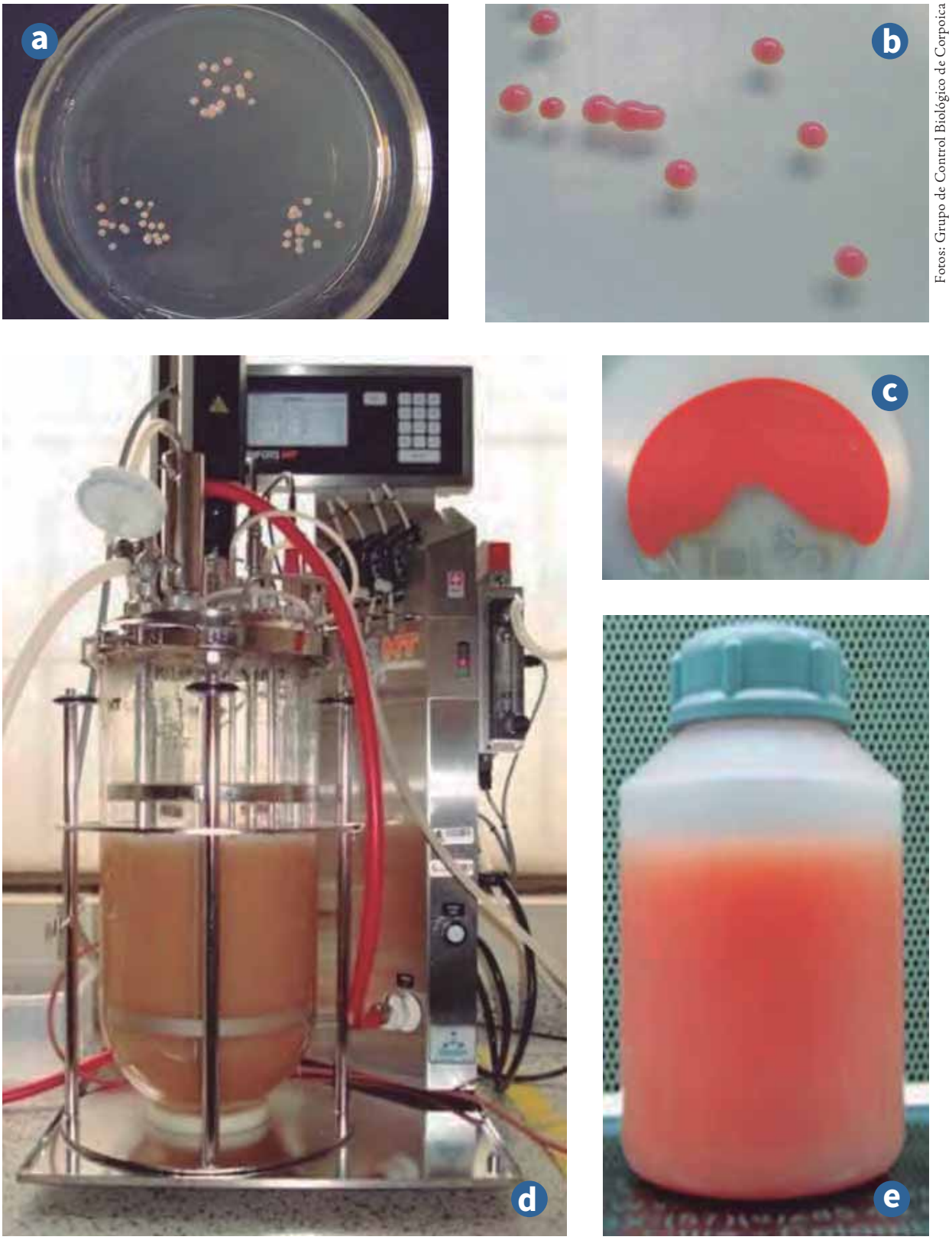
Bajo este panorama, un grupo de investigadores mexicanos aisló 200 cepas de microorganismos, entre bacterias y levaduras, a partir de la filósfera de mango colectada en cultivos localizados en diferentes regiones del Estado de Sinaloa (México), para seleccionar a partir de bioensayo *in vitro* e *in vivo* aquellos que tuvieran potencial de uso en las etapas de pre y poscosecha del mango. De esta forma, se seleccionaron siete aislamientos de bacterias (seis cepas de *Bacillus* sp., y una de *Pseudomonas* sp.) y una de levadura (*Rhodotorula minuta*) (Galindo et al., 2015).

Estos microorganismos fueron evaluados en campo y aplicados a intervalos regulares desde la floración hasta la cosecha, estrategia que busca proteger la planta de la infección y particularmente al fruto durante el proceso de maduración. Así, se obtuvo la mayor eficiencia en el control de la enfermedad al aplicar la cepa 83 de *Bacillus subtilis* y *Rhodotorula minuta* como concentrados líquidos, producidos en la planta piloto (Galindo et al., 2015; Patiño-Vera et al., 2005).

A pesar de que la formulación líquida de *B. subtilis* permitía reducir la severidad de la antracnosis en casi tres veces, con respecto a la obtenida con el control químico (Benomil) usado tradicionalmente para tratar la enfermedad, desde el punto de vista comercial no era la mejor opción en términos de la estabilidad a largo plazo del producto, por lo que se inició el desarrollo de una formulación sólida (Galindo et al., 2015). Esto llevo al desarrollo, registro y comercialización del producto innovador Fungifree AB®, cuyo principio activo es la bacteria *B. subtilis* cepa 83, y que se lanzó al mercado en noviembre del 2012 (Galindo et al., 2015).

Cuando se realizaron las pruebas necesarias para demostrar su eficacia en el control de la antracnosis en mango, tendientes al registro del bioplaguicida Fungifree AB®, se obtuvieron cosechas con un 80 % de frutos con calidad de exportación, mientras que con el manejo convencional (químico) solo se obtuvo un 25 % (Galindo et al., 2015).

En virtud de la eficiencia demostrada en mango contra la antracnosis, Fungifree AB® se evaluó en otros sistemas productivos y contra otras enfermedades. Esto permitió ampliar su registro de uso en cítricos como limón, mandarina, naranja y toronja para el control de la antracnosis producida por *C. acutatum*;



Fotos: Grupo de Control Biológico de Corpoica

Figura 1.20. Prototipo de bioplaguicida a base de *R. glutinis* Lv316. a y b. Aspecto macroscópico de la levadura; c. Producción masiva mediante fermentación líquida; d. Levadura separada del medio de cultivo; e. Prototipo de formulación.

en aguacate y papayo, también para el control de la antracnosis, pero producida por *C. gloeosporioides*; en el control del mildeo polvoso en cultivos de calabaza, calabacín, melón, pepino y sandía, producido por *Erysiphe cichoracearum*, y en berenjena, chile, pimentón, jitomate y tomate de mesa contra *Leveillula taurica*; asimismo, se registró para su uso en bayas como la fresa, frambuesa, zarzamora y arándanos para el control de *Colletotrichum fragariae*, *B. cinerea* y *Sphaerotheca macularis* (Galindo et al., 2015).

Bioplaguicidas registrados para el control de patógenos foliares. Comunidad Económica Europea y Estados Unidos de América

Dentro de los productos para reducir la dependencia a los insumos químicos, en especial fungicidas e insecticidas que son aplicados de manera recurrente en cultivos manejados convencionalmente, se han desarrollado varios bioplaguicidas para el control de enfermedades foliares, ya sea a base de agentes de control biológico individuales, en mezcla, utilizados como única estrategia o dentro de un enfoque de manejo integrado y sostenible, con productos químicos recomendables y compatibles de baja toxicidad (Woo et al., 2014).

Actualmente, entre la Comunidad Económica Europea y Estados Unidos de América hay disponibles 21 bioplaguicidas dirigidos al control de fitopatógenos foliares con registro de venta (tabla 1.3) (Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos [EPA], 2017; Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria [EFSA], 2017). El 42,9 % de la totalidad de estos tienen como principio activo bacterias; el 33,3 %, hongos filamentosos; el 14,3 %, levaduras, y solo dos están constituidos por actinomicetes (9,5 %). La gran mayoría están formulados como gránulos y polvos humectables o dispersables en agua.

Los biocontroladores bacterianos incluyen nueve bioproductos a base de tres géneros: *Bacillus*, *Pseudomonas* y *Pantoea*, siempre con base en una sola cepa como ingrediente activo. Los bioplaguicidas a base de *Bacillus* son cinco, dentro de los cuales están los siguientes:

- Subtilex®, a base de *Bacillus amyloliquefaciens* (cepa MBI 600), se usa para el control del moho gris (*Botrytis* spp.) en uvas, que controla la enfermedad mediante colonización y competencia (Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria [EFSA], 2016a).
- CX-9030® *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* cepa D747 (nombres alternos en EE. UU.: Double Nickel 55®, Amylo-X®, Bacstar®) se registró para el control de moho gris en uvas, mediante diferentes modos de acción, como competencia por espacio y nutrientes y producción de lipopéptidos y proteasas, que aumentan la permeabilidad y degradan la membrana de los hongos. Este también se recomienda para el control de mildeo polvoso (*Erysiphe* spp., *Sphaerotheca* spp.) y del mildeo velloso (*Peronospora* spp., *Pseudoperonospora* spp.) en Brassicas, hortalizas de bulbo y de hoja y legumbres (Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria [EFSA], 2014a).
- Taegro 2®, con ingrediente activo *Bacillus subtilis* var. *amyloliquefaciens* cepa FZB24, es recomendado para el control de mildeos velloso y polvoso, en hortalizas de hoja, papa y ornamentales, y de *B. cinerea* en uvas, cuando se aplica de manera preventiva y en etapas iniciales de la enfermedad (Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria [EFSA], 2017a).
- Serenade®, a base de *Bacillus subtilis* (QST 713), se registró para el manejo del moho gris en diversos cultivos como uvas, tomate, berenjena y fresa. Actúa como fungistático y fungitóxico por el rompimiento de hifas de los patógenos presentes en la superficie foliar; además, se recomienda para el control de mildeo velloso (*Bremia lactucae*, *Peronospora* spp. y *Plasmopara viticola*) y del mildeo polvoso (*Uncinula necator*, *Erysiphe* spp., *Sphaerotheca* spp., *Oidiopsis taurica*, *Leveillula taurica*, *Podosphaera leucotricha*, *Oidium* spp., *Podosphaera* spp.) en hortalizas, nueces, plantas ornamentales, árboles y arbustos, y plantas tropicales (Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria [EFSA], 2006).

- Sonata®, a base de *Bacillus pumilus* (QST 2808), presenta actividad antifúngica al producir un aminoazúcar que inhibe el metabolismo celular y que actúa en el control de mildeo polvoso en uvas y cucurbitáceas, generando zonas de inhibición sobre las superficies de las plantas, evitando así el establecimiento de los patógenos en la planta (Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria [EFSA], 2014b; EPA, 2017; EFSA, 2017a).

Por otra parte, se han registrado dos bioplaguicidas a base de *Pseudomonas* spp.:

- Proradix®, cuyo principio activo es la cepa DSMZ 13134 de *Pseudomonas* sp., se recomienda para el control de la gota causada por *Phytophthora*, en hojas y tallos de papa. Este actúa por competencia por nichos, producción de sideróforos promoción del crecimiento vegetal y resistencia inducida (Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria [EFSA], 2016b).

- BlightBan®, a base de la bacteria *Pseudomonas fluorescens* cepa A506, se usa para el control del fuego bacteriano causado por *Erwinia amylovora*. Este compite por espacio y nutrientes en las flores y frutos de diversas especies de plantas de la familia Rosaceae, entre las cuales se encuentran perales (*Pyrus*), manzanos (*Malus*), membrillos (*Cydonia*), nísperos (*Eriobotrya* y *Mespilus*), cerezas, fresa, almendras y melocotón (*Prunus*). Esta también se recomienda para cultivos de tomate. Este género produce una variedad de antibióticos y metabolitos antifúngicos, implicados en la supresión de enfermedades (EPA, 2017).

Existen, además, los bioplaguicidas Bloomtime Biological® FD, a base de la cepa E325 de *Pantoea agglomerans*, y Blight C9-1® *Pantoea vagans* cepa C9-1 (antes *P. agglomerans*). El modo de acción de ambos antagonistas es la exclusión e inhibición competitiva por nicho y nutrientes, recomendados para el control del fuego bacteriano causado por *E. amylovora*. Es aplicado a las flores abiertas de pera o manzana y plantas relacionadas, y en arbustos frutales de bayas y drupas, donde coloniza rápidamente los tejidos florales (EPA, 2017; EFSA, 2017b). Además, la cepa C9-1 produce dos antibióticos: herbicolin O y herbicolin I, con efecto protectante (Ishimaru, Klos, & Brubaker, 1988), y tiene genes biosintéticos importantes para metabolitos antibacterianos, como pantocina A y dapdiamida E (Smits et al., 2010).

Los bioplaguicidas a base de hongos están constituidos por cinco géneros diferentes, que son el insumo o principio activo de siete formulaciones. Estas contienen microorganismos en mezcla (dos formulaciones mixtas a base de dos diferentes especies de *Trichoderma*), o a base de un solo microorganismo, con cinco diferentes bioplaguicidas registrados (EPA, 2017; EFSA, 2017b). Tal es el caso de Bioten® WP y cuatro nombres alternativos: Bio-Tam® 2.0, Tenet® WP, Remedier® WP y Tenet T&O®; este bioplaguicida contienen una mezcla de *T. asperellum* cepa ICC 012 (Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria [EFSA], 2014e) y *T. gamsii* cepa ICC 080 (Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria [EFSA], 2014g), que presentan control sobre la enfermedad cuando se aplican en la poda de la vid; además, controla la enfermedad causada por *Phaeomoniella chlamydospora*, que causa daños localizados en la parte basal del patrón de las plantas de vid y en plantas injertadas, ocasionando un retraso en el desarrollo, brotes con entrenudos cortos, hojas cloróticas y de menor tamaño y, en ocasiones, la muerte de la cepa de vid (EPA, 2017; EFSA, 2017b).

Otros productos a base de *Trichoderma* spp. son Binab T®, constituido por *T. polysporum* (IMI 206039) (Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria [EFSA], 2014h) y *T. atroviride* (IMI 206040) (Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria [EFSA], 2014f). Este bioplaguicida se recomienda para el control de *B. cinerea* en flores y frutos de fresa, así como en el control de *Chondrostereum purpureum*, causante de la enfermedad hoja de plata que afecta ramas de árboles de la familia Rosaceae, particularmente del género *Prunus* (cerezas y ciruelas) y en árboles de manzanos y peros. También controla a *Didymella*, que causa infección en todas las partes foliares de plantas de pepino, produce amarillamiento y marchitamiento de las hojas, además de lesiones café oscuro y hundidas en la base de la planta, que pueden expandirse y rodear el tallo al nivel del suelo o por encima de este. En estas lesiones se observan numerosos picnidios. Las esporas del hongo formadas en los picnidios pueden pasar al fruto, hojas y tallos, causando infecciones adicionales y la propagación de la enfermedad (EPA, 2017; EFSA, 2017b).

El bioproducto Incept®, a base de *Trichoderma hamatum* cepa 382, se recomienda para ser usado en invernadero y vivero; controla varias enfermedades foliares como mildeo polvoso y moho gris, y daños causados por bacterias en cultivos ornamentales. Se le atribuye capacidad de inducción de resistencia sistémica (ISR) (EPA, 2017).

Otros hongos filamentosos biocontroladores utilizados de forma individual han sido registrados como bioplaguicidas. Estos son AQ10® o M10®, cuyo principio activo es *Ampelomyces quisqualis* cepa M10 (Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria [EFSA], 2004a). Actualmente, se utiliza este biofungicida AQ10® para el control de especies de los géneros *Brasilomyces*, *Erysiphe*, *Leveillula*, *Microsphaera*, *Phyllactinia*, *Podosphaera*, *Sphaerotheca* y *Uncinula*, así como los anamorfos *Oidiopsis* y *Oidium*, en cultivos de berenjena, calabacín, calabaza, fresa, melón, manzano, pepino, pimiento, rosal, sandía, tomate y vid (Narayanasamy, 2013). Además, se le atribuyen como principales modos de acción el hiperparasitismo y la producción de antibióticos de naturaleza lipopeptídica (iturinas, fengicinas y surfactinas), con acción tóxica sobre la membrana del hongo, generando poros que desestabilizan su integridad (EPA, 2017; EFSA, 2017b).

El producto Prestop®, a base de la cepa J1446 de *Gliocladium catenulatum*, es recomendado para el control preventivo de *Didymella* (*Mycosphaerella*), moho gris (*Botrytis* sp.) en fresas, hortalizas, especias y plantas ornamentales en invernadero y campo (Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria [EFSA], 2004b). El bioplaguicida Botry-Zen®, a base de *Ulocladium oudemansii* cepa U39, se desarrolló específicamente para el control de *B. cinerea*, y compite por el mismo nicho ecológico y nutrientes; su uso se recomienda en cultivos de frutas (mora, arándano, grosellas, bayas, frambuesa), bulbos (ajo, puerros, cebollas, chalote), frutas cítricas (pomelos, limones, naranjas, lima, mandarina), cucurbitáceas (pepinos, melones y calabacín), entre otros cultivos como berenjena, pimiento, tomate, árboles frutales y de nueces, y plantas ornamentales.

Polyversum®, cuyo principio activo es *Pythium oligandrum* cepa DV74, aplicado al follaje de los cultivos, actúa en el control de diferentes patógenos como *Alternaria* spp., *Ascochyta* spp., *B. cinerea*, *Phoma* spp., *Plasmopara viticola* y *Puccinia* spp.; debido a su capacidad micoparasítica y competitiva, el ingrediente activo moviliza los mecanismos de defensa y aumenta la resistencia de las plantas a los ataques de hongos patógenos de manera preventiva (Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria [EFSA], 2013b; EPA, 2017; EFSA, 2017b).

En cuanto a agentes a base de levaduras propiamente dichas o de microorganismos similares a levaduras, se han registrado cuatro productos a base de cuatro géneros. Tres de ellos contienen levaduras de manera individual. Nexy®, a base de *Candida oleophila* cepa O, es recomendado para el control de *B. cinerea* y *Penicillium expansum* en el manejo en campo o poscosecha de manzanas, peras y cítricos, principalmente a través de la competencia por nutrientes y espacio mediante la precolonización de sitios de daño o heridas de las plantas (Jijakli, Lepoivre, Tossut, & Thonard, 1993), además de la producción de β-1,3-glucanasas que degradan las paredes celulares de los hongos fitopatógenos contribuyendo en su actividad antagonista. (Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria [EFSA], 2013a; Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos [EPA], 2009). Por otra parte, Ald1202®, a base de *Saccharomyces cerevisiae* cepa LAS02, es adecuado para uso en agricultura ecológica y para MIP, en el manejo de *Monilinia fructigena*, *Monilinia laxa*, *Monilinia fructicola*, *Botrytis* sp., *Alternaria* sp. *Neofabraea alba*, y *Penicillium* sp., aplicado en campo o en poscosecha por inmersión, empapado o pulverizado en frutas de pepa, frutas de hueso, uvas, tomate y fresa, donde actúa por competencia y colonización de las superficies de los frutos (Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria [EFSA], 2015).

Tambien a partir de *Pseudozyma flocculosa* cepa PF-A22 UL, aislada como epífita de la filósfera en trébol rojo (*Trifolium pratense*), distribuida ampliamente en América del Norte (Canadá y EE. UU.), se desarrolló el biofungicida Sporodex®, siendo un hiperparásito y controlador de varios mildeos polvosos como *Sphaerotheca pannosa* var. *Rosae*, *Sphaerotheca fuliginea*, *Erysiphe graminis* var. *Tritici* y *Erysiphe polygoni*, en las superficies aéreas de plantas como pepino y rosa en ecosistemas agrícolas de libre exposición o de invernadero. Esta levadura es un micoparásito que colapsa las estructuras del patógeno, ocasionándole muerte mediante la secreción de tres

ácidos grasos C-17 insaturados fungitóxicos (ácido 9-heptadecenoico, ácido 6-metil-9-heptadecenoico y ácido 4-metil-7,11heptadecadienoico) y un norterpeno acíclico (2, 6, 10, 14, 18-pentametil-2, 6, 8, 10, 12, 14, 17-nonadecahepteno-1,19-diol). Las fungitoxinas afectan las membranas plasmáticas y los orgánulos citoplásmicos dentro de los 30 minutos de exposición. Después de 24 horas, la respuesta inhibidora incluye pérdida de proteínas y electrolitos, haciendo que las células colapsen rápidamente y se produzca la muerte como resultado de la actividad de las fungitoxinas sobre las membranas y lípidos celulares. La sensibilidad a los ácidos grasos libres C-17 insaturados está relacionada con un alto grado de insaturación de los ácidos grasos fosfolípidos y una baja proporción de esteroles (Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos [EPA], 2002).

El producto con formulación mixta de levaduras, denominado Blossom protect®, a base de las cepas DSM 14940 y DSM 14941 de *Aureobasidium pullulans* var. *pullulans*, es recomendado para el tratamiento bactericida preventivo de *Erwinia amylovora* en flores de frutas de hueso. Estas levaduras compiten con el patógeno por inhibición competitiva (espacio y nutrientes) (Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria [EFSA], 2013b; EPA, 2017; EFSA, 2017b).

De los bioplaguicidas a base de Actinomicetes solamente existen dos. El primero, constituido por *Streptomyces* sp. cepa K61, cuyo nombre comercial es Mycostop®, se recomienda para el control de *Botrytis* en hojas, flores y frutos de tomate y otras hortalizas, plantas ornamentales y en flores como Gerbera; este compite por espacio y nutrientes, y presenta micoparasitismo mediado por la producción de metabolitos que alteran las paredes celulares del patógeno, inhibiéndolo (Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria [EFSA], 2014c). El segundo es Actinovate® AG, a base de *Streptomyces lydicus* cepa WYEC108, que se recomienda para aplicaciones en invernadero, vivero y campo, en el control preventivo de enfermedades foliares como mildeo polvoso y velloso y las causadas por *Botrytis* spp., *Monilinia* sp., *Alternaria* sp., *Mycosphaerella*, *Pseudomonas* sp., y *Xanthomonas* spp., en cultivos de cucurbitáceas, brasicáceas, hortalizas de hoja y de fruto, especias, uvas, bayas, arboles cítricos, frutas de hueso y de pomo, y cereales (Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria [EFSA], 2014d; EPA, 2017; EFSA, 2017b).

Tabla 1.3. Microorganismos utilizados como principios activos de bioplaguicidas, recomendados para el control de patógenos foliares que presentan registro en la Unión Europea (UE) y en Estados Unidos (EE. UU.)

Ingrediente activo	Cepa	Nombre comercial / formulación registro Unión Europea (UE)	Nombre comercial / formulación / Estados Unidos de América (EE. UU.)
Hongo			
Ampelomyces quisqualis	M10	AQ10® WG	M10® WG
Gliocladium catenulatum	J1446	Prestop® WG	
Pythium oligandrum	DV 74		Polyversum®
Trichoderma hamatum	382		Incept®
Trichoderma asperellum *Trichoderma gamsii*	ICC 012 ICC 080	Bioten®, Tenet® WP, Remedier®	Bioten®WP Nombres alternos: Bio-Tam® 2.0, Tenet® WP, Remedier WP, Tenet® T&O
Trichoderma polysporum *Trichoderma harzianum*	IMI 206039 IMI 206040	Binab T® WP	
Ulocladium oudemansii	U3		Botry-Zen® Nombre alterno: Zen-O-Spore®

(Continúa)

(Continuación tabla 1.3)

Ingrediente activo	Cepa	Nombre comercial / formulación registro Unión Europea (UE)	Nombre comercial / formulación / Estados Unidos de América (EE. UU.)
Levadura			
Aureobasidium pullulans var. *pullulans*	DSM 14940 DSM 14941	Blossom protect® WG	
Candida oleophila	O	Nexy® WG	
Saccharomyces cerevisiae	LAS02	ALD1202® WG	
Pseudozyma flocculosa	PF-A22 UL		Sporodex® L
Bacteria			
Bacillus amyloliquefaciens	MBI 600	Subtilex® WP	Subtilex® NG WP
Bacillus subtilis var. *amyloliquefaciens*	FZB 24	Taegro 2® WP	
Bacillus amyloliquefaciens subsp. *plantarum*	D747	CX-9030® WG	CX-9030® WG, Nombres alternos: Double Nickel 55®, Amylo-X®, Bacstar®
Bacillus pumilus	QST 2808	Sonata® SC	Sonata® ASO Nombres alternos: Sonata®, BAY2100®, Ballad® Plus,
Bacillus subtilis	QST 713	Serenade® WP	Serenade® Garden WP Nombre alterno: Natria®
Pantoea agglomerans	E325		Bloomtime Biological® FD Biopesticide WP
Pantoea agglomerans	C9-1		Blight C9-1®
Pseudomonas fluorescens	A506		BlightBan®
Pseudomonas sp.	DSMZ 13134	Proradix® WP	
Actinomicete			
Streptomyces sp.	K61	Mycostop® WP	
Streptomyces lydicus	WYEC 108		Actinovate® AG

WG: Gránulos humectables / dispersables en agua; WP: Polvos humectables; SC: Suspensión concentrada; L: Líquido.

Fuente: Adaptada de EFSA (2017b) y EPA (2017)

Conclusiones y perspectivas

A pesar de los importantes avances logrados en el control biológico de patógenos foliares, aún falta mucho por investigar, pues no hay una oferta de bioplaguicidas registrados para el control de varios de los fitopatógenos foliares considerados más limitantes a nivel mundial; tal es el caso de *Magnaporthe oryzae*, *Puccinia* spp., *Fusarium graminearum*, *Blumeria graminis*, *Mycosphaerella graminicola*, *Pseudomonas syringae*, *Xanthomonas oryzae*, *Xanthomonas campestris*, *Xanthomonas axonopodis* y *Erwinia amylovora*, entre otros. Por otra parte, muchos de los bioplaguicidas existentes tienen limitada vida útil e inconsistente actividad en campo, lo que sugiere limitaciones en el conocimiento ecofisiológico de los aislamientos usados como principios activos de dichos productos, problemas en su formulación y en los estudios de compatibilidad de estos con todas las prácticas utilizadas en el cultivo.

Los biocontroladores usados para el control de fitopatógenos foliares, además de ser eficientes contra una variedad de enfermedades del cultivo tratado, deben tener características tales como compatibilidad con los productos y prácticas de control que se usan en los cultivos. Estos deben ser capaces de mantenerse activos y de sobrevivir en presencia de los plaguicidas químicos y de los fertilizantes que se utilizan comúnmente en el cultivo; además, deben sobrevivir a los métodos culturales que se emplean.

Estos agentes de control biológico deben actuar lo suficientemente rápido para evitar que el patógeno alcance a afectar las plantas, pues una vez que este haya producido daño en el cultivo, normalmente será demasiado tarde para que el biocontrolador lo detenga. La resistencia inducida es un mecanismo importante de la actividad biocontroladora, ya que esta generalmente actúa contra varios tipos de patógenos e incluso contra insectos plaga.

Los patógenos que necesitan nutrientes para su germinación o para la penetración del tejido del huésped pueden verse afectados por un biocontrolador que es rápido para utilizar los nutrientes, por lo que esta característica podría incluirse para la selección de biocontroladores potenciales.

Dado que las condiciones medioambientales tienden a cambiar durante el desarrollo del cultivo y durante el curso de la enfermedad, se deben desarrollar tecnologías que le confieran tolerancia al biocontrolador frente a condiciones tales como cambios en la temperatura, en el nivel de humedad y en la radiación solar, así como frente a la sequía, presencia de diversos iones tóxicos y de productos químicos. La supervivencia en condiciones adversas es necesaria cuando el período de actividad del microorganismo biocontrolador es largo y cuando este debe persistir en función del período de actividad del patógeno y de las condiciones del tejido vegetal susceptible.

Los microorganismos biocontroladores pueden enfrentar antagonismo por parte de la microflora nativa presente en los sitios de aplicación. Por lo tanto, este debe tolerar la actividad antagonista de dicha microflora. La formulación podría ayudar a prolongar la vida útil del biocontrolador, así como a extender la duración de su actividad en condiciones ambientales variables y frente a la microflora competitiva.

Para resolver todos los cuellos de botella de los agentes de control biológico de fitopatógenos foliares, es necesario incrementar los esfuerzos de investigación básica y aplicada, promoviendo enfoques multidisciplinarios para integrar el control biológico dentro de una estrategia de manejo integrado de plagas y de manejo integrado del cultivo. Dentro de este contexto, se deben identificar las condiciones de la interacción del biocontrolador con la planta y con el patógeno para reducir la inconsistencia en la actividad biocontroladora. En este sentido, se puede sugerir la combinación del bioplaguicida en cuestión, con otros agentes de control biológico o con otras estrategias (químicas, físicas o culturales) de control. La resistencia inducida es un modo de acción prometedor que requiere ser explotado en las aplicaciones prácticas, pues la planta responde a algunas moléculas de señalización del biocontrolador. En este caso, la investigación puede dirigirse a ambos componentes del proceso de interacción. El estudio de la fracción de señalización en el microorganismo biocontrolador y su modificación pueden revelar un inductor más potente que desempeñe su función de señalización en una gama de condiciones más amplia. En el ámbito de reacción de la planta, la modificación de los genes que son importantes para la cascada de señalización de resistencia sistémica permitirá una respuesta más potente.

Por otra parte, dado que las técnicas de aplicación de los bioplaguicidas para el control de patógenos foliares suelen ser deficientes, lo que está relacionado con un déficit de conocimiento sobre el tipo de equipos, presiones y modo de uso de estos, se debe investigar este tema y comunicarlo a los agricultores y los vendedores de dichos productos. Es importante también desarrollar y difundir sistemas de soporte para la toma de decisiones sobre los momentos adecuados en que se deben aplicar los bioplaguicidas. Asimismo, es importante establecer parcelas para demostrar los beneficios del control biológico y conformar redes de agricultores que ayuden a la difusión de las prácticas exitosas. Es claro que, para que aumente el uso del control biológico, se requiere de asesores, asistentes técnicos y de agricultores más calificados, por lo que su capacitación es fundamental para el éxito de esta estrategia.

Agradecimientos

Los autores agradecen a AGROSAVIA en Colombia y al Volcani Center de Israel, así como a las agencias que han financiado las investigaciones desarrolladas en el tema. Asimismo, agradecen a sus grupos de trabajo por haber contribuido significativamente al logro de muchos de los resultados y estrategias de trabajo aquí planteados.

Referencias

Abanda-Nkpwatt, D., Krimm, U., Coiner, H. A., Schreiber, L., & Schwab, W. (2006). Plant volatiles can minimize the growth suppression of epiphytic bacteria by the phytopathogenic fungus *Botrytis cinerea* in co-culture experiments. *Environmental and Experimental Botanic*, *56*(1), 108-119. doi:10.1016/j.envexpbot.2005.01.010.

Abdallah, M. E., Haroun, S. A., Gomah, A. A., El-Naggar, N. E., & Badr, H. H. (2013). Application of actinomycetes as biocontrol agents in the management of onion bacterial rot diseases. Arch. Phytopathol. *Plant Protection*, *46*(15), 1797-1808. doi:10.1080/03235408.2013.778451.

Abel., P. P., Nelson. R. S., De, B., Hoffmann, N., Rogers, S. G., ... Beachy, R. N. (1986). Delay of disease development in transgenic plants that express the tobacco mosaic virus coat protein gene. *Science*, *232*(4751), 738-744.

Abriouel, H., Franz, C. M. A. P., Omar, N. B., & Gálvez, A. (2011). Diversity and applications of *Bacillus bacteriocins*. *FEMS Microbiology Review*, *35*(1), 201-232. doi:10.1111/j.1574-6976.2010.00244.x.

Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA). (2002). *Pseudozyma flocculosa strain PF-A22 UL (PC Code 119196) Pseudozyma flocculosa strain PF-A22 UL (TGAI) SPORODEX L (EP)*. Recuperado de https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/registration/decision_PC-119196_1-Sep-02.pdf.

Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA). (2009). *Candida oleophila Strain O PC Code: 021010 office of pesticide programs biopesticides and pollution prevention division last updated*. Recuperado de https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/registration/decision_PC-021010_15-Jul-09.pdf.

Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA). (2017). *Pesticides*. Recuperado de https://www.epa.gov/pesticides.

Agrios, G. N. (2015). *Plant pathology*. Londres, Inglaterra: Elsevier.

Ajith, P., & Lakshmidevi, N. (2010). Effect of volatile and non-volatile compounds from *Trichoderma* spp. against *Colletotrichum capsici* incitant of anthracnose on bell peppers. *Nature and Science*, *8*(9), 265-269.

Ajouz, S., Nicot, P. C., & Bardin, M. (2010). Adaptation to pyrrolnitrin in *Botrytis cinerea* and cost of resistance. *Plant Pathology*, *59*(3), 556-566. doi:10.1111/j.1365-3059.2009.02230.x.

Aksu, Z., & Eren, A. T. (2007). Production of carotenoids by the isolated yeast of *Rhodotorula glutinis*. *Biochemical Engineering Journal*, *35*(2), 107-113. doi:10.1016/j.bej.2007.01.004.

Al-Awadhi, H., Al-Mailem, D., Dashti, N., Hakam, L., Eliyas, M., & Radwan, S. (2012). The abundant occurrence of hydrocarbon-utilizing bacteria in the phyllospheres of cultivated and wild plants in Kuwait. *International Biodeterioration & Biodegradation*, *73*, 73-79. doi:10.1016/j.ibiod.2012.05.016.

Albano, S., Chagnon, M., De Oliveira, D., Houle, E., Thibodeau, P., & Mexia, A. (2009). Effectiveness of Apis mellifera and bombus impatiens as dispersers of the Rootshield® biofungicide (*Trichoderma harzianum*, strain T-22) in a strawberry crop. *Hellenic Plant Protection Journal*, *2*(2), 57-66.

Alfonzo, A., Conigliaro, G., Torta, L., Burruano, S., & Moschetti, G. (2009). Antagonism of *Bacillus subtilis* strain AG1 against vine wood fungal pathogens. *Phytopathologia Mediterranea*, *48*, 155-158. doi:10.14601/Phytopathol_Mediterr-2886.

Ali, G. S., El-Sayed, A. S. A., Patel, J. S., Green, K. B., Ali, M., ... Norman, D. (2016). *Ex vivo* application of secreted metabolites produced by soil-inhabiting *Bacillus* spp. Efficiently controls foliar diseases caused by *Alternaria* spp. *Applied and Environmental Microbiology*, *82*(12), 478-490. doi:10.1128/aem.02662-15.

Ali, H., & Nadarajah, K. (2014). Evaluating the efficacy of *Trichoderma* spp. and *Bacillus subtilis* as biocontrol agents against *Magnaporthe grisea* in rice. *Australian Journal of Crop Science, 8*(9), 1324.

Ali, N., Sorkhoh, N., Salamah, S., Eliyas, M., & Radwan, S. (2012). The potential of epiphytic hydrocarbon-utilizing bacteria on legume leaves for attenuation of atmospheric hydrocarbon pollutants. *Journal of Environmental Management, 93*(1), 113-120. doi:10.1016/j.jenvman.2011.08.014.

Alippi, A. M., Perelló, A. E., Sisterna, N. M., Greco, N. M., & Cordo, C. A. (2000). Potential of Spore-forming bacteria as biocontrol agents of wheat foliar diseases under laboratory and greenhouse conditions. *Journal of Plant Diseases and Protection, 107*(2), 155-169.

Allard, H. A. (1915). Distribution of the virus of the mosaic disease in capsules, filaments, anthers, and pistils of affected tobacco plants. *Journal of Agricultural Research, 5*(6), 251-256.

Anagnostakis, S. L. (1982). Biological control of chestnut blight. *Science, 215*(4532), 466-471. doi:10.1126/science.215.4532.466.

Andrews, J. H. (1990). Biological control in the phyllosphere: Realistic goal or false hope? *Canadian Journal of Plant Pathology, 12*(3), 300-307. doi:10.1080/07060669009501004.

Andrews, J. H. (1992). Biological control in the phyllosphere. *Annual Review of Phytopathology, 30*, 603-635. doi:10.1146/annurev.py.30.090192.003131.

Andrews, J. H., & Harris, R. F. (2000). The ecology and biogeography of microorganisms on plant surfaces. *Annual Review of Phytopathology, 38*, 145-180. doi:10.1146/annurev.phyto.38.1.145.

Aoki, M., Tan, M., Fukushima, A., Hieda, T., Kubo, S., ... Mikami, Y. (1993). Antiviral substances with systemic effects produced by basidiomycetes such as fomes fomentarius. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry, 57*(2), 278-282. doi:10.1271/bbb.57.278.

Ara, I., Bukhari, N. A., Aref, N., Shinwari, M. M., & Bakir, M. (2012). Antiviral activities of streptomycetes against tobacco mosaic virus (TMV) in Datura plant: Evaluation of different organic compounds in their metabolites. *African Journal of Biotechnology, 11*(8), 2130-2138. doi:10.5897/AJB11.3388.

Arguelles-Arias, A., Ongena, M., Halimi, B., Lara, Y., Brans, A., ... Fickers, P. (2009). *Bacillus amyloliquefaciens* GA1 as a source of potent antibiotics and other secondary metabolites for biocontrol of plant pathogens. *Microbial Cell Factories, 8*, 63. doi:10.1186/1475-2859-8-63.

Arnold, A. E., Maynard, Z., Gilbert, G. S., Coley, P. D., & Kursar, T. A. (2000). Are tropical fungal endophytes hyperdiverse? *Ecology Letters, 3*(4), 267-274. doi:10.1046/j.1461-0248.2000.00159.x.

Arya, S., & Parashar, R. (2002). Biological control of cotton bacterial blight with phylloplane bacterial antagonists. *Troical Agriculture, 79*(1), 51-55.

Ashwini, N., & Srividya, S. (2014). Potentiality of *Bacillus subtilis* as biocontrol agent for management of anthracnose disease of chilli caused by *Colletotrichum gloeosporioides* OGC1. *Biotechnology, 4*(2), 127-136. doi:10.1007/s13205-013-0134-4.

Atlas, R. M., & Bartha, R. (2002). *Ecología microbiana y microbiología ambiental*. Madrid, España: Pearson-Addison Wesley.

Audy, P., Palukaitis, P., Slack, S. A., & Zaitlin, M. (1994). Replicase-mediated resistance to potato virus Y in transgenic tobacco plants. *Molecular Plant Microbe Interactions, 7*(1), 15-15. doi:10.1094/MPMI-7-0015.

Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA). (2004a). *Ampelomyces quisqualis 4205/VI/98*. Recuperado de http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-databasepublic/?event=activesubstance.detail&language=EN&selectedID=959.

Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA). (2004b). *Gliocladium catenulatum SANCO/10383/2004*. Recuperado de http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=activesubstance.detail&language=EN&selectedID=1435.

Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA). (2006). *Bacillus subtilis SANCO/10184/2003*. Recuperado de http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=activesubstance.detail&language=EN&selectedID=986.

Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA). (2013a). *Candida oleophila strain O SANCO/10395/2013*. Recuperado de http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=activesubstance.detail&language=EN&selectedID=1074.

Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA). (2013b). *Pythium oligandrum M1 SANCO/1864/08*. Recuperado de http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=activesubstance.detail&language=EN&selectedID=1810.

Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA). (2014a). *Bacillus amyloliquefaciens subsp. plantarum*

strain D747. SANCO/11391/2014. Recuperado de http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=activesubstance.detail&language=EN&selectedID=2252.

Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA). (2014b). *Bacillus pumilus QST 2808 SANCO/12800/2013*. Recuperado de http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=activesubstance.detail&language=EN&selectedID=2253.

Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA). (2014c). *Streptomyces K61 (formerly Streptomyces griseoviridis) SANCO/1865/08*. Recuperado de http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=activesubstance.detail&language=EN&selectedID=1895.

Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA). (2014d). *Streptomyces lydicus strain WYEC 108 SANCO/11427/2014*. Recuperado de http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=activesubstance.detail&language=EN&selectedID=2256.

Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA). (2014e). *Trichoderma asperellum (formerly T. harzianum) ICC012 SANCO/1842/08*. Recuperado de http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=activesubstance.detail&language=EN&selectedID=1979.

Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA). (2014f). *Trichoderma atroviride IMI 206040 (formerly T. harzianum IMI 206040) SANCO/1866/08*. Recuperado de http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=activesubstance.detail&language=EN&selectedID=1980.

Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA). (2014g). *Trichoderma gamsii ICC080, Trichoderma asperellum T25 and TV1, formerly Trichoderma viride strain ICC080, strain T-25 and strain TV1 SANCO/1868/08*. Recuperado de http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=activesubstance.detail&language=EN&selectedID=1982.

Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA). (2014h). *Trichoderma polysporum IMI 206039 SANCO/1867/08*. Recuperado de http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=activesubstance.detail&language=EN&selectedID=1984.

Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA). (2015). European Food Safety Authority. Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance Saccharomyces cerevisiae LAS02. *EFSA Journal, 13*(12), 4322-4329 doi:10.2903/j.efsa.2015.4322.

Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA). (2016a). *Bacillus amyloliquefaciens strain MBI 600 SANTE/10008/2016*. Recuperado de http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=activesubstance.detail&language=EN&selectedID=2325.

Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA). (2016b). *Pseudomonas sp. strain DSMZ 13134 SANCO/11455/2013*. Recuperado de http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=activesubstance.detail&language=EN&selectedID=1787.

Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA). (2017a). *Bacillus amyloliquefaciens strain FZB24 SANTE/12037/2016*. Recuperado de http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=activesubstance.detail&language=EN&selectedID=2324.

Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA). (2017b). *Healt and food safety*. Recuperado de http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=activesubstance.selection&language=EN.

Avelino, J., Cristancho, M., Georgiou, S., Imbach, P., Aguilar, L., Bornemann, G., ... Morales, C. (2015). The coffee rust crises in Colombia and Central America (2008-2013): impacts, plausible causes and proposed solutions. *Food Security, 7*(2), 303-321. doi:10.1007/s12571-015-0446-9.

Avis, T. J., & Bélanger, R. R. (2002). Mechanisms and means of detection of biocontrol activity of *Pseudozyma* yeasts against plant-pathogenic fungi. *FEMS Yeast Research, 2*(1), 5-8. doi:10.1111/j.1567-1364.2002.tb00062.x.

Avis, T. J., Caron, S. J., Boekhout, T., Hamelin, R. C., & Bélanger, R. R. (2001). Molecular and physiological analysis of the powdery mildew antagonist *Pseudozyma flocculosa* and related fungi. *Phytopathology, 91*(3), 249-254. doi:10.1094/PHYTO.2001.91.3.249.

Baker, C. J., Stavely, J. R., & Mock, N. (1985). Biocontrol of bean rust by *Bacillus subtilis* under field conditions. *Plant Disease, 69*(9), 770-772.

Baker, K. F. (1987). Evolving concepts of biological control of plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology, 25*, 67-85. doi:10.1146/annurev.py.25.090187.000435.

Barbieri, L., Battelli, M. G., & Stirpe, F. (1993). Ribosome-inactivating proteins from plants. *Biochimica et Biophysica Acta*, *1154*(3-4), 237-282. doi:10.1016/0304-4157(93)90002-6.

Beachy, R. N. (1999). Coat-protein-mediated resistance to tobacco mosaic virus: discovery mechanisms and exploitation. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, *354*(1383), 659-664. doi:10.1098/rstb.1999.0418.

Beattie, G. A., & Lindow, S. E. (1995). The secret life of foliar bacterial pathogens on leaves. *Annual Review of Phytopathology*, *33*, 145-172. doi:10.1146/annurev.py.33.090195.001045.

Beever, R. E., & Weeds, P. L. (2004). Taxonomy and genetic variation of *botrytis* and *Botryotinia*. En Y. Elad, B. Williamson, P. Tudzynski, & N. Delen (Eds.), *Botrytis: Biology, Pathology and Control* (pp. 29-52). Dordrecht, Holanda: Springer. doi:10.1007/978-1-4020-2626-3_3.

Begerow, D., Bauer, R., & Boekhout, T. (2000). Phylogenetic placements of ustilaginomycetous anamorphs as deduced from nuclear LSU rDNA sequences. *Mycology Research*, *104*(1), 53-60. doi:10.1017/S0953756299001161.

Bélanger, R. R., Dufour, N., Caron, J., & Benhamou, N. (1995). Chronological events associated with the antagonistic properties of *Trichoderma harzianum* against *Botrytis cinerea*: Indirect evidence for sequential role of antibiosis and parasitism. Biocontrol *Science and Technology*, *5*(1), 41-54. doi:10.1080/09583159550040006.

Belsare, S. W., Moniz, L., & Deo, V. B. (1980). The hyperparasite *Ampelomyces quisqualis* Ces. from Maharashtra State, India. *Biovigyanam*, *6*(2), 173-176.

Beltrán-Acosta, C. R., & Cotes-Prado, M. A. (2009). Promoción de crecimiento en endurecimiento de plántulas de mora producidas *in vitro* (efecto de la aplicación de *Trichoderma koningiopsis* Th003). En L. S. Barrero-Meneses (Ed.), *Caracterización, evaluación y producción de material limpio de mora con alto valor agregado* (pp. 57-63). Bogotá, Colombia: Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica).

Bhatt, D. D., & Vaughan, E. K. (1962). Preliminary investigations on biological control of grey mould (*Botrytis cinerea*) of strawberries. *Plant Disease Reporter*, *46*, 342-345.

Bilu, A., Dag, A., Elad, Y., & Shafir, S. (2004). Honey bee dispersal of biocontrol agents: An evaluation of dispensing devices. *Biocontrol Science Technology*, *14*(6), 607-617. doi:10.1080/09583150410001682340.

Bochow, H., El-Sayed, S. F., Junge, H., Stavropoulou, A., & Schmiedeknecht, G. (2001). Use of *Bacillus subtilis* as biocontrol agent. IV. Salt-stress tolerance induction by *Bacillus subtilis* FZB24 seed treatment in tropical vegetable field crops, and its mode of action. *Journal of Plant Diseases and Protection*, *108*(1), 21-30.

Boddy, L. (2016). Pathogens of Autotrophs. En S. C. Watkinson, N. Money, & L. Boddy (Ed.), *The Fungi* (pp. 245-292). Boston, EE. UU.: Academic Press. doi:10.1016/B978-0-12-382034-1.00008-6.

Boekhout, T. (1995). *Pseudozyma* bandoni emend. Boekhout, a genus for yeast-like anamorphs of ustilaginales. *The Journal of General and Applied Microbiology*, *41*(4), 359-366. doi:10.2323/jgam.41.359.

Boland, G. J., & Hunter, J. E. (1988). Influence of *Alternaria alternata* and *Cladosporium cladosporioides* on white mold of bean caused by *Sclerotinia sclerotiorum*. *Canadian Journal of Plant Pathology*, *10*(2), 172-177. doi:10.1080/07060668809501750.

Borriss, R. (2011). Use of plant-associated *Bacillus* strains as biofertilizers and biocontrol agents in agriculture. En: D. K. Maheshwari (Ed.), *Bacteria in agrobiology: Plant growth responses* (pp. 41-76). Berlin, Alemania: Springer. doi:10.1007/978-3-642-20332-9_3.

Bradbury, J. F. (1986). *Guide to plant pathogenic bacteria*. Minnesota, EE. UU: CAB International, University of Minnesota.

Brederode, F. T., Taschner, P. E. M., Posthumus, E., & Bol, J. F. (1995). Replicase-mediated resistance to Alfalfa Mosaic Virus. *Virology*, *207*(2), 467-474. doi:10.1006/viro.1995.1106.

Brent, K. J., & Hollomon, D. W. (2007). *Fungicide resistance: the assessment of risk*. Bruselas, Belgica: Global crop protection federation Brussels.

Brigneti, G., Voinnet, O., Li, W. X., Ji, L.H., Ding, S. W., & Baulcombe, D. C. (1998). Retracted: Viral pathogenicity determinants are suppressors of transgene silencing in *Nicotiana benthamiana*. *The EMBO Journal*, *17*(22), 6739-6746. doi:10.1093/emboj/17.22.6739.

Brunner, K., Zeilinger, S., Ciliento, R., Woo, S. L., Lorito, M., Kubicek, C. P., & Mach, R. L. (2005). Improvement of the fungal biocontrol agent *Trichoderma atroviride* to enhance both antagonism

and induction of plant systemic disease resistance. *Applied and Environmental Microbiology*, *71*(7), 3959-3965. doi:10.1128/aem.71.7.3959-3965.2005.

Buck, J. W., & Andrews, J. H. (1999). Attachment of the yeast *Rhodosporidium toruloides* is mediated by adhesives localized at sites of bud cell development. *Applied and Environmental Microbiology*, *65*(2), 465-471.

Buck, J. W., & Burpee, L. L. (2002). The effects of fungicides on the phylloplane yeast populations of creeping bentgrass. *Canadian Journal of Microbiology*, *48*(6), 522-529. doi:10.1139/w02-050.

Caffi, T., Legler, S. E., Bugiani, R., & Rossi, V. (2013). Combining sanitation and disease modelling for control of grapevine powdery mildew. *European Journal of Plant Pathology*, *135*(4), 817-829. doi:10.1007/s10658-012-0124-0.

Calvente, V., Benuzzi, D., & de Tosetti, M. I. S. (1999). Antagonistic action of siderophores from *Rhodotorula glutinis* upon the postharvest pathogen *Penicillium expansum*. *International Biodeterioration and Biodegradation*, *43*(4), 167-172. doi:10.1016/S0964-8305(99)00046-3.

Campbell, R. (1989). *Biological control of microbial plant pathogens*. Cambridge, Reino Unido: Cambridge University. doi.10.1017/CBO9780511608612.

Cannon, P. F., Damm, U., Johnston, P. R., & Weir, B. S. (2012). *Colletotrichum* – current status and future directions. *Studies in Mycology*, *73*, 181-213. doi:10.3114/sim0014.

Cano, R., & Borucki, M. K. (1995). Revival and identification of bacterial spores in 25- to 40-million-year-old dominican amber. *Science*, *268*(5213), 1060-1064.

Carisse, O., & Rolland, D. (2004). Effect of timing of application of the biological control agent microsphaeropsis ochracea on the production and ejection pattern of ascospores by *Venturia inaequalis*. *Phytopathology*, *94*(12), 1305-1314. doi:10.1094/PHYTO.2004.94.12.1305.

Carisse, O., Willman-Desbiens, W., Toussaint, V., & Otis, T. (1998). *Preventing Black Rot*. Quebec, Canadá: Agriculture and Agri-Food Canada.

Carrer-Filho, R., Romeiro, R. S., & Garcia, F. A. O. (2008). Biocontrole de doenças de parte aérea do tomateiro por *Nocardioides thermolilacinus*. *Tropical Plant Pathology*, *33*(6), 457-460. doi:10.1590/S1982-56762008000600010.

Collins, D. P., & Jacobsen, B. J. (2003). Optimizing a *Bacillus subtilis* isolate for biological control of sugar beet cercospora leaf spot. *Biological Control*, *26*(2), 153-161. doi:10.1016/S1049-9644(02)00132-9.

Comité Nacional Sistema Producto Mango (Conaspromango). (2012). *Plan rector nacional de sistema producto mango*. Colima, México: Comite Nacional del Sistema Producto Mango.

Cook, R. J. (1988). Biological control and holistic plant-health care in agriculture. *American Journal of Alternative Agriculture*, *3*(2-3), 51-62. doi:10.1017/S0889189300002186.

Cooper, B., Lapidot, M., Heick, J. A., Dodds, J. A., & Beachy, R. N. (1995). Multivirus resistance in transgenic tobacco plants expressing a dysfunctional movement protein of tobacco mosaic virus. *Virology*, *206*, 307-313.

Cotes, A. M. (2001). Biocontrol of fungal plant pathogens - from the discovery of potential biocontrol agents to the implementation of formulated products. *IOBC Bulletin*, *24*(3), 43-47.

Cotes, A. M., Moreno, C. A., Molano, L. F., Villamizar, L., & Piedrahita, W. (2007). Prospects for integrated management of *Sclerotinia sclerotiorum* in lettuce. *IOBC/WPRS Bulletin*, *30*(6), 391-394.

Cotes, A. M., Zapata, J., Díaz, A., García, M., Medina, C., ... Uribe, D. (2011). Selección de levaduras filosféricas con potencial para el control biológico de *Botrytis cinerea*. *Fitopatología Colombiana*, *35*(2), 51-56.

Cuéllar-Quintero, A., Álvarez-Cabrera, E., & Castaño-Zapata, J. (2011). Evaluación de resistencia de genotipos de plátano y banano a la Sigatoka negra. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, *64*(1), 5853-5865.

Cullen, D., Berbee, F. M., & Andrews, J. H. (1984). *Chaetomium globosum* antagonizes the apple scab pathogen, *Venturia inaequalis*, under field conditions. *Canadian Journal of Botany*, *62*(9), 1814-1818. doi:10.1139/b84-245.

Cuppels, D. A., Higham, J., & Traquair, J. A. (2013). Efficacy of selected streptomycetes and a streptomycete+pseudomonad combination in the management of selected bacterial and fungal diseases of field tomatoes. *Biological Control*, *67*, 361-372. doi:10.1016/j.biocontrol.2013.09.005.

Chaparro, A. P., Carvajal, L. H., & Orduz, S. (2011). Fungicide tolerance of *Trichoderma asperelloides* and *T. harzianum* strains. *Agricultural sciences*, *2*(3), 301-307. doi:10.4236/as.2011.23040.

Chen, X. H., Koumoutsi, A., Scholz, R., Schneider, K., Vater, J., ... Borriss, R. (2009). Genome analysis of *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 reveals its potential for biocontrol of plant pathogens. *Journal of Biotechnology, 140*(1-2): 27-37. doi:10.1016/j.jbiotec.2008.10.011.

Chet, I., Benhamou, N., & Haran, S. (1998). Mycoparasitism and lytic enzymes. En G. E. Harman, C. P. Kubicek (Eds.), *Trichoderma* and *Gliocladium* (pp. 153-171). Londres, Reino Unido: Taylor and Francis Ltd.

Chitarra, G. S., Breeuwer, P., Nout, M. J. R., Van Aelst, A. C., ... Abee, T. (2003). An antifungal compound produced by *Bacillus subtilis* YM 10–20 inhibits germination of *Penicillium roqueforti* conidiospores. *Journal Applied Microbiology, 94*(2), 159-166. doi:10.1046/j.1365-2672.2003.01819.x.

Daoust, R. A., & Hofstein, R. (1996). Ampelomyces quisqualis, a new biofungicide to control powdery mildew in grapes. En British Crop Protection Council (Ed.), *Brighton Crop Protection Conference, Pest and Diseases* (pp. 33-40). Farnham, Reino Unido: British Crop Protection Council.

Dayarathne, M., Boonmee, S., Braun, U., Crous, P., Daranagama, D., ... Maharachchikumbura, S. (2016). Taxonomic utility of old names in current fungal classification and nomenclature: Conflicts, confusion & clarifications. *Mycosphere, 7*(11), 1622-1648. doi:10.5943/mycosphere/7/11/2.

De Jong, J. C., McCormack, B. J., Smirnoff, N., & Talbot, N. J. (1997). Glycerol generates turgor in rice blast. *Nature, 389*, 244. doi:10.1038/38418.

De Meyer, G., Bigirimana, J., Elad, Y., & Höfte, M. (1998). Induced systemic resistance in *Trichoderma harzianum* T39 biocontrol of *Botrytis cinerea*. *European Journal of Plant Pathology, 104*(3), 279-286. doi:10.1023/a:1008628806616.

Dean, R., Van Kan, J. A., Pretorius, Z.A., Hammond-Kosack, K.E., Di Pietro, A., Spanu, P.D., ... Ellis, J. (2012). The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology, 13*(4), 414-430. doi:10.1111/j.1364-3703.2011.00783.x.

Défago, G., Berling, C. H., Burger, U., Haas, D., Kahr, G., ... Wüthrich, B. (1990). Suppression of black root rot of tobacco and other root diseases by strains of *Pseudomonas fluorescens*: potential applications and mechanisms. En D. Hornby (Ed.), *Biological control of soil-borne plant pathogens* (pp. 93-108). Wallingford, Reino Unido: CAB International.

Dennis, C., & Webster, J. (1971). Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*: II. Production of volatile antibiotics. *Transactions of the British Mycological Society, 57*(1), 41-IN44. doi:10.1016/S0007-1536(71)80078-5.

Deom, C. M., Schubert, K. R., Wolf, S., Holt, C. A., Lucas, W. J., & Beachy, R. N. (1990). Molecular characterization and biological function of the movement protein of tobacco mosaic virus in transgenic plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences, 87*(9), 3284-3288.

Dewey, F. M., & Grant-Downton, R. (2016). *Botrytis* -Biology, Detection and Quantification. En S. Fillinger & Y., Elad (Eds.), *Botrytis – the Fungus, the Pathogen and its Management in Agricultural Systems* (pp. 17-34). Cham, Suiza: Springer International Publishing.

Dickinson, C. H., & Preece, T. F. (1977). *Microbiology of aerial plant surfaces*. Londres, Inglaterra: Academic Press. doi:10.1002/jobm.19770170712.

Ding, S. W., Li, W. X., & Symons, R. H. (1995). A novel naturally occurring hybrid gene encoded by a plant RNA virus facilitates long distance virus movement. *The EMBO Journal, 14*(23), 5762-5772.

Dodd, S. L., Lieckfeldt, E., & Samuels, G. J. (2003). *Hypocrea atroviridis* sp. *nov*., the teleomorph of *Trichoderma atroviride*. *Mycologia, 95*(1), 27-40. doi:10.1080/15572536.2004.11833129.

Doudoroff, M., & Palleroni, N. J. (1974). Genus I. *Pseudomonas migula*. En R. E. Buchanan & N. E. Gibbons (Eds.), *Bergey's manual of determinative bacteriology* (pp. 217-243). Baltimore, EE. UU.: Williams & Wilkins.

Droby, S., Wisniewski, M., Macarisin, D., & Wilson, C. (2009). Twenty years of postharvest biocontrol research: Is it time for a new paradigm? *Postharvest Biology and Technology, 52*(2), 137-145. doi:10.1016/j.postharvbio.2008.11.009.

Druzhinina, I. S., Kopchinskiy, A. G., & Kubicek, C. P. (2006). The first 100 *Trichoderma* species characterized by molecular data. *Mycoscience, 47*, 55-64. doi:10.1007/S10267-006-0279-7.

Duan, C. G., Wang, C. H., & Guo, H. S. (2012). Application of RNA silencing to plant disease resistance. *Silence, 3*, 5. doi:10.1186/1758-907X-3-5.

Dubos, B. (1992). Biological control of Botrytis, State -of-the-art. En K. Verhoeff, N. Malathrakis, & B. Williamson (Eds.), *Recent advances in Botrytis*

research (pp. 169-178). Wageningen, Holanda: Pudoc Scientific Publishers.

Duggar, B. M., & Armstrong, J. K. (1925). The effect of treating the Virus of Tobacco Mosaic with the juices of various plants. *Annals of the Missouri Botanical Garden, 12*(4), 359-366. doi:10.2307/2394061.

Edwards, S., & Seddon, B. (1992). Bacillus brevis as biocontrol agent against *Botrytis cinerea* on protected Chinese cabbage. En K. Verhoeff, N. Malathrakis, & B. Williamson (Eds.), *Recent advances in Botrytis research* (pp. 267-271). Wageningen, Holanda: Pudoc Scientific Publishers.

Eichenlaub, R., & Gartemann, K. H. (2011). The *Clavibacter michiganensis* subspecies: Molecular investigation of gram-positive bacterial plant pathogens.*Annual Review of Phytopathology, 49*, 445-464. doi:10.1146/annurev-phyto-072910-095258.

Elad, Y. (1990). Reasons for the delay in development of biological control of foliar pathogens. *Phytoparasitica, 18*(2): 99-105. doi:10.1007/bf02981226.

Elad, Y. (1994). Biological control of grape grey mould by *Trichoderma harzianum. Crop Protection, 13*(1), 35-38. doi:10.1016/0261-2194(94)90133-3.

Elad, Y. (1995). Mycoparasitism. En K. Kohmoto, R. P. Singh, & U. S. Singh, (Eds.), *Pathogenesis and host specificity in plant diseases: histopathological, biochemical, genetic and molecular basis* (pp. 289-307). Oxford, Reino Unido: Elsevier Science Ltd.

Elad, Y. (1996). Mechanisms involved in the biological control of *Botrytis cinerea* incited diseases. *European Journal of Plant Pathology, 102*(8), 719-732. doi:10.1007/bf01877146.

Elad, Y. (2000a). Biological control of foliar pathogens by means of *Trichoderma harzianum* and potential modes of action. *Crop Protection, 19*(8), 709-714. doi:10.1016/S0261-2194(00)00094-6.

Elad, Y. (2000b). *Trichoderma harzianum* T39 preparation for biocontrol of plant diseases-control of *Botrytis cinerea, Sclerotinia sclerotiorum* and *Cladosporium fulvum. Biocontrol Science and Technology, 10*(4), 499-507. doi:10.1080/09583150050115089.

Elad, Y. (2001). *Trichodex: commercialization of Trichoderma harzianum* T39 *– a case study. Agrow report, biopesticides: Trends and opportunities*. Richmond, Reino Unido: PJB Publications Ltd.

Elad, Y. (2003). Biocontrol of foliar pathogens: mechanisms and application. *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences, 68*(4 pt. A), 17-24.

Elad, Y., & Freeman, S. (2002). Biological control of fungal plant pathogens. En F. Kempken (Ed.), *The Mycota, a comprehensive treatise on fungi as experimental systems for basic and applied research. Vol. 11 Agricultural Applications* (pp. 93-109). Heidelberg, Alemania: Springer.

Elad, Y., & Kapat, A. (1999). The role of *Trichoderma harzianum* protease in the biocontrol of *Botrytis cinerea. European Journal of Plant Pathology, 105*(2), 177-189. doi:10.1023/a:1008753629207.

Elad, Y., Kirshner, B., Yehuda, N., & Sztejnberg, A. (1998). Management of powdery mildew and gray mold of cucumber by *Trichoderma harzianum* T39 and *Ampelomyces quisqualis* AQ10. *BioControl, 43*(2), 241-251. doi:10.1023/a:1009919417481.

Elad, Y., Pertot, I., Cotes-Prado, A. M., & Stewart, A. (2016). Plant hosts of *Botrytis* spp. En S. Fillinger & Y. Elad, (Eds.), *Botrytis – the fungus, the pathogen and its management in agricultural systems* (pp. 413-486). Cham, Suiza: Springer International Publishing. doi:10.1007/978-3-319-23371-0_20.

Elad, Y., & Shtienberg, D. (1995). *Botrytis cinerea* in greenhouse vegetables: chemical, cultural, physiological and biological controls and their integration. *Integrated Pest Management Review, 1*(1), 15-29. doi:10.1007/BF00140331.

Elad, Y., & Shtienberg, D. (1997). Integrated management of foliar diseases in greenhouse vegetables according to principles of a decision support system – Greenman. *IOBC WPRS Bulletin, 20*(4), 71-76.

Elad, Y., & Stewart, A. (2004). Microbial control of *Botrytis* spp. En: Y. Elad (Ed.), *Botrytis: Biology, Pathology and Control* (pp. 223-240). Norwell, EE. UU.: Kluwer Academic Publishers.

Elad, Y., & Zimand, G. (1991). Experience in integrated chemicalbiological control of grey mould (*Botrytis cinerea*). *WPRS Bulletin, 14*, 195-199.

Elad, Y., & Zimand, G. (1992). Integration of biological and chemical control for grey mould. En K. Verhoeff, N. Malathrakis, & B. Williamson (Eds.), *Recent advances in Botrytis research* (pp. 272-276). Wageningen, Holanda: Pudoc Scientific Publishers.

Elad, Y., Zimand, G., Zaqs, Y., Zuriel, S., & Chet, I. (1993a). Biological and integrated control of cucumber grey mould (*Botrytis cinerea*) under commercial greenhouse condition. *Plant Pathology, 42*(3), 324-332. doi:10.1111/j.1365-3059.1993.tb01508.x.

Elad, Y., Zimand, G., Zaqs, Y., Zuriel, S., & Chet, I. (1993b). Use of *Trichoderma harzianum* in combination or alternation with fungicides to control cucumber grey mould (*Botrytis cinerea*) under commercial greenhouse conditions. *Plant Pathology, 42*(3), 324-332. doi10.1111/j.1365-3059.1993.tb01508.x.

Elad, Y., Köhl, J., & Fokkema, N. J. (1994a). Control of infection and sporulation of *Botrytis cinerea* on bean and tomato by saprophytic bacteria and fungi. *European Journal Plant Pathology, 100*(5), 315-336. doi:10.1007/bf01876443.

Elad, Y., Köhl, J., & Fokkema, N. J. (1994b). Control of infection and sporulation of *Botrytis cinerea* on bean and tomato by saprophytic yeasts. *Phytopathology, 84*(10), 1193-1200. doi:10.1094/Phyto-84-1193.

Elmer, P. A. G., & Reglinski, T. (2006). Biosuppression of *Botrytis cinerea* in grapes. *Plant Pathology, 55*(2), 155-177. doi:10.1111/j.1365-3059.2006.01348.x.

Errampalli, D., & Brubacher, N. R. (2006). Biological and integrated control of postharvest blue mold (*Penicillium expansum*) of apples by *Pseudomonas syringae* and cyprodinil. *Biological Control, 36*(1), 49-56. doi:10.1016/j.biocontrol.2005.07.011.

Etchegaray, A., de Castro-Bueno, C., de Melo, I. S., Tsai, S. M., de Fátima-Fiore, M., ... Teschke, O., 2008. Effect of a highly concentrated lipopeptide extract of *Bacillus subtilis* on fungal and bacterial cells. *Archives of Microbiology, 190*(6), 611-622. doi:10.1007/s00203-008-0409-z.

Farré-Armengol, G., Filella, I., Llusia, J., & Peñuelas, J. (2016). Bidirectional interaction between phyllospheric microbiotas and plant volatile emissions. *Trends Plant Science, 21*(10), 854-860. doi:10.1016/j.tplants.2016.06.005.

Fenner, K., Canonica, S., Wackett, L. P., & Elsner, M. (2013). Evaluating pesticide degradation in the environment: Blind spots and emerging opportunities. *Science, 341*(6147), 752-758. doi:10.1126/science.1236281.

Fernández, N. V., Mestre, M. C., Marchelli, P., & Fontenla, S. B. (2012). Yeast and yeast-like fungi associated with dry indehiscent fruits of *Nothofagus nervosa* in Patagonia, Argentina. *FEMS Microbiology Ecology, 80*(1), 179-192. doi:10.1111/j.1574-6941.2011.01287.x.

Fernando, W. G. D., Ramarathnam, R., Krishnamoorthy, A. S., & Savchuk, S. C. (2005). Identification and use of potential bacterial organic antifungal volatiles in biocontrol. *Soil Biology and Biochemestry, 37*(5), 955-964. doi:10.1016/j.soilbio.2004.10.021.

Filonow, A. B., Vishniac, H. S., Anderson, J. A., & Janisiewicz, W. J. (1996). Biological control of *Botrytis cinerea* in apple by yeasts from various habitats and their putative mechanisms of antagonism. *Biological Control, 7*(2), 212-220. doi:10.1006/bcon.1996.0086.

Fincheira, P., Parra, L., Mutis, A., Parada, M., & Quiroz, A. (2017). Volatiles emitted by *Bacillus* sp. BCT9 act as growth modulating agents on *Lactuca sativa* seedlings. *Microbiologyical Research, 203*, 47-56. doi:10.1016/j.micres.2017.06.007.

Fitch, M. M. M., Manshardt, R. M., Gonsalves, D., Slightom, J. L., & Sanford, J. C. (1992). Virus resistant papaya plants derived from tissues bombarded with the coat protein gene of papaya ringspot virus. *Bio/Technology, 10*, 1466-1472. doi.10.1038/nbt1192-1466

Flint, M. L. (1998). *Pests of the garden and small farm: a grower's guide to using less pesticide*. Oakland, EE. UU.: University of California, Agriculture and Natural Resources.

Fokkema, N. J. (1993). Opportunities and problems of control of foliar pathogens with micro-organisms. *Pest Management Science, 37*(4), 411-416. doi:10.1002/ps.2780370416.

Fravel, D. (1999). *Commercial biocontrol products for use against soilborne crop diseases*. Recuperado de http://www.barc.usda.gov/psi/bpdl/bpdlprod/bioprod.html.

Fravel, D. R. (2005). Commercialization and implementation of biocontrol. *Annual Review of Phytopathology, 43*, 337-359. doi:10.1146/annurev.phyto.43.032904.092924.

Freeman, S., Minz, D., Kolesnik, I., Barbul, O., Zveibil, A., Maymon, M., ... Elad, Y. (2004). *Trichoderma* biocontrol of *Colletotrichum acutatum* and *Botrytis cinerea* and survival in strawberry. *European Journal of Plant Pathology, 110*(4), 361-370. doi:10.1023/B:EJPP.0000021057.93305.d9.

Fuchs, M., & Gonsalves, D. (1995). Resistance of transgenic hybrid squash zw-20 expressing the coat protein genes of zucchini yellow mosaic virus and watermelon mosaic virus 2 to mixed infections by both potyviruses. *Bio/Technology, 13*, 1466-1473. doi:10.1038/nbt1295-1466.

Fujiwara, M., Kanamori, T., Ohki, S. T., & Osaki, T. (2001). Purification and partial characterization of

figaren, an RNase-like novel antiviral protein from *Cucumis figarei*. *Journal of General Plant Pathology*, *67*(2), 152-158. doi:10.1007/PL00013002.

Fulcher, M. R., Cummings, J. A., & Bergstrom, G. C. (2017). First report of an *Alternaria* leaf spot of wheat in the U.S.A. *Plant Disease*, *101*(7), 1326-1326. doi:10.1094/PDIS-10-16-1541-PDN.

Gafni, A., Calderon, C. E., Harris, R., Buxdorf, K., Dafa-Berger, A., ... Levy, M. (2015). Biological control of the cucurbit powdery mildew pathogen *Podosphaera xanthii* by means of the epiphytic fungus *Pseudozyma aphidis* and parasitism as a mode of action. *Frontiers in Plant Science*, *6*, 132. doi:10.3389/fpls.2015.00132.

Galindo, E., Serrano-Carreón, L., Gutiérrez, C. R., Balderas-Ruíz, K. A., Muñoz-Celaya, A. L., ... Arroyo-Colín, J. (2015). Desarrollo histórico y los retos tecnológicos y legales para comercializar Fungifree AB®, el primer biofungicida 100 % mexicano. TIP. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, *18*(1), 52-60.

Gao, Y.-R., Han, Y.-T., Zhao, F.-L., Li, Y.-J., Cheng, Y., ... Wen, Y.-Q. (2016). Identification and utilization of a new *Erysiphe necator* isolate NAFU1 to quickly evaluate powdery mildew resistance in wild Chinese grapevine species using detached leaves. *Plant Physiology and Biochemestry*, *98*, 12-24. doi:10.1016/j.plaphy.2015.11.003.

Garibaldi, L. A., Bartomeus, I., Bommarco, R., Klein, A. M., Cunningham, S. A., ... Woyciechowski, M. (2015). Editor's choice: Review: Trait matching of flower visitors and crops predicts fruit set better than trait diversity. *Journal of Applied Ecology*, *52*(6), 1436-1444. doi:10.1111/1365-2664.12530.

Garry, G., Forbes, G., Salas, A., Santa-Cruz, M., Pérez, W., & Nelson, R. J. (2005). Genetic diversity and host differentiation among isolates of *Phytophthora infestans* from cultivated potato and wild solanaceous hosts in Peru. *Plant Pathology*, *54*(6), 740-748. doi:10.1111/j.1365-3059.2005.01250.x.

Ghabrial, S. A., & Suzuki, N. (2009). Viruses of plant pathogenic fungi. *Annual Review of Phytopathology*, *47*, 353-384. doi:10.1146/annurev-phyto-080508-081932.

Goldman, G. H., Temmerman, W., Jacobs, D., Contreras, R., Van Montagu, M., & Herrera-Estrella, A. (1993). A nucleotide substitution in one of the β-tubulin genes of *Trichoderma viride* confers resistance to the antimitotic drug methyl benzimidazole-2-yl-carbamate. *Molecular and General Genetics*, *240*(1), 73-80. doi:10.1007/bf00276886.

Golemboski, D. B., Lomonossoff, G. P., & Zaitlin, M. (1990). Plants transformed with a tobacco mosaic virus nonstructural gene sequence are resistant to the virus. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *87*(16), 6311-6315. doi:10.1073/pnas.87.16.6311.

Gómez-Expósito, R., Postma, J., Raaijmakers, J. M., & De Bruijn, I. (2015). Diversity and activity of *Lysobacter* species from disease suppressive soils. *Frontiers in Microbiology*, *6*, 1243. doi:10.3389/fmicb.2015.01243.

Goodwin, S. B., Cohen, B. A., & Fry, W. E. (1994). Pan global distribution of a single clonal lineage of the Irish potato famine fungus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *91*(24), 11591-11595.

Grant, T. J., & Costa, A. S. (1951). A mild strain of the tristeza virus of citrus. *Phytopathology*, *41*, 114-122.

Guamán-Burneo, C., & Carvajal-Barriga, J. (2009). Caracterización e identificación de aislados de levaduras carotenogénicas de varias zonas naturales del Ecuador. *Universitas Scientiarum*, *14*(2-3), 11. doi:10.11144/javeriana.SC14-2-3.ceid.

Guetsky, R., Shtienberg, D., Elad, Y., & Dinoor, A. (2001). Combining biocontrol agents to reduce the variability of biological control. *Phytopathology*, *91*(7), 621-627. doi:10.1094/PHYTO.2001.91.7.621.

Guetskyl, R., Shtienberg, D., Dinoor, A., & Elad, Y. (2002). Establishment, survival and activity of the biocontrol agents *Pichia guilliermondii* and *Bacillus mycoides* applied as a mixture on strawberry plants. *Biocontrol Science and Technology*, *12*(6), 705-714. doi:10.1080/0958315021000039888.

Gupta, B. M., Chandra, K., Verma, H. N., & Verma, G. S. (1974). Induction of antiviral resistance in *Nicotiana glutinosa* plants by treatment with *Trichothecium* polysaccharide and its reversal by actinomycin d. *Journal of General Virology*, *24*(1), 211-213. doi:10.1099/0022-1317-24-1-211.

Hahn, M. (2014). The rising threat of fungicide resistance in plant pathogenic fungi: *Botrytis* as a case study. *Journal of Chemical Biology*, *7*(4), 133-141. doi:10.1007/s12154-014-0113-1.

Hajlaoui, M. R., & Bélanger, R. R. (1991). Comparative effects of temperature and humidity on the activity of three potential antagonists of rose powdery mildew. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, *97*(4), 203-208. doi:10.1007/bf01989818.

Hajlaoui, M. R., & Bélanger, R. R. (1993). Antagonism of the yeast-like phylloplane fungus *Sporothrix flocculosa*

against *Erysiphe graminis* var *tritici*. *Biocontrol Science and Technology, 3*(4), 427-434. doi:10.1080/09583159309355297.

Hammami, W., Castro, C. Q., Rémus-Borel, W., Labbé, C., & Bélanger, R. R. (2011). Ecological basis of the interaction between *Pseudozyma flocculosa* and powdery mildew fungi. *Applied and Environmental Microbiology, 77*(3), 926-933. doi:10.1128/aem.01255-10.

Harel, Y. M., Mehari, Z. H., Rav-David, D., & Elad, Y. (2014). Induced systemic resistance against gray mold in tomato (*Solanum lycopersicum*) by benzothiadiazole and *Trichoderma harzianum* T39. *Phytopathology, 104*(2), 150-157. doi:10.1094/PHYTO-02-13-0043-R.

Harman, G. E. (2000). Myths and dogmas of biocontrol changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. *Plant Disase, 84*(4), 377-393. doi:10.1094/PDIS.2000.84.4.377.

Harman, G.E., Howell, C.R., Viterbo, A., Chet, I., & Lorito, M. (2004). *Trichoderma* species — opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology, 2*, 43-56. doi:10.1038/nrmicro797.

Hashioka, Y., & Nakai, Y. (1980). Ultrastructure of pycnidial development and mycoparasitism of *Ampelomyces quisqualis* parasitic on Erysiphales. *Transactions of the Mycological Society of Japan, 21*(3), 329-338.

Heath, M. C., Howard, R. J., Valent, B., & Chumley, F. G. (1992). Ultrastructural interactions of one strain of *Magnaporthe grisea* with goosegrass and weeping lovegrass. *Canadian Journal of Botany, 70*(4), 779-787. doi:10.1139/b92-099.

Hellwald, K.-H., & Palukaitis, P. (1995). Viral RNA as a potential target for two independent mechanisms of replicase-mediated resistance against cucumber mosaic virus. *Cell, 83*(6), 937-946. doi:10.1016/0092-8674(95)90209-0.

Hemenway, C., Fang, R.-X., Kaniewski, W. K., Chua, N.-H., & Tumer, N. E. (1988). Analysis of the mechanism of protection in transgenic plants expressing the potato virus X coat protein or its antisense RNA. *The EMBO Journal, 7*(5), 1273-1280.

Heydari, A., & Pessarakli, M. (2010). A review on biological control of fungal plant pathogens using microbial antagonists. *Journal of Biological Sciences, 10*(4), 273-290. doi:10.3923/jbs.2010.273.290.

Heye, C. C. (1982). *Biological control of the perfect stage of the apple scab pathogen, Venturia inaequalis (Cke.) Wint.* Madison, Wisconsin, EE. UU.: University of Wisconsin.

Hijwegen, T., & Buchenauer, H. (1984). Isolation and identification of hyperparasitic fungi associated with Erysiphaceae. *Netherlands Journal of Plant Pathology, 90*(2), 79-83. doi:10.1007/bf01999956.

Hiltunen, L. H., Ojanpera, T., Kortemaa, H., Richter, E., Lehtonen, M. J., & Valkonen, J. P. T. (2009). Interactions and biocontrol of pathogenic *Streptomyces* strains cooccurring in potato scab lesions. *Journal of Applied Microbiology, 106*(1), 199-212.

Hino, I., & Kato, H. (1929). Cicinnoboli parasitic on mildew fungi. *Bulletin of the Miyazaki Collegium of Agriculture and Forestry, 1*, 91-100.

Hiradate, S., Yoshida, S., Sugie, H., Yada, H., & Fujii, Y. (2002). Mulberry anthracnose antagonists (iturins) produced by *Bacillus amyloliquefaciens* RC-2. *Phytochemistry, 61*(6), 693-698. doi:10.1016/S0031-9422(02)00365-5.

Hirai, T., Hiashima, A., Itoh, T., Takahashi, T., Shimomura, T., & Hayashi, H. (1966). Inhibitory effect of blasticidin S on Tobacco Mosaic Virus multiplication. *Phytopathology, 56*(4), 1236-1239. doi:10.1016/0042-6822(68)90195-5.

Hirano, S. S., & Upper, C. D. (2000). Bacteria in the leaf ecosystem with emphasis on *Pseudomonas syringae*—a pathogen, ice nucleus, and epiphyte. *Microbiology Molecular Biology Reviews, 64*(3), 624-653. doi:10.1128/mmbr.64.3.624-653.2000.

Hislop, E. C., & Cox, T. W. (1969). Effects of captan on the non-parasitic microflora of apple leaves. *Transactions of the British mycological society, 52*(2), 223-235. doi:10.1016/S0007-1536(69)80035-5.

Hjeljord, L., & Tronsmo, A. (1998). *Trichoderma* and *Gliocladium* in biological control: an overview. En G. E. Harman & C. P. Kubice (Eds.), *Trichoderma & Gliocladium: Enzymes, biological control and commercial applications* (pp. 131-151). Londres, Reino Unido: Taylor & Francis Ltd.

Hofstein, R., Daoust, R. A., & Aeschlimann, J. P. (1996). Constraints to the development of biofungicides: The example of "AQ10", a new product for controlling powdery mildews. *Entomophaga, 41*(3-4), 455-460. doi:10.1007/bf02765797.

Hogenhout, S. A., Ammar, E. D., Whitfield, A. E., & Redinbaugh, M. G. (2008). Insect vector interactions with persistently transmitted viruses. *Annual*

Review of Phytopathology, *46*, 327-359. doi:10.1146/annurev.phyto.022508.092135.

Hokama, N., Kawano, S., & Tokashiki, I. (1993). Effectiveness of cross protection by a mild strain of Zucchini Yellow Mosaic Virus for Mosaic disease of pumpukin (Japanese). *Annals of Phytopathology of Society Japan*, *59*, 323.

Holmes, F. O. (1934). A masked strain of tobacco-mosaic virus. *Phytopathology*, *24*, 845-873.

Holtz, G., Coertze, S., & Williamson, B. (2007). The ecology of *Botrytis* on plant surfaces. En: Y. Elad, B. Williamson, P. Tudzynski, & N. Delen (Eds.), *Botrytis: Biology, Pathology and Control* (pp. 9-27). Dordrecht, Holanda: Springer. doi:10.1007/978-1-4020-2626-3_2.

Hoog, G. S., & Guarro, J. (1995). *Atlas of clinical fungi*. Baarn, Holanda: Centraalbureau voor Schimmelcultures.

Horst, R. K. (2013). Powdery mildews. En R. K. Horst (Ed.), *Westcott's plant disease handbook. Springer Netherlands* (pp. 285-293). Dordrecht, Holanda: Springer. doi:10.1007/978-94-007-2141-8_40.

Howard, R. J., Ferrari, M. A., Roach, D. H., & Money, N. P. (1991). Penetration of hard substrates by a fungus employing enormous turgor pressures. *Proceedings of the national academy of sciences*, *88*(24), 11281-11284.

Howell, C. R. (2003). Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts. *Plant Disease*, *87*(1), 4-10. doi:10.1094/PDIS.2003.87.1.4.

Hughes, J. A., & Ollennu, L. A. A. (1994). Mild strain protection of cocoa in Ghana against cocoa swollen shoot virus—a review. *Plant Pathology*, *43*(3), 442-457. doi:10.1111/j.1365-3059.1994.tb01578.x.

Hull, R. (2014). *Plant Virology* (5.ª ed.). Boston, EE. UU.: Elsevier.

Iáñez, E. (1998). *Curso de microbiología general. Acción de los agentes físicos sobre las bacterias (II)*. Recuperado de http://www.biologia.edu.ar/microgeneral/micro-ianez/18_micro.htm.

Index Fungorum (IFS). (2017). *Index Fungorum*. Recuperado de http://www.indexfungorum.org/Index.htm.

Inácio, J., Rodrigues, M. G., Sobral, P., & Fonseca, Á. (2004). Characterisation and classification of phylloplane yeasts from Portugal related to the genus *Taphrina* and description of five novel Lalaria species. *FEMS Yeast Research*, *4*(4-5), 541-555. doi:10.1016/S1567-1356(03)00226-5.

Ippolito, A., & Nigro, F. (2000). Impact of preharvest application of biological control agents on postharvest diseases of fresh fruits and vegetables. *Crop Protection*, *19*(8), 715-723. doi:10.1016/S0261-2194(00)00095-8.

International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications (ISAAA). (2017). *GM Approval Database*. Recuperado de http://www.isaaa.org/gmapprovaldatabase/.

Ishimaru, C. A., Klos, E. J., & Brubaker, R. R. (1988). Multiple antibiotic production by *Erwinia herbicola*. *Phytopathology*, *78*(6), 746-750. doi:10.1094/Phyto-78-746

International Subcommission on *Trichoderma* and *Hypocrea* Taxonomy (ISTH). (2017). *Hypocrea/Trichoderma diversity. List of known species described by 2006*. Recuperado de http://www.isth.info/biodiversity/index.php.

Izuno, A., Tanabe, A. S., Toju, H., Yamasaki, M., Indrioko, S., & Isagi, Y. (2016). Structure of phyllosphere fungal communities in a tropical dipterocarp plantation: A massively parallel next-generation sequencing analysis. *Mycoscience*, *57*(3), 171-180. doi:10.1016/j.myc.2015.12.005.

Jackson, A. J., Walters, D. R., & Marshall, G. (1997). Antagonistic interactions between the foliar pathogen *Botrytis fabae* and isolates of *Penicillium brevicompactum* and *Cladosporium cladosporioides* on faba beans. *Biological Control*, *8*(2), 97-106. doi:10.1006/bcon.1996.0481.

Jackson, D., Skillman, J., & Vandermeer, J. (2012). Indirect biological control of the coffee leaf rust, *Hemileia vastatrix*, by the entomogenous fungus *Lecanicillium lecanii* in a complex coffee agroecosystem. *Biological Control*, *61*(1), 89-97. doi:10.1016/j.biocontrol.2012.01.004.

Jacobs, J. L., & Sundin, G. W. (2001). Effect of solar UV-B radiation on a phyllosphere bacterial community. *Applied and Environmental Microbiology*, *67*(12), 5488-5496. doi: 10.1128/AEM.67.12.5488-5496.2001.

Jacobsen, B. (2006). Biological control of plant diseases by phyllosphere applied biological control agents. En M. J. Bailey, A. K. Lilley, T. M. Timms-Wilson, P. T. N. Spencer-Phillips (Eds.), *Microbial Ecology of Aerial Plant Surfaces* (pp. 133-147). Londres, Reino Unido: CABI.

Jacques, M., Kinkel, L. L., & Morris, C. E. (1995). Population sizes, immigration, and growth of epiphytic bacteria on leaves of different ages and positions of field-grown endive (*Cichorium endivia* var. *latifolia*). *Applied and Environental Microbiology, 61*(3), 899-906.

Janisiewicz, W. J., Tworkoski, T. J., & Sharer, C. (2000). Characterizing the mechanism of biological control of postharvest diseases on fruits with a simple method to study competition for nutrients. *Phytopathology, 90*(11), 1196-1200. doi:10.1094/PHYTO.2000.90.11.1196.

Jarvis, W. R. (1977). *Botryotinia and Botrytis species: taxonomy, physiology, and pathogenicity*. Quebec, Canadá: Department of Agriculture of Canada.

Jeleń, H., Błaszczyk, L., Chełkowski, J., Rogowicz, K., & Strakowska, J. (2014). Formation of 6-n-pentyl-2H-pyran-2-one (6-PAP) and other volatiles by different *Trichoderma* species. *Mycological Progress, 13*(3), 589-600. doi:10.1007/s11557-013-0942-2.

Jijakli, M., Lepoivre, P., Tossut, P., & Thonard, P. (1993). Biological control of *Botrytis cinerea* and *Penicillium* sp. on post-harvest apples by two antagonistic yeasts. *Mededelingen van de Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen (Rijksuniversiteit te Gent), 58*(3b), 1349-1358.

Jin, Y., Szabo, L. J., & Carson, M. (2010). Century-old mystery of *Puccinia striiformis* life history solved with the identification of *Berberis* spp. as an alternate host. *Phytopathology, 100*(5), 432-435. doi:10.1094/PHYTO-100-5-0432.

Jones, D. G. (1993). *Exploitation of microorganisms*. London, United Kingdom: Springer science & business media. doi:10.1007/978-94-011-1532-2.

Junqueira, N. T. V., & Gasparotto, L. (1991). Controle biológico de fungos estromáticos causadores de doenças foliares em seringueira. En: W. Bettiol (Ed.) *Controle biológico de doenças de plantas* (pp. 307-331, Vol. 1). Jaguariúna, Brasil: Embrapa-CNPDA.

Kalogiannis, S., Tjamos, S. E., Stergiou, A., Antoniou, P. P., Ziogas, B. N., & Tjamos, E. C. (2006). Selection and evaluation of phyllosphere yeasts as biocontrol agents against grey mould of tomato. *European Journal of Plant Pathology, 116*(1), 69-76. doi:10.1007/s10658-006-9040-5.

Kämpfer, P. (2006). The family Streptomycetaceae, Part I: Taxonomy. En: M. Dworkin, S. Falkow, E. Rosenberg, K.-H. Schleifer & E. Stackebrandt (Eds.), *The Prokaryotes: Volume 3: Archaea. bacteria: Firmicutes, Actinomycetes* (pp. 538-604). Nueva York, EE. UU.: Springer. doi:10.1007/0-387-30743-5_22.

Kaniewski, W., Lawson, C., & Thomas, P. (1993). Agronomically useful resistance in Russet Burbank potato containing a PLRV CP gene. Documento presentado en *IX International Congress of Virology*. Glasgow, Scotland.

Kapat, A., Zimand, G., & Elad, Y. (1998). Biosynthesis of pathogenicity hydrolytic enzymes by *Botrytis cinerea* during infection of bean leaves and *in vitro*. *Mycology Research, 102*(8), 1017-1024. doi:10.1017/S0953756297006023.

Karabulut, O. A., Tezcan, H., Daus, A., Cohen, L., Wiess, B., & Droby, S. (2004). Control of preharvest and postharvest fruit rot in Strawberry by *Metschnikowia fructicola*. *Biocontrol Science and Technology, 14*(5), 513-521. doi:10.1080/09583150410001682287.

Keel, C., Schnider, U., Maurhofer, M., Voisard, C., Laville, J., Burger, U., … Défago, G. (1992). Suppression of root diseases by *Pseudomonas fluorescens* CHA0: Importance of the bacterial secondary metabolite 2,4-Diacetylphloroglucinol. *Molecular Plant-Microbe Interactions, 5*(1), 4-13.

Kema, G., Annone, J., Sayoud, R., & Van Silfhout, C. (1996). Genetic variation for virulence and resistance in the wheat-*Mycosphaerella graminicola* pathosystem. I. Interactions between pathogen isolates and host cultivars. *Phytopathology, 86*(2), 200-212. doi:10.1094/Phyto-86-200.

Kema, G., Sayoud, R., Annone, J., & Van Silfhout, C. (1996). Genetic variation for virulence and resistance in the wheat-*Mycosphaerella graminicola* pathosystem. II. Analysis of interactions between pathogen isolates and host cultivars. *Phytopathology, 86*(2), 213-220. doi:10.1094/Phyto-86-213

Kerling, L. C. P. (1958). De microflora of het blad van *Beta vulgaris*. *Tijdschrift Over Plantenziekten, 64*, 402-410. doi:10.1007/bf02137361.

Kevan, P., Kapongo, J., Al-mazra'awi, M., & Shipp, L. (2008). Honey bees, bumble bees, and biocontrol: New alliances between old friends. En R. James & T. L. Pitts-Singer (Eds.), *Bee pollination in agricultural ecosystems* (pp. 65-81). Oxford, Reino Unido: Oxford University Press.

Khan, M. M. A. A., & Verma, H. N. (1990). Partial characterisation of an induced virus inhibitory protein, associated with systemic resistance in *Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub. plants. *Annals of Applied Biology, 117*(3), 617-623. doi:10.1111/j.1744-7348.1990.tb04827.x.

Khan, N., Mishra, A., & Nautiyal, C. S. (2012). *Paenibacillus lentimorbus* B-30488r controls early blight disease in tomato by inducing host resistance associated gene expression and inhibiting *Alternaria solani*. *Biological Control, 62*(2), 65-74. doi:10.1016/j.biocontrol.2012.03.010.

Khoa, N. Đ., Giàu, N. Đ. N., & Tuấn, T. Q. (2016). Effects of *Serratia nematodiphila* CT-78 on rice bacterial leaf blight caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Biological Control, 103*, 1-10. doi:10.1016/j.biocontrol.2016.07.010.

Kim, J. J., Goettel, M. S., & Gillespie, D. R. (2007). Potential of *Lecanicillium* species for dual microbial control of aphids and the cucumber powdery mildew fungus, *Sphaerotheca fuliginea*. *Biological Control, 40*(3), 327-332. doi:10.1016/j.biocontrol.2006.12.002.

Kinkel, L. L. (1997). Microbial population dynamics on leaves. *Annual Review of Phytopathology, 35*, 327-347. doi:10.1146/annurev.phyto.35.1.327

Kiss, L. (1997). Graminicolous powdery mildew fungi as new natural hosts of Ampelomyces mycoparasites. *Canadian Journal of Botany, 75*(4), 680-683. doi:10.1139/b97-076.

Kiss, L. (1998). Natural occurrence of ampelomyces intracellular mycoparasites in mycelia of powdery mildew fungi. *The New Phytologist, 140*(4), 709-714. doi:10.1046/j.1469-8137.1998.00316.x.

Kiss, L. (2003). A review of fungal antagonists of powdery mildews and their potential as biocontrol agents. *Pest Management Science, 59*(4), 475-483. doi:10.1002/ps.689.

Kiss, L., Russell, J. C., Szentiványi, O., Xu, X., & Jeffries, P. (2004). Biology and biocontrol potential of *Ampelomyces* mycoparasites, natural antagonists of powdery mildew fungi. *Biocontrol Science and Technology, 14*(7), 635-651. doi:10.1080/09583150410001683600.

Klatt, B. K., Holzschuh, A., Westphal, C., Clough, Y., Smit, I., . . . Tscharntke, T. (2014). Bee pollination improves crop quality, shelf life and commercial value. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 281*(1775). doi:10.1098/rspb.2013.2440.

Knudsen, G. R., & Hudler, G. W. (1987). Use of a computer simulation model to evaluate a plant disease biocontrol agent. *Ecological Modelling, 35*(1-2), 45-62. doi:10.1016/0304-3800(87)90090-1.

Ko, H.-S., Jin, R.-D., Krishnan, H. B., Lee, S.-B., & Kim, K.-Y. (2009). Biocontrol ability of *Lysobacter antibioticus* HS124 against *Phytophthora Blight* is mediated by the production of 4-Hydroxyphenylacetic acid and several lytic enzymes. *Current Microbiology, 59*(6), 608-615. doi:10.1007/s00284-009-9481-0.

Kobayashi, N., Hiramatsu, A., & Akatsuka, T. (1987). Purification and chemical properties of an inhibitor of plant virus infection from fruiting bodies of *Lentinus edodes*. *Agricultural and Biological Chemistry, 51*(3), 883-890. doi:10.1271/bbb1961.51.883.

Köhl, J., & Fokkema, N. J. (1993). Fungal interactions on living and necrotic leaves. En J. P. Blakeman & B. Williamson (Eds.), *Ecology of plant pathogens* (pp. 321-334). Oxon, Reino Unido: CABI.

Köhl, J., Molhoek, W., Van der Plas, C., & Fokkema, N. (1995). Effect of *Ulocladium atrum* and other antagonists on sporulation of *Botrytis cinerea* on dead lily leaves exposed to field conditions. *Phytopathology, 85*(4), 393-400.

Köhl, J., & Schlösser, E. (1989). Decay of sclerotia of *Botrytis cinerea* by *Trichoderma* spp. At low temperatures. *Journal of Phytopathology, 125*(4), 320-326. doi:10.1111/j.1439-0434.1989.tb01076.x.

Kokalis-Burelle, N., Backman, P. A., Rodríguez-Kábana, R., & Ploper, L. D. (1992). Potential for biological control of early leafspot of peanut using *Bacillus cereus* and chitin as foliar amendments. *Biological Control, 2*(4), 321-328. doi:10.1016/1049-9644(92)90026-A.

Korsten, L., De Villiers, E. E., Wehner, F. C., & Kotzé, J. M. (1997). Field sprays of *Bacillus subtilis* and fungicides for control of preharvest fruit diseases of avocado in South Africa. *Plant Disease, 81*(5), 455-459. doi:10.1094/PDIS.1997.81.5.455.

Kovach, J., Petzoldt, R., & Harman, G. E. (2000). Use of honey bees and bumble bees to disseminate *Trichoderma harzianum* 1295-22 to Strawberries for *Botrytis* control. *Biological Control, 18*(3), 235-242. doi:10.1006/bcon.2000.0839.

Krauss, U., & Soberanis, W. (2002). Effect of fertilization and biocontrol application frequency on cocoa pod diseases. *Biological Control, 24*(1), 82-89. doi:10.1016/S1049-9644(02)00007-5.

Kubicek, C. P., & Penttila, M. (1998). Regulation of production of plant polysaccharide degrading enzymes by *Trichoderma*. En G. E. Harman & C. P. Kubicek (Eds.), *Trichoderma* and *Gliocladium* (Chapter 3). Londres, Reino Unido: Taylor & Francis Ltd.

Kubo, S., Ikeda, T., Imaizumi, S., Takanami, Y., & Mikami, Y. (1990). A potent plant virus inhibitor

found in *Mirabilis jalapa* L. *Japanese Journal of Phytopathology, 56*(4), 481-487. doi:10.3186/jjphytopath.56.481.

Kubota, K., Tsuda, S., Tamai, A., & Meshi, T. (2003). Tomato mosaic virus replication protein suppresses virus-targeted posttranscriptional gene silencing. *Journal of Virology, 77*(20), 11016-11026. doi:10.1128/jvi.77.20.11016-11026.2003.

Kumar, A., & Purohit, A. K. (2012). The role of indigenous knowledge in biological control of plant pathogens: Logistics of new research initiatives. En: J. M. Mérillon & K. G. Ramawat (Eds.), *Plant defence: Biological control* (pp. 161-194). Dordrecht, Holanda: Springer. doi:10.1007/978-94-007-1933-0_7.

Kupferschmidt, K. (2013). A lethal dose of RNA. *Science, 341*(6147), 732-733. doi:10.1126/science.341.6147.732.

Kutuzova, S. N., Porokhovinova, E. A., & Brutch, N. B. (2017). Evolution of virulence in a population of the flax rust pathogen *Melampsora lini* (Pers.) Lev. in northwestern Russia. *Russian Journal of Genetics: Applied Research, 7*(2), 159-169. doi:10.1134/S2079059717020060X.

Labudova, I., & Gogorova, L. (1988). Biological control of phytopathogenic fungi through lytic action of *Trichoderma* species. *FEMS Microbiology Letters, 52*(3), 193-198. doi:10.1111/j.1574-6968.1988.tb02594.x.

Lam, K. S. (2006). Discovery of novel metabolites from marine actinomycetes. *Current in Opinion Microbiology, 9*(3), 245-251. doi:10.1016/j.mib.2006.03.004.

Lam, Y.-H., Wong, Y.-S., Wang, B., Wong, R.N.S., Yeung, H.-W., & Shaw, P.-C. (1996). Use of trichosanthin to reduce infection by turnip mosaic virus. *Plant Science, 114*(1), 111-117. doi:10.1016/0168-9452(95)04310-1.

Landry, C., Bonnot, F., Ravigné, V., Carlier, J., Rengifo, D., . . . Abadie, C. (2017). A foliar disease simulation model to assist the design of new control methods against black leaf streak disease of banana. *Ecological Modelling,359*(C),383-397.doi:10.1016/j.ecolmodel.2017.05.009.

Lapsker, Z., & Elad, Y. (2001). Involvement of reactive oxygen species and antioxidant process in the disease caused by *Botrytis cinerea* on bean leaves and in its biological control by means of *Trichoderma harzianum* T39. *Biological Control of Fungal and Bacterial Plant Pathogens IOBC WPRS Bulletin, 24*(3), 21-25.

Larone, D. H., & Howard, D. H. (1996). *Medically Important Fungi: A Guide to Identification.* Washington, D.C., EE. UU.: ASM Press.

Law, J. W.-F., Ser, H.-L., Khan, T. M., Chuah, L.-H., Pusparajah, P., . . . Lee, L.-H. (2017). The potential of *Streptomyces* as biocontrol agents against the rice blast fungus, *Magnaporthe oryzae (Pyricularia oryzae)*. Frontiers in *Microbiology, 8*, 3. doi:10.3389/fmicb.2017.00003.

Lee, G., Lee, S.-H., Kim, K.M., & Ryu, C.-M. (2017). Foliar application of the leaf-colonizing yeast *Pseudozyma churashimaensis* elicits systemic defense of pepper against bacterial and viral pathogens. *Scientific Reports, 7*, 39432. doi:10.1038/srep39432

Lee, R. E. J., Warren, G. J., & Gusta, L. V. (1995). Bioquímica de nucleos de hielo bacteriales. En F. Ray & K. Paul (Eds.), *Nucleación biológica de hielo y sus aplicaciones* (pp. 63-83). St. Paul, Minnesota, EE. UU.: The American Phytopathological Society (APS).

Legler, S. E., Caffi, T., Kiss, L., Pintye, A., & Rossi, V. (2011). Methods for screening new *Ampelomyces* strains to be used as biocontrol agents against grapevine powdery mildew. *IOBC/WPRS Bulletin, 67*(marzo), 149-154.

Legler, S. E., Pintye, A., Caffi, T., Gulyás, S., Bohár, G., ... Kiss, L. (2016). Sporulation rate in culture and mycoparasitic activity, but not mycohost specificity, are the key factors for selecting *Ampelomyces* strains for biocontrol of grapevine powdery mildew (*Erysiphe necator*). *European Journal of Plant Pathology, 144*(4), 723-736. doi:10.1007/s10658-015-0834-1.

Lelliott, R. A., & Dickey, R. S. (1984). Genus VII. Erwinia. En J. Holt (Ed.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (pp. 469-476). Filadelfia, EE. UU.: Wolters Kluwer Health.

Lemanceau, P., Barret, M., Mazurier, S., Mondy, S., Pivato, B., ... Vacher, C. (2017). Chapter Five - plant communication with associated microbiota in the Spermosphere, Rhizosphere and Phyllosphere. *Advances in Botanical Research, 82*, 101-133. doi:10.1016/bs.abr.2016.10.007.

Leonard, K. J., & Bushnell, W. R. (2003). *Fusarium head blight of wheat and barley*. St. Paul, EE. UU.: American Phytopathological Society (APS).

Leroux, P. (2004). Chemical control of *Botrytis* and its resistance to chemical fungicides. En Y. Elad, B. Williamson, P. Tudzynski & N. Delen, (Eds.), *Botrytis: Biology, pathology and control* (pp. 195-222).

Dordrecht, Holanda: Springer. doi:10.1007/978-1-4020-2626-3_12.

Leveau, J. H. J. (2007). Microbia communities in the phyllosphere. En M. Riederer & C. Müller (Eds.), *Annual plant reviews volume 23: Biology of the plant cuticle* (pp. 334-367). New Jersey, EE. UU.: Blackwell Publishing Ltd. doi:10.1002/9780470988718.ch11.

Libkind, D. (2007). Evaluación de la técnica de MSP-PCR para la caracterización molecular de aislamientos de *Rhodotorula mucilaginosa* provenientes de la Patagonia noroccidental. *Revista Argentina de Microbiología*, *39*(3), 133-137.

Lindow, S., Hecht-Poinar, E., & Elliott, V. (2004). *Phyllosphere microbiology*. St. Paul, EE. UU.: American Phytopathological Society (APS).

Lindow, S. E., & Andersen, G. L. (1996). Influence of immigration on epiphytic bacterial populations on navel orange leaves. *Applied and Environmental Microbiology*, *62*(8), 2978-2987.

Lindow, S. E., & Brandl, M. T. (2003). Microbiology of the Phyllosphere. *Applied Environmental Microbiology*, *69*(4), 1875-1883. doi:10.1128/aem.69.4.1875-1883.2003.

Lindow, S. E., & Leveau, J. H. J. (2002). Phyllosphere microbiology. *Current Opinion in Biotechnology*, *13*(3), 238-243. doi:10.1016/S0958-1669(02)00313-0.

Lo, C.-T. (1998). General mechanisms of action of microbial biocontrol agents. *Plant Pathology Bulletin*, *7*(4), 155-166.

Lorito, M., Woo, S. L., Harman, G. E., & Monte, E. (2010). Translational research on *Trichoderma*: from omics to the field. *Annual Review of Phytopathology*, *48*, 395-417. doi:10.1146/annurev-phyto-073009-114314.

Louws, F. J., Rivard, C. L., & Kubota, C. (2010). Grafting fruiting vegetables to manage soilborne pathogens, foliar pathogens, arthropods and weeds. *Scientia horticulturae*, *127*(2), 127-146. doi:10.1016/j.scienta.2010.09.023.

Maiti, C. K., Sen, S., Paul, A. K., & Acharya, K. (2012). *Pseudomonas aeruginosa* WS-1 for biological control of leaf blight disease of *Withania somnifera*. Arch. Phytopathol. *Plant Protection*, *45*(7), 796-805. doi:10.1080/03235408.2011.597150.

Mansfield, J., Genin, S., Magori, S., Citovsky, V., Sriariyanum, M., Ronald, P., ... Foster, G. D. (2012). Top 10 plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, *13*(6), 614-629. doi:10.1111/j.1364-3703.2012.00804.x.

Marchand, D., & McNeil, J. N. (2000). Effects of wind speed and atmospheric pressure on mate searching behavior in the aphid parasitoid *Aphidius nigripes* (Hymenoptera: Aphidiidae). *Journal of Insect Behavior*, *13*(2), 187-199. doi:10.1023/a:1007732113390.

Martirosyan, V., & Steinberger, Y. (2014). Microbial functional diversity in the phyllosphere and laimosphere of different desert plants. *Journal of Arid Environments*, *107*, 26-33. doi:10.1016/j.jaridenv.2014.04.002.

Masih, E. I., Slezack-Deschaumes, S., Marmaras, I., Barka, E. A., ... Paul, B. (2001). Characterisation of the yeast *Pichia membranifaciens* and its possible use in the biological control of *Botrytis cinerea*, causing the grey mould disease of grapevine. *FEMS Microbiology Letters*, *202*(2), 227-232. doi:10.1111/j.1574-6968.2001.tb10808.x.

Mastouri, F., Björkman, T., & Harman, G. E. (2010). Seed treatment with *Trichoderma harzianum* alleviates biotic, abiotic, and physiological stresses in germinating seeds and seedlings. *Phytopathology*, *100*(11), 1213-1221. doi:10.1094/PHYTO-03-10-0091.

Matei, A., & Doehlemann, G. (2016). Cell biology of corn smut disease—*Ustilago maydis* as a model for biotrophic interactions. *Current Opinion in Microbiology*, *34*, 60-66. doi:10.1016/j.mib.2016.07.020.

McCain, A. (1994). Powdery Mildew. HortScript # 3. California, EE. UU.: University of California Cooperative Extension Marin County.

McCook, S. (2006). Global rust belt: Hemileia vastatrix and the ecological integration of world coffee production since 1850. *Journal of Global History*, *1*(2), 177-195. doi:10.1017/S174002280600012X.

McGuire, J. M., Kim, K. S., & Douthit, L. B. (1970). Tobacco ringspot virus in the nematode *Xiphinema americanum*. *Virology* *42*(1), 212-216. doi:10.1016/0042-6822(70)90254-0.

McKinney, H. H. (1929). Mosaic diseases in the Canary Islands, West Africa and Gibraltar. *Journal of Agricultural Research*, *39*, 577-578.

McManus, P. S., Stockwell, V. O., Sundin, G. W., & Jones, A. L. (2002). Antibiotic use in plant agriculture. *Annual Review of Phytopathology*, *40*, 443-465. doi:10.1146/annurev.phyto.40.120301.093927.

McQuilken, M. P., Gemmell, J., & Lahdenperä, M. I. (2001). *Gliocladium catenulatum* as a potential biological control agent of damping-off in bedding

plants. *Journal of Phytopathology, 149*(3-4), 171-178. doi:10.1046/j.1439-0434.2001.00602.x.

McSpadden-Gardener, B. B., & Fravel, D. (2002). Biological control of plant pathogens: Research, commercialization, and application in the USA. *Plant health progress* (pp. 207-209). doi:10.1094/PHP-2002-0510-01-RV.

Meena, B. (2014). Biological control of pest and diseases using fluorescent pseudomonads. En K. Sahayaraj (Ed.), *Basic and Applied Aspects of Biopesticides* (pp. 17-29). Nueva Delhi, India: Springer. doi.10.1007/978-81-322-1877-7_2.

Mercier, J., & Lindow, S. E. (2000). Role of leaf surface sugars in colonization of plants by bacterial epiphytes. *Applied and Environmental Microbiology, 66*(1), 369-374. doi:10.1128/aem.66.1.369-374.2000.

Mew, T. W., Alvarez, A. M., Leach, J. E., & Swings, J. (1993). Focus on bacterial blight of rice. *Plant Disease, 77*(1), 5-12. doi:10.1094/PD-77-0005.

Meyer, K. M., & Leveau, J. H. J. (2012). Microbiology of the phyllosphere: a playground for testing ecological concepts. *Oecologia, 168*(3), 621-629. doi:10.1007/s00442-011-2138-2.

Meyer, U., Fischer, E., Barbul, O., & Elad, Y. (2001). Effect of biocontrol agents on antigens present in the extracellular matrix of *Botrytis cinerea*, which are important for pathogenesis. *IOBC WPRS Bulletin, 24*(3), 5-9.

Miedtke, U., & Kennel, W. (1990). *Athelia bombacina* and *Chaetomium globosum* as antagonists of the perfect stage of the apple scab pathogen (*Venturia inaequalis*) under field conditions. *Journal of Plant Diseases and Protection, 97*(1), 24-32.

Milgroom, M. G., & Cortesi, P. (2004). Biological control of chestnut blight with hypovirulence: A critical analysis. *Annual Review of Phytopathology, 42*, 311-338. doi:10.1146/annurev.phyto.42.040803.140325.

Mizukami, T., & Wakimoto, S. (1969). Epidemiology and control of bacterial leaf blight of rice. *Annual Review of Phytopathology, 7*, 51-72. doi:10.1146/annurev.py.07.090169.000411.

Mommaerts, V., Put, K., Vandeven, J., Jans, K., Sterk, G., ... Smagghe, G. (2010). Development of a new dispenser for microbiological control agents and evaluation of dissemination by bumblebees in greenhouse strawberries. *Pest Management Science, 66*(11), 1199-1207. doi:10.1002/ps.1995.

Momonoi, K., Mori, M., Matsuura, K., Moriwaki, J., & Morikawa, T. (2015). Quantification of Mirafiori lettuce big-vein virus and its vector, *Olpidium virulentus*, from soil using real-time PCR. *Plant Pathology, 64*(4), 825-830. doi:10.1111/ppa.12333.

Montesinos, E., & Bonaterra, A. (2009). Pesticides, Microbial. En *Reference module in life sciences* (pp. 110-120). Oxford, Reino Unido: Elsevier. doi:10.1016/B978-0-12-809633-8.13087-0.

Morandi, M. A. B., Sutton, J. C., & Maffia, L. A. (2000). Effects of host and microbial factors on development of *Clonostachys rosea* and control of *Botrytis cinerea* in rose. *European Journal of Plant Pathology, 106*(5), 439-448. doi:10.1023/a:1008738513748.

Moreno, C., & Cotes, A. (2006). Survival in the phylloplane of *Trichoderma koningii* and biocontrol activity against tomato foliar pathogens. *IOBC/WPRS Bulletin, 30*, 557-561.

Moreno, C., Ramírez, J., Zapata, J., Diaz, A., & Cotes, A. (2012). Selection of *Pichia onychis* isolate for biological control of *Botrytis cinerea* based on its eco-physiological characteristics. *IOBC-WPRS Bulletin, 78*, 229-232.

Moreno, C., Smith, A., & Cotes, A. M. (2010a). Pruebas de eficacia de *Trichoderma koningiopsis* Th003 para el control del moho blanco de la lechuga. En C. A. Moreno & A. M. Cotes (Eds.), *Desarrollo de un bioplaguicida a base de Trichoderma koningiopsis Th003 y uso en el cultivo de lechuga para el control del moho blanco (Sclerotinia sclerotiorum y Sclerotinia minor)* (pp. 60-75). Bogotá, Colombia: Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica).

Moreno, C. A., Cotes, A. M., Smith, A., Beltrán, C., Villamizar, L., ... Santos, A. (2010b). *Desarrollo de un bioplaguicida a base de Trichoderma koningiopsis Th003 y uso en el cultivo de lechuga para el control del moho blanco Sclerotinia sclerotiorum y Sclerotinia minor.* Bogotá, Colombia: Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica).

Moreno, C. A., Cotes, A. M., & Vergara, E. G. (2007). Biological control of foliar diseases in tomato greenhouse crop in Colombia: selection of antagonists and efficacy tests. *IOBC WPRS Bulletin, 30*, 59.

Moretto, C., Cervantes, A. L. L., Batista, A., & Kupper, K. C. (2014). Integrated control of green mold to reduce chemical treatment in post-harvest citrus fruits. *Scientia Horticulturae, 165*, 433-438. doi:10.1016/j.scienta.2013.11.019.

Morris, C., E., Monteil, C. L., & Berge, O. (2013). The life history of *Pseudomonas syringae*: Linking agriculture to earth system processes. *Annual Review*

Phytopathology, 51, 85-104. doi:10.1146/annurev-phyto-082712-102402.

Muccilli, S., & Restuccia, C. (2015). Bioprotective role of yeasts. *Microorganisms, 3*(4), 588-611. doi:10.3390/microorganisms3040588.

Mukherjee, P., Sherkhane, P., & Murthy, N. (1999). Induction of stable benomyl-tolerant phenotypic mutants of *Trichoderma pseudokoningii* MTCC 3011, and their evaluation for antagonistic and biocontrol potential. *Indian Journal of Experimental Biology, 37*(7), 710-712.

Mukherjee, P. K., Horwitz, B. A., & Kenerley, C. M. (2012). Secondary metabolism in *Trichoderma* – a genomic perspective. *Microbiology, 158*(1), 35-45. doi:10.1099/mic.0.053629-0.

Mukherjee, P. K., Horwitz, B. A., Singh, U. S., Mukherjee, M., & Schmoll, M. (2013). *Trichoderma* in agriculture, industry and medicine: an overview. En P. K. Mukherjee, U. S. Singh, B. A. Horwitz, M. Schmoll, & M. Mukherjee (Eds.), *Trichoderma biology and applications* (pp. 1-9). CAB International. doi:10.1079/9781780642475.0001.

Murphy, J. F. (2006). Applied aspects of induced resistance to plant virus infection. En G. Loebenstein & J. P. Carr (Eds.), *Natural resistance mechanisms of plants to viruses* (pp. 1-11). Dordrecht, Holanda: Springer. doi:10.1007/1-4020-3780-5_1.

Murty, V. S. & Devadath, S. (1984). Role of seed in survival and transmission of *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* causing bacterial Blight of rice. *Journal of Phytopathology, 110*(1), 15-19. doi:10.1111/j.1439-0434.1984.tb00735.x.

Nakano, M. M. & Zuber, P. (1998). Anaerobic growth of a "Strict aerobe" (*Bacillus subtilis*). *Annual Review of Microbiology, 52*, 165-190. doi:10.1146/annurev.micro.52.1.165.

Nakazono-Nagaoka, E., Sato, C., Kosaka, Y., & Natsuaki, T. (2004). Evaluation of cross-protection with an attenuated isolate of Bean yellow mosaic virus by differential detection of virus isolates using RT-PCR. *Journal of General Plant Pathology, 70*(6), 359-362. doi:10.1007/s10327-004-0138-3.

Narayanasamy, P. (2013). Mechanisms of action of fungal biological control agents. En P. Narayanasamy (Ed.), *Biological management of diseases of crops: Volume 1: Characteristics of biological control agents* (pp. 99-200). Dordrecht, Holanda: Springer. doi:10.1007/978-94-007-6380-7_3.

Navazio, L., Baldan, B., Moscatiello, R., Zuppini, A., Woo, S. L., ... Lorito, M. (2007). Calcium-mediated perception and defense responses activated in plant cells by metabolite mixtures secreted by the biocontrol fungus *Trichoderma atroviride*. *BMC Plant Biology, 7*, 41. doi:10.1186/1471-2229-7-41.

National Center for Biotechnology Information (NCBI). (2017). *Taxonomy browser*. Recuperado de https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=1883.

Nelson, M. E., & Powelson, M. L. (1998). Biological control of gray mold of snap beans by *Trichoderma hamatum*. *Plant Disease, 72*(8), 727-729. doi:10.1094/PD-72-0727.

Newhook, F. J. (1951). Microbiological control of *Botrytis cinerea* pers. Ii. Antagonism by fungi and actinomycetes. *Annals of Applied Biology, 38*(1), 185-202. doi:10.1111/j.1744-7348.1951.tb07796.x.

Niño-Liu, D. O., Ronald, P. C., & Bogdanove, A. J. (2006). *Xanthomonas oryzae* pathovars: model pathogens of a model crop. *Molecular Plant Pathology, 7*(5), 303-324. doi:10.1111/j.1364-3703.2006.00344.x.

Nishiguchi, M., Kikuchi, S., Kiho, Y., Ohno, T., Meshi, T., & Okada, Y. (1985). Molecular basis of plant viral virulence; the complete nucleotide sequence of an attenuated strain of tobacco mosaic virus. *Nucleic Acids Research, 13*(15), 5585-5590. doi:10.1093/nar/13.15.5585.

Nishiguchi, M., & Kobayashi, K. (2011). Attenuated plant viruses: preventing virus diseases and understanding the molecular mechanism. *Journal of General Plant Pathology, 77*(4), 221-229. doi:10.1007/s10327-011-0318-x.

Noris, E., Accotto, G. P., Tavazza, R., Brunetti, A., Crespi, S., & Tavazza, M. (1996). Resistance to tomato yellow leaf curl geminivirus in *Nicotiana benthamiana* plants transformed with a truncated viral C1 gene. *Virology, 224*(1), 130-138. doi:10.1006/viro.1996.0514.

O'Neill, T. M., Elad, Y., Shtienberg, D., & Cohen, A. (1996). Control of grapevine grey mould with *Trichoderma harzianum* T39. *Biocontrol Science and Technology, 6*(2), 139-146. doi:10.1080/09583159650039340.

Orton, E. S., Deller, S., & Brown, J. K. M. (2011). *Mycosphaerella graminicola*: from genomics to disease control. *Molecular Plant Pathology, 12*(5), 413-424. doi:10.1111/j.1364-3703.2010.00688.x.

Oshima, N. (1981). Control of tomato mosaic disease by attenuated virus. *Japan Agricultural Research Quarterly, 14*(4), 222-228.

Pal, K. K., & Gardener, B. M. (2006). Biological control of plant pathogens. *The Plant Health Instructor, 2*, 1117-1142. doi:10.1094/PHI-A-2006-1117-02.

Palaniyandi, S. A., Yang, S. H., Cheng, J. H., Meng, L., & Suh, J. W. (2011). Biological control of anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) in yam by *Streptomyces* sp. MJM5763. *Journal of Applied Microbiology, 111*(2), 443-455. doi:10.1111/j.1365-2672.2011.05048.x.

Palmieri, M. C., Perazzolli, M., Matafora, V., Moretto, M., Bachi, A., & Pertot, I. (2012). Proteomic analysis of grapevine resistance induced by *Trichoderma harzianum* T39 reveals specific defence pathways activated against downy mildew. *Journal of Experimental Botany, 63*(17), 6237-6251. doi:10.1093/jxb/ers279.

Parker, J. E., Schulte, W., Hahlbrock, K., & Scheel, D. (1991). An extracellular glycoprotein from *Phytophthora megasperma* f. sp. *glycinea* elicits phytoalexin synthesis in cultured parsley cells and protoplasts. *Molecular Plant-Microbe Interaction, 4*, 19-27.

Patiño-Vera, M., Jiménez, B., Balderas, K., Ortiz, M., Allende, R., ... Galindo, E. (2005). Pilot-scale production and liquid formulation of *Rhodotorula minuta*, a potential biocontrol agent of mango anthracnose. *Journal of Applied Microbiology, 99*(3), 540-550. doi:10.1111/j.1365-2672.2005.02646.x.

Paulitz, T. C., & Bélanger, R. R. (2001). Biological control in greenhouse systems. *Annual Review of Phytopathology, 39*, 103-133. doi:10.1146/annurev.phyto.39.1.103.

Pearson, M. N., & Bailey, A. M. (2013). Viruses of *Botrytis*. *Advances in Virus Research, 86*, 249-272. doi.10.1016/B978-0-12-394315-6.00009-X.

Peng, G., & Sutton, J. C. (1991). Evaluation of microorganisms for biocontrol of *Botrytis cinerea* in strawberry. *Canadian Journal of Plant Pathology, 13*(3), 247-257. doi:10.1080/07060669109500938.

Peng, G., Sutton, J. C., & Kevan, P. G. (1992). Effectiveness of honey bees for applying the biocontrol agent *Gliocladium roseum* to strawberry flowers to suppress *Botrytis cinerea*. *Canadian Journal of Plant Pathology, 14*(2), 117-129. doi:10.1080/07060669209500888.

Peñuelas, J., & Terradas, J. (2014). The foliar microbiome. *Trends Plant Science, 19*(5), 278-280. doi:10.1016/j.tplants.2013.12.007.

Perazzolli, M., Dagostin, S., Ferrari, A., Elad, Y., & Pertot, I. (2008). Induction of systemic resistance against *Plasmopara viticola* in grapevine by *Trichoderma harzianum* T39 and benzothiadiazole. *Biological Control, 47*(2), 228-234. doi:10.1016/j.biocontrol.2008.08.008.

Perazzolli, M., Moretto, M., Fontana, P., Ferrarini, A., Velasco, R., ... Pertot, I. (2012). Downy mildew resistance induced by *Trichoderma harzianum* T39 in susceptible grapevines partially mimics transcriptional changes of resistant genotypes. *BMC Genomics, 13*, 660. doi:10.1186/1471-2164-13-660.

Perazzolli, M., Roatti, B., Bozza, E., & Pertot, I. (2011). *Trichoderma harzianum* T39 induces resistance against downy mildew by priming for defense without costs for grapevine. *Biological Control, 58*(1), 74-82. doi:10.1016/j.biocontrol.2011.04.006.

Perelló, A., & Mónaco, C. (2007). Reseña de "status and progress of biological control of wheat (*Triticum aestivum* l.) foliar diseases in argentina". *Fitosanidad, 11*(2), 85-105.

Perlak, F., Kaniewski, W., Lawson, C., Vincent, M., & Feldman, J. (1994). Genetically improved potatoes: Their potential role in integrated pest management. En M. Manka (Ed.), *3th Conference of the European Foundation for Plant Pathology* (EFPP) (pp. 451-454). Wageningen, Holanda: EFPP.

Phillips, M. W. A., & McDougall, J. (2012). Crop protection market trends and opportunities for new active ingredients. En American Chemical Society, *Abstracts of Papers of the American Chemical Society* (p. 244). Washington, EE. UU.: American Chemical Society.

Piggot, P. J., & Hilbert, D. W. (2004). Sporulation of bacillus subtilis. *Current Opinion in Microbiology, 7*(6). 579-586. doi:10.1016/j.mib.2004.10.001.

Pintye, A., Bereczky, Z., Kovács, G. M., Nagy, L. G., Xu, X., ... Kiss, L. (2012). No indication of strict host associations in a widespread mycoparasite: Grapevine powdery mildew (*Erysiphe necator*) is attacked by phylogenetically distant ampelomyces strains in the field. *Phytopathology, 102*(7), 707-716. doi:10.1094/PHYTO-10-11-0270.

Prabhakaran, N., Prameeladevi, T., Sathiyabama, M., & Kamil, D. (2015). Screening of different *Trichoderma* species against agriculturally important foliar plant pathogens. *Journal of Environmental Biology, 36*(1), 191.

Prins, M., Laimer, M., Noris, E., Schubert, J., Wassenegger, M., & Tepfer, M. (2008). Strategies for antiviral resistance in transgenic plants. *Molecular Plant Pathology, 9*(1), 73-83. doi:10.1111/j.1364-3703.2007.00447.x.

Prusky, D. (1996). Pathogen quiescence in postharvest diseases. *Annual Review of Phytopathology, 34*(1), 413-434. doi:10.1146/annurev.phyto.34.1.413.

Punja, Z. K., & Utkhede, R. S. (2003). Using fungi and yeasts to manage vegetable crop diseases. *Trends Biotechnology*, *21*(9), 400-407. doi:10.1016/S0167-7799(03)00193-8.

Pusey, P. L., Stockwell, V. O., & Mazzola, M. (2009). Epiphytic bacteria and yeasts on apple blossoms and their potential as antagonists of *Erwinia amylovora*. *Phytopathology*, *99*(5), 571-581. doi:10.1094/PHYTO-99-5-0571.

Rabindran, R., & Vidhyasekaran, P. (1996). Development of a formulation of *Pseudomonas fluorescens* PfALR2 for management of rice sheath blight. *Crop Protection*, *15*(8), 715-721. doi:10.1016/S0261-2194(96)00045-2.

Ramarathnam, R., Fernando, W. G. D., & de Kievit, T. (2011). The role of antibiosis and induced systemic resistance, mediated by strains of *Pseudomonas chlororaphis*, *Bacillus cereus* and *B. amyloliquefaciens*, in controlling blackleg disease of canola. *BioControl*, *56*(2), 225-235. doi:10.1007/s10526-010-9324-8.

Ramesh, S., & Mathivanan, N. (2009). Screening of marine actinomycetes isolated from the Bay of Bengal, India for antimicrobial activity and industrial enzymes. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *25*(12),2103-2111. doi:10.1007/s11274-009-0113-4.

Redford, A. J., & Fierer, N. (2009). Bacterial succession on the leaf surface: A novel system for studying successional dynamics. *Microbial Ecology*, *58*(1), 189-198. doi:10.1007/s00248-009-9495-y.

Redmond, J., Marois, J., & MacDonald, J. (1987). Biological control of *Botrytis cinerea* on roses with epiphytic microorganisms. *Plant Disease*, *71*(9), 799-802. doi:10.1094/PD-71-0799.

Robiglio, A., Sosa, M. C., Lutz, M. C., Lopes, C. A., & Sangorrín, M. P. (2011). Yeast biocontrol of fungal spoilage of pears stored at low temperature. *International Journal of Food Microbiology*, *147*(3), 211-216. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2011.04.007.

Rodríguez-Palenzuela, P., Matas, I. M., Murillo, J., López-Solanilla, E., Bardaji, L., Pérez-Martínez, I., ... Ramos, C. (2010). Annotation and overview of the *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* NCPPB 3335 draft genome reveals the virulence gene complement of a tumour-inducing pathogen of woody hosts. *Environmental Microbiology*, *12*(6), 1604-1620. doi:10.1111/j.1462-2920.2010.02207.x.

Romero, D., de Vicente, A., Rakotoaly, R. H., Dufour, S. E., Veening, J. W., ... Pérez-García, A. (2007a). The iturin and fengycin families of lipopeptides are key factors in antagonism of *Bacillus subtilis* toward *Podosphaera fusca*. *Molecular Plant-Microbe Interactions Journal*, *20*(4), 430-440. doi:10.1094/mpmi-20-4-0430.

Romero, D., De Vicente, A., Zeriouh, H., Cazorla, F. M., Fernández-Ortuño, D., ... Pérez-García, A. (2007b). Evaluation of biological control agents for managing cucurbit powdery mildew on greenhouse-grown melon. *Plant Pathology*, *56*(6), 976-986. doi:10.1111/j.1365-3059.2007.01684.x.

Romero, D., Rivera, M. E., Cazorla, F. M., De Vicente, A., & Pérez-García, A. (2003). Effect of mycoparasitic fungi on the development of *Sphaerotheca fusca* in melon leaves. *Mycological Research*, *107*(1), 64-71. doi:10.1017/S0953756202006974.

Roossinck, M. J., Sleat, D., & Palukaitis, P. (1992). Satellite RNAs of plant viruses: structures and biological effects. *Microbiological Reviews*, *56*(2), 265-279.

Ruanjan, P., Kertbundit, S., & Juříček, M. (2007). Post-transcriptional gene silencing is involved in resistance of transgenic papayas to papaya ringspot virus. *Biologia Plantarum*, *51*(3), 517-520. doi:10.1007/s10535-007-0110-0.

Ruberson, J. R. (1999). *Handbook of pest management*. Nueva York, EE. UU.: CRC Press.

Rückert, C., Blom, J., Chen, X., Reva, O., & Borriss, R. (2011). Genome sequence of *B. amyloliquefaciens* type strain DSM7T reveals differences to plant-associated *B. amyloliquefaciens* FZB42. *Journal of Biotechnology*, *155*(1), 78-85. doi:10.1016/j.jbiotec.2011.01.006

Ruinen, J. (1956). Occurrence of Beijerinckia species in the "Phyllosphere". *Nature*, *177*, 220-221. doi:10.1038/177220a0.

Saha, D., Kumar, R., Ghosh, S., Kumari, M., & Saha, A. (2012). Control of foliar diseases of tea with *Xanthium strumarium* leaf extract. *Industrial crops and products*, *37*(1), 376-382. doi:10.1016/j.indcrop.2011.12.030.

Saligkarias, I. D., Gravanis, F. T., & Epton, H. A. S. (2002). Biological control of *Botrytis cinerea* on tomato plants by the use of epiphytic yeasts *Candida guilliermondii* strains 101 and US 7 and *Candida oleophila* strain I-182: II. a study on mode of action. *Biological Control*, *25*(2), 151-161. doi:10.1016/S1049-9644(02)00052-X.

Samac, D. A., Willert, A. M., McBride, M. J., & Kinkel, L. L. (2003). Effects of antibiotic-producing *Streptomyces*

on nodulation and leaf spot in alfalfa. *Applied Soil Ecology*, *22*(1), 55-66. doi:10.1016/S0929-1393(02)00109-9.

Samuels, G. J. (1996). *Trichoderma*: a review of biology and systematics of the genus. *Mycological Research*, *100*(8), 923-935. doi:10.1016/S0953-7562(96)80043-8.

Sanders, P. R., Sammons, B., Kaniewski, W., Haley, L., Layton, J., ... Tumer, N. (1992). Field resistance of transgenic tomatoes expressing the tobacco mosaic virus or tomato mosaic virus coat protein genes. *Phytopathology*, *82*(6), 683-690. doi:10.1094/Phyto-82-683.

Sansone, G., Rezza, I., Fernández, G., Calvente, V., Benuzzi, D., & Sanz, M. I. (2011). Inhibitors of polygalacturonase and laccase of *Botrytis cinerea* and their application to the control of this fungus. *International Biodeterioration and Biodegradation*, *65*(1), 243-247. doi:10.1016/j.ibiod.2010.09.010.

Saravanakumar, D., Spadaro, D., Garibaldi, A., & Gullino, M. L. (2009). Detection of enzymatic activity and partial sequence of a chitinase gene in *Metschnikowia pulcherrima* strain MACH1 used as post-harvest biocontrol agent. *European Journal of Plant Pathology*, *123*(2), 183-193. doi:10.1007/s10658-008-9355-5.

Sawant, I. S. (2014). *Trichoderma*-foliar pathogen interactions. *The Open Mycology Journal*, *8*, 58-70. doi:10.2174/1874437001408010058.

Sawant, I. S., Rajguru, Y. R., Salunkhe, V. P., & Wadkar, P. N. (2012). Evaluation and selection of efficient *Trichoderma* species and isolates from diverse locations in India for biological control of anthracnose disease of grapes. *Journal of Biological Control*, *26*, 144-154.

Sawant, I. S., Wadkar, P. N., Ghule, S. B., Rajguru, Y. R., Salunkhe, V. P., & Sawant, S. D. (2017). Enhanced biological control of powdery mildew in vineyards by integrating a strain of *Trichoderma afroharzianum* with sulphur. *Biological Control*, *114*, 133-143. doi:10.1016/j.biocontrol.2017.08.011.

Scarselletti, R., & Faull, J. L. (1994). *In vitro* activity of 6-pentyl-α-pyrone, a metabolite of *Trichoderma harzianum*, in the inhibition of *Rhizoctonia solani* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Mycology Research*, *98*(10), 1207-1209. doi:10.1016/S0953-7562(09)80206-2.

Scherm, H., Ngugi, H. K., Savelle, A. T., & Edwards, J. R. (2004). Biological control of infection of blueberry flowers caused by *Monilinia vaccinii-corymbosi*. *Biological Control*, *29*(2), 199-206. doi:10.1016/S1049-9644(03)00154-3.

Schirmböck, M., Lorito, M., Wang, Y. L., Hayes, C. K., Arisan-Atac, I., ... Kubicek, C. P. (1994). Parallel formation and synergism of hydrolytic enzymes and peptaibol antibiotics, molecular mechanisms involved in the antagonistic action of *Trichoderma harzianum* against phytopathogenic fungi. *Applied and Environmental Microbiology*, *60*(12), 4364-4370.

Scholthof, K. B. Adkins, S., Czosnek, H., Palukaitis, P., Jacquot, E., Hohn, T., ... Foster, G. D. (2011). Top 10 plant viruses in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology 12*(9), 938-954. doi: 10.1111/j.1364-3703.2011.00752.x.

Schoonbeek, H.-J., Jacquat-Bovet, A.-C., Mascher, F., & Métraux, J.-P. (2007). Oxalate-degrading bacteria can protect *Arabidopsis thaliana* and crop plants against *Botrytis cinerea*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, *20*(12), 1535-1544. doi:10.1094/MPMI-20-12-1535.

Schuster, A., & Schmoll, M. (2010). Biology and biotechnology of *Trichoderma*. *Applied and Microbiological Biotechnology*, *87*(3), 787-799. doi:10.1007/s00253-010-2632-1.

Ser, H.-L., Law, J. W.-F., Chaiyakunapruk, N., Jacob, S. A., Palanisamy, U. D., ... Lee, L.-H. (2016). Fermentation conditions that affect clavulanic acid production in *Streptomyces clavuligerus*: A systematic review. *Frontiers in Microbiology*, *7*, 522. doi:10.3389/fmicb.2016.00522.

Serrano, L., Manker, D., Brandi, F., & Cali, T. (2013). The use of *Bacillus subtilis* QST 713 and *Bacillus pumilus* QST 2808 as protectant fungicides in conventional application programs for black leaf streak control. *Acta Horticulturae*, *986*. pp. 149-155. doi: 10.17660/ActaHortic.2013.986.15.

Shade, A., Jacques, M. A., & Barret, M. (2017). Ecological patterns of seed microbiome diversity, transmission, and assembly. *Current Opinion in Microbiology*, *37*, 15-22. doi:10.1016/j.mib.2017.03.010.

Shafir, S., Dag, A., Bilu, A., Abu-Toamy, M., & Elad, Y. (2006). Honey bee dispersal of the biocontrol agent *Trichoderma harzianum* T39: effectiveness in suppressing *Botrytis cinerea* on strawberry under field conditions. *European Journal of Plant Pathology*, *116*(2), 119-128. doi:10.1007/s10658-006-9047-y.

Sharma, R. R., Singh, D., & Singh, R. (2009). Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables by microbial antagonists: A review. *Biological Control, 50*(3), 205-221. doi:10.1016/j.biocontrol.2009.05.001.

Shigetou, N., Kaishu, L., Gonsalves, C., Gonsalves, D., & Slightom, J. L. (1991). Expression of the gene encoding the coat protein of cucumber mosaic virus (CMV) strain WL appears to provide protection to tobacco plants against infection by several different CMV strains. *Gene*, *107*(2), 181-188. doi:10.1016/0378-1119(91)90317-5.

Shoresh, M., Harman, G. E., & Mastouri, F. (2010). Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. *Annual Review of Phytopathology, 48*, 21-43. doi:10.1146/annurev-phyto-073009-114450.

Shtienberg, D., & Elad, Y. (1997). Incorporation of weather forecasting in integrated, biological-chemical management of *Botrytis cinerea*. *Phytopathology*, *87*(3), 332-340. doi:10.1094/PHYTO.1997.87.3.332.

Singh, D., Verma, N., & Varma, A. (2008). The fungal transmitted viruses. En A. Varma (Ed.), *Mycorrhiza: State of the art, genetics and molecular biology, eco-function, biotechnology, eco-physiology, structure and systematics* (pp. 485-503). Berlín, Alemania. Springer. doi:10.1007/978-3-540-78826-3_24.

Sivasithamparam, K., & Ghisalberti, E. (1998). Secondary metabolism in *Trichoderma* and *Gliocladium*. En G. E. Harman & C. P. Kubicek (Eds.), *Trichoderma* and *Gliocladium* (pp. 139-191). Londres, Reino Unido: Taylor & Francis Ltd.

Smith, A., Beltrán, C. A., Kusunoki, M., Cotes, A. M., Motohashi, K., ... Deguchi, M. (2013). Diversity of soil-dwelling *Trichoderma* in Colombia and their potential as biocontrol agents against the phytopathogenic fungus *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. *Journal of General Plant Pathology*, *79*(1), 74-85. doi:10.1007/s10327-012-0419-1.

Smits, T. H. M., Rezzonico, F., Kamber, T., Goesmann, A., Ishimaru, C. A., ... Duffy, B., (2010). Genome sequence of the biocontrol agent *Pantoea vagans* strain C9-1. *Journal of Bacteriology*, *192*(24), 6486-6487. doi:10.1128/jb.01122-10.

Sreenivasulu, C., & Aparna, Y. (2001). Bioremediation of methylparathion by free and immobilized cells of *Bacillus* sp. isolated from soil. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, *67*(1), 98-105. doi:10.1007/s001280096.

Stefanova, M., Leiva, A., Larrinaga, L., & Coronado, M. (1999). Metabolic activity of *Trichoderma* spp. isolates for a control of soilborne phytopathogenic fungi. *Revista de la Facultad de Agronomía Universidad de Zulia, 16*, 509-516.

Stein, T. (2005). *Bacillus subtilis* antibiotics: structures, syntheses and specific functions. *Molecular Microbiology, 56*(4), 845-857. doi:10.1111/j.1365-2958.2005.04587.x.

Stirpe, F., Williams, D. G., Onyon, L. J., Legg, R. F., & Stevens, W. A. (1981). Dianthins, ribosome-damaging proteins with anti-viral properties from *Dianthus caryophyllus* L. (carnation). *The Biochemcal Journal, 195*(2), 399-405.

Sultan, M. (2012). *Biological control of leaf pathogens of tomato plants by Bacillus subtilis (strain FZB24): antagonistic effects and induced plant resistance*. Bonn, Alemania: University of Bonn.

Sundheim, L., & Krekling, T. (1982). Host-parasite relationships of the hyperparasite *Ampelomyces quisqualis* and its powdery mildew host *Sphaerotheca fuliginea*. *Journal of Phytopathology, 104*(3), 202-210. doi:10.1111/j.1439-0434.1982.tb00527.x.

Sutton, J., & Peng, G. (1993a). Biocontrol of *Botrytis cinerea* in strawberry leaves. *Phytopathology, 83*(6), 615-621. doi:10.1094/Phyto-83-615.

Sutton, J. C., & Peng, G. (1993b). Manipulation and vectoring of biocontrol organisms to manage foliage and fruit diseases in cropping systems. *Annual Review of Phytopathology, 31*(1), 473-493. doi:10.1146/annurev.py.31.090193.002353.

Swings, J., Van den Mooter, M., Vauterin, L., Hoste, B., Gillis, M., ... Kersters, K. (1990). Reclassification of the causal agents of bacterial blight (*Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*) and bacterial leaf streak (*Xanthomonas campestris* pv. *oryzicola*) of rice as pathovars of *Xanthomonas oryzae* (ex ishiyama 1922) sp. nov., nom. rev. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *40*(3), 309-311. doi:10.1099/00207713-40-3-309.

Szentiványi, O., & Kiss, L. (2003). Overwintering of *Ampelomyces mycoparasites* on apple trees and other plants infected with powdery mildews. *Plant Pathology, 52*(6), 737-746. doi:10.1111/j.1365-3059.2003.00937.x.

Tahvonen, R., & Avikainen, H. (1987). The biological control of seed-borne *Alternaria brassicicola* of cruciferous plants with a powdery preparation

of *Streptomyces* sp. *Journal of Agricultural Science in Finland*, *59*, 199-208.

Takamatsu, S. (2004). Phylogeny and evolution of the powdery mildew fungi (Erysiphales, Ascomycota) inferred from nuclear ribosomal DNA sequences. *Mycoscience*, *45*(2), 147-157. doi:10.1007/S10267-003-0159-3.

Teng, P. (1994). Epidemiological basis for blast management. En R. S. Zeigler, S. A. Leong & P. S. Teng (Eds.), *Rice blast disease* (pp. 409-433). Wallingford, EE. UU.: CAB International.

Thapa, S., Prasanna, R., Ranjan, K., Velmourougane, K., & Ramakrishnan, B. (2017). Nutrients and host attributes modulate the abundance and functional traits of phyllosphere microbiome in rice. *Microbiology Research*, *204*, 55-64. doi:10.1016/j.micres.2017.07.007.

Thresh, J. M., & Cooter, R. J. (2005). Strategies for controlling cassava mosaic virus disease in Africa. *Plant Pathology*, *54*(5), 587-614. doi:10.1111/j.1365-3059.2005.01282.x.

Torres, D. E., Rojas-Martínez, R. I., Zavaleta-Mejía, E., Guevara-Fefer, P., Márquez-Guzmán, G. J., & Pérez-Martínez, C. (2017). *Cladosporium cladosporioides* and *Cladosporium pseudocladosporioides* as potential new fungal antagonists of *Puccinia horiana* Henn., the causal agent of chrysanthemum white rust. *PLoS ONE*, *12*(1), e0170782. doi:10.1371/journal.pone.0170782.

Tronsmo, A., & Dennis, C. (1977). The use of *Trichoderma* species to control strawberry fruit rots. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, *83*, 449. doi:10.1007/bf03041462.

Truchado, P., Gil, M. I., Reboleiro, P., Rodelas, B., & Allende, A. (2017). Impact of solar radiation exposure on phyllosphere bacterial community of red-pigmented baby leaf lettuce. *Food Microbiology*, *66*, 77-85. doi:10.1016/j.fm.2017.03.018.

Tsay, J. G., & Tung, B. (1991). *Ampelomyces quisqualis* ces. Ex schilecht., a hyper-parasite of the asparagus bean powdery mildew pathogen *Erysiphe polygoni* in Taiwan. *Transactions of the Mycological Society of Republic of China*, *6*(2), 55-58. doi:10.7099/TMSRC.199106.0055.

Tucker, S. L., & Talbot, N. J. (2001). Surface attachment and pre-penetration stage development by plant pathogenic fungi. *Annual Review of Phytopathology*, *39*, 385-417. doi:10.1146/annurev.phyto.39.1.385.

Tuohimetsä, S., Hietaranta, T., Uosukainen, M., Kukkonen, S., & Karhu, S. (2014). Fruit development in artificially self- and cross-pollinated strawberries (*Fragaria* × *ananassa*) and raspberries (*Rubus idaeus*). *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B — Soil & Plant Science*, *64*(5), 408-415. doi:10.1080/09064710.2014.919348.

Tuon, F. F., & Costa, S. F. (2008). *Rhodotorula* infection. A systematic review of 128 cases from literature. *Revista Iberoamericana de Micología*, *25*(3), 135-140.

Turnbull, P. C. (1996). *Bacillus*. En S. Baron (Ed.), *Barron's Medical Microbiology Medical Branch*. Texas, EE. UU.: University of Texas.

Umesha, S., Dharmesh, S. M., Shetty, S. A., Krishnappa, M., & Shetty, H.S. (1998). Biocontrol of downy mildew disease of pearl millet using *Pseudomonas fluorescens*. *Crop Protection*, *17*(5), 387-392. doi:10.1016/S0261-2194(98)00014-3.

Urbasch, I. (1983). On the genesis and germination of chlamydospores of *Botrytis cinerea*. *Phytopathologische Zeitschrift*, *108*(1), 54-60.

Vali, G. (1995). Principles of ice nucleation. En R. E. Lee, G. J. Warren, L.V. Gusta (Eds.), *Biological ice nucleation and its applications* (pp. 1-28). Saint Paul, EE. UU.: The American Phytopathological Society (APS).

Van Baarlen, P., Woltering, E. J., Staats, M., & Van Kan, J. A. L. (2007). Histochemical and genetic analysis of host and non-host interactions of *Arabidopsis* with three *Botrytis species:* an important role for cell death control. *Molecular Plant Pathology*, *8*(1), 41-54. doi:10.1111/j.1364-3703.2006.00367.x.

Van Damme, E. J. M., Barre, A., Barbieri, L., Valbonesi, P., Rouge, P., ... Peumans, W. J. (1997). Type 1 ribosome-inactivating proteins are the most abundant proteins in iris (*Iris hollandica* var. *Professor Blaauw*) bulbs: characterization and molecular cloning. *The Biochemical Journal*, *324*(Pt. 3), 963.

Van Kan, J. A. L., Shaw, M. W., & Grant-Downton, R. T. (2014). *Botrytis species:* relentless necrotrophic thugs or endophytes gone rogue? *Molecular Plant Pathology*, *15*(9), 957-961. doi:10.1111/mpp.12148.

Verdier, V., Restrepo, S., Mosquera, G., Jorge, V., & López, C. (2004). Recent progress in the characterization of molecular determinants in the *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*–cassava interaction. *Plant Molecular Biology*, *56*(4), 573-584. doi:10.1007/s11103-004-5044-8.

Verger, P. J. P., & Boobis, A. R. (2013). Reevaluate pesticides for food security and safety. *Science*, *341*(6147), 717-718. doi:10.1126/science.1241572.

Verma, H. N. (1994). Induction of durable resistance by primed *Clerodendrum aculeatum* leaf extract. *Indian Phytopathology*, *47*(1), 19-22.

Verma, H. N., & Awasthi, L. P. (1980). Occurrence of a highly antiviral agent in plants treated with *Boerhaavia diffusa* inhibitor. *Canadian Journal of Botany*, *58*(20), 2141-2144. doi:10.1139/b80-246.

Verma, H. N., & Dwivedi, S. D. (1984). Properties of a virus inhibiting agent, isolated from plants which have been treated with leaf extracts from *Bougainvillea spectabilis*. *Physiological Plant Pathology*, *25*(1), 93-101. doi:10.1016/0048-4059(84)90020-1.

Vidhyasekaran, P., Rabindran, R., Muthamilan, M., Nayar, K., Rajappan, K., ... Vasumathi, K. (1997). Development of a powder formulation of *Pseudomonas fluorescens* for control of rice blast. *Plant Pathology*, *46*(3), 291-297. doi:10.1046/j.1365-3059.1997.d01-27.x.

Voegele, R. T., & Mendgen, K. W. (2011). Nutrient uptake in rust fungi: how sweet is parasitic life? *Euphytica*, *179*(1), 41-55. doi:10.1007/s10681-011-0358-5.

Völksch, B., & May, R. (2001). Biological control of *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* by epiphytic bacteria under field conditions. *Microbial Ecololy*, *41*(2), 132-139. doi:10.1007/s002480000078.

Vorholt, J. A. (2012). Microbial life in the phyllosphere. *Nature reviews. Microbiology*, *10*(12), 828. doi:10.1038/nrmicro2910.

Walker, A. S., Micoud, A., Rémuson, F., Grosman, J., Gredt, M., & Leroux, P. (2013). French vineyards provide information that opens ways for effective resistance management of *Botrytis cinerea* (grey mould). *Pest Management Science*, *69*(6), 667-678. doi:10.1002/ps.3506.

Wang, Q.-M., & Bai, F.-Y. (2004). Four new yeast species of the genus *Sporobolomyces* from plant leaves. *FEMS Yeast Research*, *4*(6), 579-586. doi:10.1016/j.femsyr.2003.11.002.

Wang, X., Xue, Y., Han, M., Bu, Y., & Liu, C. (2014). The ecological roles of *Bacillus thuringiensis* within phyllosphere environments. *Chemosphere*, *108*, 258-264. doi:10.1016/j.chemosphere.2014.01.050.

Wasik, A. A., & Schiller, H. B. (2017). Functional proteomics of cellular mechanosensing mechanisms. *Seminars in Cell and Developmental Biology*, *71*, 118-128. doi:10.1016/j.semcdb.2017.06.019.

Wheeler, G. S., & Madeira, P. T. (2017). Phylogeny within the Anacardiaceae predicts host range of potential biological control agents of Brazilian peppertree. *Biological Control*, *108*, 22-29. doi:10.1016/j.biocontrol.2017.01.017.

Whipps, J. M., Hand, P., Pink, D., & Bending, G. D. (2008). Phyllosphere microbiology with special reference to diversity and plant genotype. *Journal of Applied Microbiology*, *105*(6), 1744-1755. doi:10.1111/j.1365-2672.2008.03906.x.

Whipps, J. M., McQuilken, M. P., & Budge, S. P. (1993). Use of fungal antagonists for biocontrol of damping-off and sclerotinia diseases. *Pestic Management Science*, *37*(4), 309-313. doi:10.1002/ps.2780370402.

Williamson, B., Tudzynski, B., Tudzynski, P., & Van Kan, J. A. L. (2007). *Botrytis cinerea*: the cause of grey mould disease. *Molecular Plant Pathology*, *8*(5), 561-580. doi:10.1111/j.1364-3703.2007.00417.x.

Woo, S. L., Ruocco, M., Vinale, F., Nigro, M., Marra, R., ... Lorito, M. (2014). *Trichoderma*-based products and their widespread use in agriculture. *The Open Mycology Journal*, *8*, 71-126. doi:10.2174/1874437001408010071.

Wood, R. K. S. (1951). The control of diseases of lettuce by the use of antagonistic organisms I. The control of *Botrytis cinerea* pers. *Annals of Applied Biology*, *38*(1), 203-216. doi:10.1111/j.1744-7348.1951.tb07797.x.

Wu, M., Zhang, J., Yang, L., & Li, G. (2016). RNA mycoviruses and their role in *Botrytis* biology. En S. Fillinger & Y. Elad (Eds.), *Botrytis – the fungus, the pathogen and its management in agricultural systems* (pp. 71-90). Cham, Alemania: Springer International Publishing. doi:10.1007/978-3-319-23371-0_5.

Wyand, R. A., & Brown, J. K. M. (2003). Genetic and forma specialis diversity in *Blumeria graminis* of cereals and its implications for host-pathogen co-evolution. *Molecular Plant Pathology*, *4*(3), 187-198. doi:10.1046/j.1364-3703.2003.00167.x.

Yang, C.-H., Crowley, D. E., Borneman, J., & Keen, N. T. (2001). Microbial phyllosphere populations are more complex than previously realized. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *98*(7), 3889-3894. doi:10.1073/pnas.051633898.

Yang, H.-H., Yang, S. L., Peng, K.-C., Lo, C.-T., & Liu, S.-Y. (2009). Induced proteome of *Trichoderma harzianum* by *Botrytis cinerea*. *Mycological Research*, *113*(Pt. 9), 924-932. doi:10.1016/jmycres.2009.04.004.

Yoshida, K., Goto, T., & Iizuka, N. (1985). Attenuated isolates of Cucumber Mosaic Virus produced by satellite RNA and cross protection between attenuated isolates and Virulent Ones. *Japanese Journal of Phytopathology*, *51*(2), 238-242. doi:10.3186/jjphytopath.51.238.

Yoshida, S., Hiradate, S., Koitabashi, M., Kamo, T., & Tsushima, S. (2017). Phyllosphere methylobacterium bacteria contain UVA-absorbing compounds. *Journal of Photochemestry and Photobiology. B: Biology*, *167*: 168-175. doi:10.1016/j.jphotobiol.2016.12.019

Young, C., & Andrews, J. (1990). Inhibition of pseudothecial development of *Venturia inaequalis* by the basidiomycete *Athelia bombacina* in apple leaf litter. *Phytopathology*, *80*(6), 536-542. doi:10.1094/Phyto-80-536.

Young, J. M., Bradbury, J. F., Davis, R. E., Dickey, R. S., Ercolani, G. L., ... Vidaver, A. K. (1991). Nomenclatural revisions of plant pathogenic bacteria and list of names 1980-1988. *Review of Plant Pathology*, *70*(4), 211-221.

Young, J. M., Park, D. C., Shearman, H. M., & Fargier, E. (2008). A multilocus sequence analysis of the genus *Xanthomonas*. *Systematic and Applied Microbiology*, *31*(5), 366-377. doi:10.1016/j.syapm.2008.06.004.

Zapata, J., Acosta, C., Díaz, A., Villamizar, L., & Cotes, A. (2011). Characterization of *Rhodotorula glutinis* and *Pichia onychis* Isolates with Potential as Biopesticides for Controlling *Botrytis cinerea*. *International Symposium on Biological Control of Postharvest Diseases: Challenges and Opportunities*, *905*, 155-160. doi:10.17660/ActaHortic.2011.905.16.

Zapata, J., Villamizar, L., Díaz, L., Uribe, L., Bolaños, C., ... Cotes, A. M. (2013a). Biological control of *Rhizoctonia solani* and growth promotion activity of *Trichoderma koningiopsis* Th003 and *Trichoderma asperellum* Th034 formulations in potato (*Solanum tuberosum*). *IOBC Bulletin*, *86*, 223-227.

Zapata, J., Villamizar, L., Díaz, L., Uribe, L., Bolaños, C., Gómez, M., & Cotes, A. M. (2013b). Development of a biopesticide prototype based on the yeast *Rhodotorula glutinis* Lv316 for controlling *Botrytis cinerea* in blackberry. *IOBC Bulletin*, *86*, 263-269.

Zapata, J. A., & Cotes, A. M. (2013). Eficacia de dos prototipos de bioplaguicida a base de *R. glutinis* cepa LvCo7 y un bioplaguicida a base de *T. koningiopsis*

cepa Th003 en el control de *B. cinerea* en cultivos de mora. En J. Zapata, (Ed.), *LvCo7 para el control de Botrytis cinerea en cultivos de mora* (pp. 73-79). Mosquera, Colombia: Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica).

Zapata, Y., Díaz, A., Grijalba, E., Rodríguez, F., Elad, Y., & Cotes, A. M. (2016). *Phyllosphere yeasts with potential for biological control of Botrytis cinerea in rose*. Leuven, Bélgica: International Society for Horticultural Science (ISHS).

Zhan, G., Tian, Y., Wang, F., Chen, X., Guo, J., ... Kang, Z. (2014). A novel fungal hyperparasite of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*, the causal agent of wheat stripe rust. *PLoS ONE*, *9*(11), e111484. doi:10.1371/journal.pone.0111484.

Zhang, B., Zhang, H., Jin, B., Tang, L., Yang, J., ... Bai, Z. (2008a). Effect of cypermethrin insecticide on the microbial community in cucumber phyllosphere. *Journal of Environmental Sciences*, *20*(11), 1356-1362. doi:10.1016/S1001-0742(08)62233-0.

Zhang, H., Ma, L., Jiang, S., Lin, H., Zhang, X., ... Xu, Z. (2010). Enhancement of biocontrol efficacy of *Rhodotorula glutinis* by salicyclic acid against gray mold spoilage of strawberries. *International Journal of Food Microbiology*, *141*(1-2), 122-125. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2010.04.022.

Zhang, H., Ma, L., Wang, L., Jiang, S., Dong, Y., & Zheng, X. (2008b). Biocontrol of gray mold decay in peach fruit by integration of antagonistic yeast with salicylic acid and their effects on postharvest quality parameters. *Biological Control, 47*(1), 60-65. doi:10.1016/j.biocontrol.2008.06.012.

Zhang, H., Wang, L., Dong, Y., Jiang, S., Cao, J., & Meng, R. (2007). Postharvest biological control of gray mold decay of strawberry with *Rhodotorula glutinis*. *Biological Control, 40*(2), 287-292. doi:10.1016/j.biocontrol.2006.10.008.

Zhang, H., Wang, L., Ma, L., Dong, Y., Jiang, S., ... Zheng, X. (2009). Biocontrol of major postharvest pathogens on apple using *Rhodotorula glutinis* and its effects on postharvest quality parameters. *Biological Control, 48*(1), 79-83. doi:10.1016/j.biocontrol.2008.09.004.

Zimand, G., Elad, Y., & Chet, I. (1996). Effect of *Trichoderma harzianum* on *Botrytis cinerea* pathogenicity. *Phytopathology*, *86*(11), 1255-1260. doi:10.1094/Phyto-86-1255.

Capítulo 2

Control biológico de fitopatógenos del suelo

Chapter 2

Biological control of soil-borne phytopathogens

Carlos Andrés Moreno-Velandia,[1] Alba Marina Cotes,[1]
Camilo Beltrán-Acosta,[1] Wagner Bettiol,[2] Yigal Elad[3]

[1] Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA)

[2] Embrapa Meio Ambiente

[3] Plant Pathology and Weed Research, ARO, The Volcani Center

Contenido

Introducción 148

Reseña histórica 149

Ecología de la rizosfera 152

- Concepto de rizosfera 152
- Composición de los exudados de la raíz 152
- Rasgos fisicoquímicos de la rizosfera 155
- Competencia rizosférica 156
- Efecto rizosférico 157

Principales biocontroladores y sus modos de acción 158

- *Coniothyrium minitans* 162
- *Pythium oligandrum* 163
- *Bacillus* spp. 164
- *Trichoderma* spp. 169
- *Pseudomonas* spp. 175

Bioplaguicidas 178

Estudios de caso 182

- Control biológico de *Rhizoctonia solani* en papa (Colombia) 182
- Control biológico de *Sclerotinia sclerotiorum* en soya (*Glycine max*) (Brasil) 187
- Uso de *Trichoderma koningiopsis* Th003 en esquemas de manejo integrado del moho blanco de la lechuga y del marchitamiento vascular del tomate (Colombia) 191

Limitantes del control biológico de fitopatógenos del suelo 200

Consideraciones finales y perspectivas 202

Agradecimientos 203

Referencias 204

Resumen

El control biológico de enfermedades de las plantas causadas por patógenos del suelo es posible gracias a las complejas interacciones que se dan entre los agentes de control biológico (ACB), la planta hospedera, el fitopatógeno y la comunidad microbiana de la rizosfera —la cual está sujeta a cambios dramáticos en una escala corta de tiempo—. Eventos como lluvias y periodos de sequía durante el día desencadenan fluctuaciones en la concentración de sales, el pH, el potencial osmótico, el potencial hídrico y la estructura del suelo, entre otros. Por otra parte, en una escala larga de tiempo, se generan cambios en la rizosfera debido al crecimiento de las raíces, las interacciones entre los organismos allí presentes y los procesos de meteorización del suelo. La complejidad de estas interacciones ha influido en el éxito y el fracaso de distintos casos de control biológico de las enfermedades de las plantas, lo que generó, en sus inicios, un alto grado de escepticismo hacia esta práctica. Sin embargo, la percepción de este método de control por parte de los agricultores también ha evolucionado, gracias a las exigencias generalizadas del consumidor por alimentos libres de residuos de plaguicidas, el cuidado del medioambiente y el apoyo de la legislación en varios países. La generación de conocimiento sobre la ecología de los ACB ha permitido entender mejor las interacciones entre los antagonistas y los demás componentes de la rizosfera, razón por la cual, hoy en día, el diseño de estrategias de implementación de bioplaguicidas tiene en cuenta este conocimiento para favorecer la actividad de los ACB. Aunque en la actualidad existen brechas de conocimiento sobre las mencionadas interacciones, los avances recientes en tecnologías de secuenciación del DNA han facilitado la caracterización de la composición, la diversidad y el potencial funcional de las comunidades microbianas. Esto ha permitido identificar nuevos ACB y desarrollar estrategias de manejo de comunidades microbianas para aumentar la supresión de enfermedades. En este capítulo se presenta un resumen de la historia del desarrollo del control biológico de fitopatógenos del suelo y las principales características fisicoquímicas y biológicas de la rizosfera. También se describen los ACB más ampliamente reconocidos y sus modos de acción, así como estudios de caso exitosos de control biológico de patógenos de suelo y las características que debería tener un ACB ideal.

Palabras clave

Bioplaguicidas, control biológico, fitopatógenos del suelo, frutas, hortalizas, papa, soya

Abstract

Biological control of plant diseases caused by typical soil-borne phytopathogens are the result of complex interactions between biological control agents (BCA), the plant host, the pathogen and the rhizosphere microbial community and environment. The multiphase interaction is subject to dramatic changes in a short time. Events such a rain and drought during the day can trigger fluctuations of, among others, salts concentrations, pH, osmotic potential, water potential, and soil structure changes. Whilst in a long-time range changes in the rhizosphere are given by growth of roots, organisms interactions, and soil weathering processes. The complexity of these interactions has influenced both success and failure cases of biological control as a method for plant disease management, generating in the beginning a high degree of skepticism towards this practice. However, the perception of this control method by growers has evolved, owing to generalized demands of the consumer for food free of pesticides, care of environment and the support of legislation in several countries. Generation of knowledge about BCA-ecology has allowed to better understand the interactions between the antagonists and the other components of the rhizosphere and nowadays the design of strategies for the implementation of biopesticides considers this knowledge in order to favor the activity of the BCA. Although there are currently gaps in knowledge about the complex interactions between BCA, the host plant, the phytopathogens, the plant microbiome and the environment, recent advances in DNA sequencing technologies have facilitated the characterization of the composition, diversity and functional potential of microbial communities. This has allowed the identification of new BCAs and the development of management strategies for microbial communities to improve the suppression of plant diseases and the repucibility of the BCA activity. In this chapter, a summary of the history of the development of biological control of soil-borne phytopathogens is presented. The main physical-chemical and biological characteristics of the rhizosphere, scenario in which the interactions between the components of the biocontrol system of soil-borne phytopathogens are developed, the most widely recognized biological control agents and their modes of action are described. Successful case studies of biological control of soil-borne pathogens are described and the characteristics for an ideal BCA are presented.

Keywords

Biological control, biopesticides, fruits, potato, soil-borne phytopathogens, soybean, vegetables

Introducción

Los sistemas agrícolas representan la forma más importante de uso del suelo, con un cubrimiento de aproximadamente 1.500 millones de hectáreas entre tierras de labranza y cultivos permanentes en todo el planeta, lo que representa cerca del 11 % de la superficie continental. Dado su carácter como recurso no renovable, hoy se reconoce que la productividad del suelo depende de su buen mantenimiento, por lo cual existe una especial atención al desarrollo de programas para promover el uso sostenible de este recurso (Pennock & McKenzie, 2016).

Uno de los factores que pone en riesgo la sostenibilidad del suelo es la aplicación de fumigantes y fungicidas, que se usan debido a la alta incidencia de enfermedades en los órganos subterráneos de las plantas, causadas principalmente por hongos del suelo. Sin embargo, desde los años ochenta se conocen iniciativas legislativas para reducir el uso de plaguicidas químicos y, en la actualidad, hay mayor percepción pública sobre los riesgos toxicológicos, de contaminación ambiental y de desarrollo de resistencia por parte de los fitopatógenos, debido al uso inadecuado de los plaguicidas. Los efectos colaterales del uso de plaguicidas han desencadenado cambios importantes de actitud en relación con su uso, en efecto, hoy se cuenta con regulaciones estrictas y se han generado varias órdenes de retiro de varios agroquímicos del mercado (Pal & Gardener, 2006).

Si se parte de que para el 2050 la población mundial se calcula en cerca de 9 billones de personas, se supone que la producción de alimentos debería aumentar para entonces en un 70 % (Lazarovits, Turnbull, & Johnston-Monje, 2014). En este contexto, los agricultores están llamados a producir más, con menos fertilizantes, menos plaguicidas y fumigantes y más prácticas sostenibles, lo que incluye la labranza mínima, la agricultura de precisión y el control biológico. Este último y la promoción del crecimiento vegetal con microorganismos biofertilizantes, fitoestimuladores y rizorremediadores son considerados alternativas eficaces en programas de manejo integrado de los cultivos.

El control biológico de fitopatógenos del suelo comenzó su historia hace 45 años. De acuerdo con Alabouvette, Olivain, Migheli y Steinberg (2009), en el simposio realizado en Berkley en 1965, Ecology of Soil-Borne Plant Pathogens: Prelude to Biological Control, se propusieron los dos enfoques principales del control biológico: el de aumento de las poblaciones naturales de antagonistas y el de introducción de agentes de control biológico (ACB) seleccionados. La preocupación pública sobre los peligros asociados a los agroquímicos estimuló la apertura de empresas dedicadas a la producción de bioplaguicidas e hizo que varias compañías reconocidas por sus productos agroquímicos abrieran programas de desarrollo de productos biológicos —hoy en día, incluidos en su portafolio—.

En este contexto, Bayer, por ejemplo, adquirió Agraquest; BASF adquirió Becker Underwood; Syngenta adquirió Pasteuria and Devgen; y, en el 2013, Novozymes y Monsanto establecieron la alianza BioAg, con el fin de descubrir, desarrollar y poner en el mercado soluciones microbianas para la agricultura con un menor uso de agroquímicos (Schäfer & Adams, 2015). En este panorama —y aunque la diferencia del tamaño entre los mercados de los bioplaguicidas y los plaguicidas sintéticos todavía es enorme, ya que las ventas de bioplaguicidas representan cerca del 3 % del total de ventas de plaguicidas (Blum, Nicot, Köhl, & Ruocco, 2011)—, se estima que el mercado global de bioplaguicidas aumentará a una tasa de 6,9 % anual y, para 2019, alcanzará un valor de US$ 83,7 billones, de acuerdo con el estudio realizado por BCC Research (BccResearch, 2017). La entrada de estas grandes compañías en el mercado del control biológico prevé una plataforma más estable de recursos humanos y financieros, lo cual garantizaría que los productos sean comercializados a gran escala y cuenten con un fuerte respaldo, factores que han estado ausentes, en gran medida, en el campo actual del control biológico (Lazarovits et al., 2014).

En la práctica, se considera que los microorganismos de la rizosfera son ideales para ser usados como agentes de control biológico contra patógenos de

la raíz (Weller, 1988). En este sentido, ha sido evidente que las investigaciones en control biológico de fitopatógenos del suelo con microorganismos se han enfocado principalmente en los géneros *Trichoderma*, *Gliocladium*, *Fusarium* no patogénicos, *Bacillus*, *Pseudomonas* y *Burkholderia* (Cook, 1993; Fravel, 2005). Estos géneros constituyen el principio activo de la mayoría de bioplaguicidas registrados en Europa (Ravensberg, 2015), EE. UU. (Fravel, 2005) y Suramérica (Cotes, 2011), y son considerados como los mercados más amplios de los bioplaguicidas (Velivelli, De Vos, Kromann, Declerck, & Prestwich, 2014).

Si bien en las últimas dos décadas se han adelantado investigaciones para entender la biología de las interacciones (entre el antagonista, el patógeno y la planta hospedera) que resultan en la supresión de la enfermedad, estas no han sido suficientes. Actualmente se realizan estudios para ampliar el conocimiento de las interacciones entre la comunidad de microorganismos de la rizosfera y la influencia de las condiciones ambientales sobre el comportamiento de estas. El entendimiento de la complejidad de estos sistemas ha sido una pieza fundamental para comprender la variabilidad de los resultados de biocontrol y para diseñar prácticas que favorezcan el desempeño de los ACB. Esta información, en últimas, influenciará la aceptación del control biológico como método para combatir las enfermedades de las plantas.

Reseña histórica

La primera mención indirecta del control biológico data de los años 372 a 287 a. C., cuando Teofrasto sugirió que la mezcla de diferentes muestras de suelo permitía eliminar los defectos de uno y añadir vida al otro (Tisdale, Havlin, Beaton, & Nelson, 1975). Sin embargo, esto solo fue demostrado mucho tiempo después, gracias a la microscopía. Una mención sobre la tierra cultivable y la restauración de los suelos fue registrada, por primera vez, por Virgilio, el poeta romano (70-19 a. C.), quien dijo: "Donde la arveja, las legumbres y los tallos de lupino crecen como una madera obstinada, en la siguiente temporada, pueden convertirse en el producto del año dorado" (Wasson, 2017). Sin embargo, la historia del control biológico de fitopatógenos del suelo a nivel científico se remonta al año 1908, cuando Potter demostró que un microorganismo fitopatógeno podía ser inhibido por sus propios metabolitos (Baker, 1987). El término *antagonismo*, no obstante, data de 1874, cuando William Roberts demostró, en cultivo líquido, la acción inhibitoria de bacterias al crecer conjuntamente con *Penicillium glaucum* (Roberts, 1873). Expresamente, el término *control biológico*, como una posible propuesta del manejo de enfermedades de las plantas, fue acuñado por primera vez en 1914 por Carl von Tubeuf, fundador de la fitopatología en Europa y uno de los primeros en escribir un libro en inglés sobre las enfermedades de las plantas. Ya en 1901, Tubeuf había publicado la sistemática de *Tuberculina maxima* Rostr., un parásito de la roya blanca del pino de Weymouth (*Pinus strobus* L.), y en 1914 publicó el libro *Control biológico de las enfermedades fúngicas de las plantas* (Maloy & Lang, 2003).

Los primeros intentos de aplicación de agentes de control biológico tuvieron lugar cuando Hartley (1921) inoculó suelos de un vivero forestal con trece hongos potencialmente antagonistas para controlar el volcamiento de plántulas producido por *Pythium debaryanum* en los almácigos. Como resultado, encontró un 35,8 % de volcamiento en los almácigos inoculados, mientras que, en aquellos sembrados en suelo estéril, en ausencia de los antagonistas, el volcamiento fue del 100 %. Posteriormente, Millard y Taylor (1927) investigaron sobre el control de la sarna común de la papa causada por *Streptomyces scabies*, con el potencial biocontrolador *Streptomyces praecox*, que fue inoculado en cortes de pasto verde y colocado sobre suelo estéril. El resultado fue un decrecimiento de la población de *S. scabies*. Luego, Sanford y Broadfoot (1931) demostraron un "efecto supresor" de *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* en materas cuyo suelo estéril fue inoculado con diferentes biocontroladores potenciales (seis hongos, quince bacterias y un actinomicete), varios de los cuales redujeron la enfermedad. Estos autores también demostraron que, al utilizar los filtrados de cultivo de algunos de esos microorganismos, se reducía la infección.

De otra parte, Henry (1931) demostró que *Fusarium graminearum* o *Helminthosporium sativum* causaron un porcentaje mayor de plantas de trigo con pudrición

cuando estos patógenos se inocularon en suelo estéril que cuando se inocularon en el mismo suelo no esterilizado. Además, cuando mezclaron trazas de suelo no estéril con suelo estéril e inoculado con patógenos en materas, la infección por *H. sativum* se redujo de 47,6 % a 7,8 %. Esta fue la primera transferencia exitosa de una microflora antagónica total del suelo para producir un suelo supresivo. Adicionalmente, cuando el suelo estéril infestado con *H. sativum* fue inoculado con cuatro hongos, dos bacterias y dos actinomicetos, aislados originalmente de este suelo, solo se produjo un 2,8 % de infección. Los microorganismos, multiplicados durante veinticuatro días, permitieron que el suelo esterilizado (pero inoculado con estos) se hiciera tan supresivo como el suelo no estéril.

Posteriormente, una serie de trabajos clásicos de Weindling (1932, 1934, 1936, 1941) puso en evidencia el potencial de *Trichoderma* spp. como agente de biocontrol de *R. solani* (Weindling, 1932, 1934), así como su parasitismo y antibiosis (Weindling, 1941; Weindling & Emerson, 1936). Grossbard (1945, 1946, 1947, 1948a, 1948b, 1949, 1952), Kembel et al. (2014), Wright (1954, 1956) y otros demostraron que los antibióticos se producían en el suelo por *Aspergillus* spp., *Trichoderma* spp. y *Streptomyces* spp. El control biológico también se logró mediante la protección del material de siembra con antagonistas cuando Wood y Tveit (1955) encontraron que *Chaetomium* spp. aislado de semillas de avena de Brasil proporcionó algún nivel de control contra *Helminthosporium victoriae*. También Wright (1956) demostró que la aplicación de *Trichoderma* a las semillas de mostaza las protegía del ataque de *Pythium* sp.

Desde los años cincuenta hasta el 2000, muchas enfermedades han sido controladas efectivamente, aplicando ACB tanto al material de siembra como al suelo. Se destaca el uso de *Trichoderma* spp. contra patógenos de semillas y de raíces tales como *Pythium* y *Rhizoctonia* (Aluko & Hering, 1970; Bliss, 1951; Cotes, Lepoivre, & Semal, 1996; Chet, 1987; Elad, Chet, & Henis, 1982a; Elad, Kalfon, & Chet, 1982b; Hadar, Harman, & Taylor, 1984; Harman, Chet, & Baker, 1980; Harman, 2000; Harman, Howell, Viterbo, Chet, & Lorito, 1981; Howell, 1982; Lifshitz, Windham, & Baker, 1986; Lumsden, Locke, Adkins, Walter, & Ridout, 1992; Marshall, 1982; Papavizas, Lewis, & Moity, 1982; Wells, Bel, & Jaworski, 1972; Yedidia, Benhamou, & Chet, 1999; Zhang, Howell, & Starr, 1996).

Varios estudios colaterales han contribuido significativamente al estudio del control biológico de patógenos del suelo. Está el caso, por ejemplo, de los estudios sobre la microbiología de la rizosfera, en los cuales Hiltner (1904) examina la actividad microbiana en la zona que rodea las raíces de las plantas, a la que llamó *rizosfera*. Lochhead (1940) y Lochhead y Chase (1943) estudiaron el agrupamiento de las bacterias del suelo y de la rizosfera en función de la nutrición que estas zonas les proveen. Luego, Rovira (1956) aclaró la composición de los exudados radiculares, los factores que afectan su producción y la influencia de estos sobre la microflora de la rizosfera. El término *rizobacterias* fue, a su vez, acuñado por Kloepper y Schroth (1978), con base en sus experimentos con rábanos. Estas bacterias fueron definidas como una comunidad que coloniza de forma competitiva las raíces, aumenta el crecimiento de las plantas y reduce las enfermedades. La estimulación del crecimiento y la capacidad exitosa de control biológico por parte de estas bacterias han sido demostradas por varios autores (Kloepper, 1993; Weller, 1988; Weller, Raaijmakers, Gardener, & Thomashow, 2002; Whipps, 2001).

Además del uso de bacterias promotoras de crecimiento (PGPR), las estrategias para el control biológico de las enfermedades bacterianas se han basado principalmente en el uso de cepas no patogénicas, cepas patogénicamente atenuadas, bacterias saprofíticas (Frey et al., 1994; Iriarte et al., 2012; Ji et al., 2006) y cepas de *Agrobacterium radiobacter* no patógenas que inhiben cepas patógenas estrechamente relacionadas que producen bacteriocinas (Kerr, 1974; Kerr & Htay, 1974).

En relación con los suelos supresivos, se sabía desde 1892 que el marchitamiento producido por *Fusarium oxysporum* era más frecuente en suelos arenosos que en suelos arcillosos. Sin embargo, fue debido a las políticas de la United Fruit Company y a la dificultad de obtener bananos resistentes a *F. oxysporum* f. sp. *cubense*, que se continuó con los estudios iniciados en 1922 en suelos arcillosos "resistentes" o "de larga vida" en Centroamérica. Reinking y Manns (1933) fueron quienes confirmaron la relación entre este tipo de suelo y la tolerancia al patógeno. Walker y Snyder (1933)

observaron que los guisantes cultivados en suelos arcillosos permanecieron libres del marchitamiento por *F. oxysporum* f. sp. *pisi* y que el patógeno se establecía con dificultad en estos. Más adelante, Stotzky y Torrence Martin (1963) y Stotzky y Rem (1966) estudiaron la mineralogía del suelo en cuanto a la propagación del marchitamiento por *F. oxysporum* en el cultivo de banano, y establecieron particularmente el efecto a los minerales arcillosos montmorillonita y caolinita.

La supresividad producida por factores bióticos del suelo fue determinada por Hartley (1921) en estudios contra *P. debaryanum*. Estudios posteriores demostraron la supresividad contra la pudrición del tubérculo y de la raíz de la papa producida por *Fusarium* en Washington (Burke, 1965; Menzies, 1959), contra la fusariosis de los melones en Francia (Alabouvette, 1986) y contra la marchitez de la papa, el lino y el clavel por *Fusarium* en California (Scher & Baker, 1980). En Colombia, Chet y Baker (1981) reportaron que un suelo plantado con clavel en la sabana de Bogotá fue supresivo para *Rhizoctonia solani* en rábano y fríjol. También se ha demostrado la supresividad de suelos para los oomicetos *Phytophthora* spp. y *Pythium* spp. en Australia, California, Hawái y México (Broadbent & Baker, 1974; Kao & Ko, 1986; Martin & Hancock, 1986).

Varias de estas investigaciones han revelado que el control de las enfermedades está asociado a la combinación de factores bióticos y abióticos del suelo (Hornby, 1983). La supresividad de enfermedades inducida por el monocultivo de la planta huésped también ha sido mencionada por varios autores; la más conocida ocurrió después de algunos años de monocultivo de trigo en Inglaterra, Países Bajos, Estados Unidos y Australia (Shipton, 1977). En esta, la incidencia de la enfermedad causada por *Gaeumannomyces graminis* aumentó después de varios años con el monocultivo de trigo, pero disminuyó después de un largo cultivo continuo. Se han observado efectos similares en la disminución de enfermedades como *R. solani* en rábano (Liu & Baker, 1980) y marchitez por *Fusarium* en sandía, después de siembras sucesivas de cultivares específicos (Larkin, Hopkins, & Martin, 1993).

Otro aporte importante al control biológico de fitopatógenos partió de los estudios de McKinney (1929), quien descubrió la protección cruzada al inocular plantas con un virus para protegerlas de un segundo virus patogénico. Este hallazgo fue confirmado rápidamente por otros investigadores, lo cual allanó el camino para la posterior aplicación comercial exitosa del método. Biraghi (1951) encontró que los chancros de la castaña, causados por *Endothia parasitica*, en Italia se curaban inesperadamente; sus extensas observaciones estimularon el descubrimiento de la hipovirulencia transmisible. Así mismo, la pudrición de la batata causada por *F. oxysporum* f. sp. *batatas* fue controlada por McClure (1951) mediante la preinoculación de los cortes con aislamientos de *Fusarium solani*, un patógeno de bajo impacto en este cultivo. De otra parte, Lindberg (1959) encontró que los cultivos de *Helminthosporium victoriae*, patógeno de la avena, desarrollaron una enfermedad transmisible que les causó una reducida virulencia, asociada con la presencia de micovirus dsRNA en el patógeno, a los cuales se les han atribuido los efectos de hipovirulencia a partir de esa fecha.

Los virus bacterianos también han sido usados para el control biológico. La investigación en este tema se inició con el descubrimiento de Twort (1915) de la existencia de virus ultramicroscópicos llamados posteriormente *bacteriófagos*, los cuales fueron estudiados como agentes contra enfermedades bacterianas de seres humanos y de animales (Beckerich & Hauduroy, 1922; Brunoghe & Maisin, 1921). Poco después, estos se encontraron asociados a patógenos bacterianos de plantas y se propusieron como agentes de control biológico (Moore, 1926). Los pioneros en este tema fueron Mallmann y Hemstreet (1924), quienes observaron que el filtrado del líquido del repollo inhibía el crecimiento de la bacteria *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* que le causaba pudrición a esta planta.

Kotila y Coons (1925) demostraron que los bacteriófagos aislados del suelo suprimían el crecimiento de *Pectobacterium carotovorum* subsp. *atrosepticum*, el agente causal de la enfermedad de la pata negra de la papa. Al realizar bioensayos coinoculando el fago con la fitobacteria lograron controlar la descomposición de los tubérculos de la papa. Además, aislaron fagos activos de varias fuentes ambientales (agua de ríos y suelo), los cuales fueron efectivos contra *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* y contra *Agrobacterium tumefaciens* (Coons & Kotila, 1925). Los primeros ensayos de campo fueron conducidos por Thomas (1935) contra el marchitamiento del maíz producido

por *Pantoea stewartii*, para lo cual las semillas de maíz infestadas con el patógeno fueron tratadas con fagos aislados de material vegetal enfermo. Este tratamiento de semillas fue bastante eficaz y dio como resultado una incidencia de 1,4 %, mientras que en las semillas sin tratar la incidencia de la enfermedad fue del 18 %. El tema tuvo muchos desarrollos en el siglo xx, varios de ellos encaminados al control biológico de bacterias fitopatógenas (Summers, 2005).

Ecología de la rizosfera

Las principales actividades de los microorganismos en el suelo incluyen la descomposición de la materia orgánica, la mineralización de nutrientes, la fijación de nitrógeno, la supresión de fitopatógenos y el parasitismo de raíces (con el consecuente daño a las plantas). Varias de las propiedades biológicas, físicas y químicas del suelo se cumplen en función de la materia orgánica del suelo. Esta última contribuye a la disponibilidad de nutrientes para las plantas, provee condiciones físicas favorables para su crecimiento, aumenta la capacidad de tampón del suelo, estimula el desarrollo de las raíces, incrementa la diversidad biológica y facilita los ciclos geoquímicos como los del carbono y el nitrógeno (Abawi & Widmer, 2000). El control biológico de fitopatógenos del suelo es complejo, debido a que las interacciones entre antagonista-patógeno-hospedero y comunidad microbiana ocurren en la rizosfera, que se caracteriza por cambios fisicoquímicos continuos y una intensa actividad microbiana.

Concepto de rizosfera

El término *rizosfera* fue propuesto por primera vez en 1904 por el científico alemán Lorenz Hiltner. La definición de dicho término se centró en la idea de que la nutrición vegetal está influenciada considerablemente por la composición microbiana de la rizosfera. Hiltner mencionó que los exudados de las raíces eran responsables del sostenimiento de comunidades de bacterias en la zona de la raíz, a las cuales llamó *bacteriorrizas*, por analogía con los hongos asociados simbióticamente con las raíces de las plantas, llamados *micorrizas*. Basado en sus observaciones, Hiltner también planteó la hipótesis de que la resistencia de las plantas a los patógenos y la calidad de los productos vegetales dependían de la composición de la microflora de la rizosfera (Hartmann, Rothballer, & Schmid, 2008).

Después de Hiltner, se encuentran en la literatura científica varias definiciones de la rizosfera, sin embargo, todas presentan los elementos propuestos por este autor en 1904: aquella zona del suelo íntimamente ligada a la raíz de las plantas, en la cual se presenta una alta actividad biológica coordinada por la presencia de exudados de la raíz (Hartmann et al., 2008). En los estudios de control biológico de fitopatógenos de la raíz a menudo se analiza solamente el componente biológico (planta y microorganismo) y se dejan de lado los componentes físicos y químicos que afectan las interacciones de este, lo que podría explicar en gran parte la variabilidad de los resultados.

A continuación, se propone una definición de la rizosfera con base en las propuestas de varios autores: la rizosfera es un sistema físico, químico y biológico complejo, que comprende la interfaz entre la raíz de las plantas y el volumen de suelo en contacto íntimo con esta (figura 2.1). La rizosfera se ve afectada directamente por la actividad de la raíz (Darrah, 1993; Hinsinger, 1998) y, a su vez, mantiene una comunicación bidireccional con ella. Esta zona se caracteriza por tener una alta densidad de población de microorganismos, por lo cual las raíces de las plantas deben competir por espacio, agua y nutrientes con los sistemas de raíces invasoras (de plantas vecinas de otras especies) y con los microorganismos del suelo (bacterias, hongos e insectos que se alimentan de una fuente abundante de materia orgánica) (Ryan, Delhaize, & Jones, 2001). Lynch (1990) propuso dividir la rizosfera en tres partes: la ectorrizosfera, que comprende el suelo adherido a la raíz; el rizoplano o superficie de la raíz; y la zona interior de la raíz, que abarca la rizodermis y las células corticales.

Composición de los exudados de la raíz

Se estima que entre el 5 % y el 21 % del carbono fijado por las plantas a través de la fotosíntesis es transferido a la rizosfera en forma de exudados de la raíz (Marschner,

Foto: Carlos Andrés Moreno

Figura 2.1. Rizosfera de dos solanáceas. a. Rizosfera de una planta de uchuva de una semana de edad; b. Rizosfera de tomate de dos semanas de edad después del trasplante.

1995), aunque esta proporción puede ser hasta de 30 % o 40 % en plántulas (Bertin, Yang, & Weston, 2003). Grayston y Campbell (1996) clasificaron los exudados de la raíz en cinco clases: compuestos difusibles, secreciones, lisados, gases y mucílago. Los compuestos difusibles se caracterizan por ser de bajo peso molecular y ser solubles en agua —azúcares, ácidos orgánicos o aminoácidos—, y se difunden pasivamente a través de la pared celular o entre las células de la epidermis, como resultado de gradientes de concentración entre el interior y el exterior de la raíz. Las secreciones son compuestos de alto peso molecular, como los sideróforos, secretados activamente por la raíz en respuesta a gradientes electroquímicos. Los lisados consisten en material orgánico liberado en el suelo por las células muertas después de la autolisis. Los gases son principalmente etileno, dióxido de carbono y cianuro de hidrógeno. El mucílago, usado para mejorar el proceso de penetración de la raíz en el suelo, está compuesto por polisacáridos y ácidos poligalacturónicos; suele llamarse mucigel si contiene *mucílago* microbiano.

El conjunto de todos estos componentes asociados a la raíz y acumulados en la rizosfera también recibe el nombre de *rizodepósito* y, como ya se ha descrito, afecta el crecimiento vegetal y la ecología de la rizosfera (Bertin et al., 2003; Faure, Vereecke, & Leveau, 2009). La exudación de la raíz es realizada principalmente por los pelos radicales y las raíces primarias y secundarias en crecimiento activo (Bertin et al., 2003); pero las células apicales también hacen una contribución significativa (Faure et al., 2009). En la tabla 2.1 se listan los principales compuestos orgánicos y enzimas que hacen parte de los exudados de las raíces.

La composición de los rizodepósitos varía de acuerdo con la especie, la variedad y el estado fenológico de la planta, así como con la exposición de esta a condiciones de estrés y el tipo de suelo, entre otros (Compant, Clément, & Sessitsch, 2010). De esto también dependen las diferencias en la composición de las comunidades de bacterias asociadas a la rizosfera (Haichar et al., 2008). En efecto, los exudados de la raíz son considerados como un factor que determina la interacción específica entre las rizobacterias y el hospedero: se ha demostrado que, con los exudados de la raíz, la planta puede seleccionar los colonizadores de la rizosfera. Por ejemplo, algunos aislamientos de *Azospirillum* spp. son atraídos por el mucílago producido por la raíz del maíz, pero otras cepas aisladas de la rizosfera de plantas de arroz no respondieron a los exudados del maíz (Mandimba, Heulin, Bally, Guckert, & Balandreau, 1986). Humphris et al. (2005) observaron que las células del borde y el mucílago de la raíz de plantas de maíz reducen la colonización del ápice de la raíz por *Pseudomonas fluorescens* SBW25.

Tabla 2.1. Compuestos orgánicos y enzimas liberadas por las plantas en los exudados de la raíz y su función en la rizosfera

Compuesto	Componentes	Funciones
Azúcares	Arabinosa, desoxirribosa, fructosa, galactosa, glucosa, maltosa, oligosacáridos, rafinosa, ramnosa, ribosa, sucrosa, xilosa y manitol	Lubricación, protección de las plantas contra toxinas, quimioatracción y estimulación del crecimiento de microorganismos
Aminoácidos y amidas	Todos los 20 aminoácidos proteinogénicos, ácido γ-amino butírico, cistationina, cistina, homoserina, ácido mugénico, ornitina, fitosideróforos, betaina y estacidrina	Inhibición de nematodos, estimulación del crecimiento de microorganismos, quimioatracción, osmoprotección y captura de hierro
Ácidos alifáticos	Los ácidos siguientes: acético, acetónico, aconítico, aldónico, butírico, cítrico, eritrónico, fórmico, fumárico, glucónico, glutárico, glicólico, isocítrico, láctico, maléico, málico, malónico, oxálico, oxaloacético, oxaloglutárico, piscídico, propiónico, pirúvico, shikímico, succínico, tartárico, tetrónico y valérico	Regulación del crecimiento vegetal, quimioatracción y estimulación del crecimiento de microorganismos
Ácidos aromáticos	Ácidos p-hydroxybenzóico, caféico, p-coumérico, ferúlico, gálico, gentísico, protocatecúico, sinápico y siríngico	Regulación del crecimiento vegetal y quimioatracción
Fenoles	Flavanol, flavonas, flavanonas, antocianinas, isoflavonoides y acetosiringona	Regulación del crecimiento vegetal; quimioatracción; interacciones alelopáticas; defensa vegetal; fitoalexinas; iniciadores de la interacción con *Rhizobium* en leguminosas; iniciadores de interacción con micorrizas y actinomicetos; estimulación del crecimiento de microorganismos; y estimulación de la degradación xenobiótica de bacterias
Ácidos grasos	Ácidos linoléico, linolénico, oléico, palmítico y esteárico	Regulación del crecimiento vegetal
Vitaminas	Ácido p-aminobenzóico, biotina, colina, ácido n-metionilnicotínico, niacina, pantotenato, piridoxina, riboflavina y tiamina	Estimulación del crecimiento de microorganismos
Ésteres	Campestrol, colesterol, sitosterol y estigmasterol	Regulación del crecimiento vegetal
Enzimas y proteínas	Amyiasa, invertasa, fosfatasa, poligalacturonasa, proteasa, hidrolasa y lectina	Defensa vegetal y factor de degradación Nod

(Continúa)

(Continuación tabla 2.1)

Compuesto	Componentes	Funciones
Hormonas	Auxina, etileno y su precursor ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC), putrescina, jasmonato y ácido salicílico	Regulación del crecimiento vegetal
Otros	Sin identificar, similar a acil-homoserina lactona, saponina, escopoletina, especies reactivas de oxígeno, nucleótidos, calistegina, trigonelina, xantona y estrigolactonas	*Quorum quenching*; regulación del crecimiento vegetal; defensa vegetal; adhesión de microorganismos; estimulación del crecimiento de microorganismos; e iniciadores de interacciones de micorrizas arbusculares

Fuente: Adaptado de Faure et al. (2009)

Rasgos fisicoquímicos de la rizosfera

La rizosfera difiere del resto del suelo en una serie de procesos bioquímicos, químicos y físicos que le son propios como consecuencia del crecimiento de la raíz, la captación de agua y nutrientes, la respiración y la rizodeposición —procesos que afectan la ecología de los microorganismos allí presentes y la fisiología de la planta de forma considerable—. Estos cambios también se derivan de la actividad de los microorganismos que son estimulados en la vecindad de las raíces como consecuencia de la liberación de rizodepósitos (Jones, Hodge, & Kuzyakov, 2004).

Los procesos coordinados por la raíz que son responsables de los principales cambios en las propiedades físicas y químicas de la rizosfera fueron revisados en detalle por Hinsinger (1998) y, posteriormente, resumidos por Hinsinger, Gobran, Gregory y Wenzel (2005), con especial énfasis en la geometría y la heterogeneidad de la rizosfera en el espacio y en el tiempo. Hinsinger, Plassard y Jaillard (2006) presentaron, además, un resumen de las consecuencias de los procesos químicos básicos que ocurren en la rizosfera sobre la biogeoquímica de varios elementos como fósforo, potasio, nitrógeno, magnesio y calcio. Aunque se asume de forma general que estos cambios en las propiedades fisicoquímicas de la rizosfera coordinados por la raíz afectan, en últimas, las actividades de los microorganismos del suelo, aún es escasa la aplicación de este conocimiento a las interacciones particulares entre especies de agentes de control biológico y plantas cultivadas.

El crecimiento de la raíz ejerce fuerzas considerables que alteran las propiedades físicas del suelo, como la densidad aparente, la porosidad y la resistencia. Los polisacáridos liberados por la raíz en los rizodepósitos tienen un papel importante en los cambios físicos de la rizosfera (Czarnes, Hallett, Bengough, & Young, 2000). A su vez, los exopolisacáridos producidos por los microorganismos de la rizosfera juegan un papel clave en la agregación de suelo (Amellal, Burtin, Bartoli, & Heulin, 1998). La captación de agua por la raíz cambia el potencial de agua a su alrededor, lo cual afecta la transferencia radial hacia su interior y también la actividad de los microorganismos en la rizosfera.

Con respecto a los procesos químicos, se conoce que las funciones biológicas de las raíces de las plantas —como la absorción, la respiración y la exudación— alteran de forma considerable varias propiedades químicas de la rizosfera, entre las que se encuentran las concentraciones de nutrientes; de elementos tóxicos como el aluminio y otros contaminantes; las concentraciones de complejos de compuestos quelantes; el pH; el potencial redox; y la presión parcial de CO_2 y O_2, entre otras (Hinsinger et al., 2005). Particularmente, la absorción de agua y solutos contenidos en la solución del suelo ocasionan zonas de agotamiento de iones, lo cual ha sido observado para el fósforo, el nitrógeno nítrico y el potasio (Hinsinger et al., 2006). En otros casos, el fenómeno encontrado es

la acumulación de nutrientes cerca de la superficie de la raíz, especialmente en ecosistemas forestales en los cuales la concentración de calcio y magnesio en el suelo es más alta que la demandada por la planta (Hinsinger et al., 2006).

El intercambio de protones, cationes y aniones entre la raíz de la planta y la solución del suelo es responsable, en gran medida, de cambios de hasta dos unidades en el pH de la rizosfera (Hinsinger et al., 2003). La respiración de las raíces y los microorganismos de la rizosfera también ocasionan cambios en el pH, debido a la acumulación de CO_2 en la rizosfera y en el suelo; se sabe que este proceso llevado a cabo por los microorganismos es una fuente importante de protones (Van Breemen, Driscoll, & Mulder, 1984). Por otra parte, la liberación de compuestos ácidos desde la raíz puede ocasionar la disolución de carbonato de calcio (Hinsinger et al., 2006).

La exudación de compuestos orgánicos desde la raíz a la rizosfera tiene un mayor impacto sobre la microbiología del suelo y sobre el ciclo biogeoquímico del carbono. Algunos exudados y metabolitos microbianos (fosfatasas, proteasas, arilsulfatasas) tienen un efecto significativo sobre los ciclos biogeoquímicos de fósforo, nitrógeno y azufre. Compuestos carboxilados como malato, citrato y oxalato exudados por las raíces tienen efectos biogeoquímicos debido a su papel en la formación de complejos metálicos con aluminio, calcio, hierro y elementos traza (Hinsinger, 2001).

Competencia rizosférica

La introducción de microorganismos antagonistas de fitopatógenos en cultivos agrícolas es uno de los métodos más promisorios para incrementar la productividad agrícola y la eficiencia en la biodegradación de contaminantes. La práctica de aplicar al suelo cepas de hongos y bacterias benéficas como inóculo microbiano para estimular el crecimiento vegetal y para controlar fitopatógenos lleva ya bastante tiempo. Sin embargo, uno de los principales problemas en la introducción de microorganismos es que varios de estos no sobreviven o no ejercen la función específica esperada; en este sentido, se sabe que la colonización de la raíz es un factor importante en la promoción del crecimiento vegetal y en el control biológico (De Weger et al., 1995; Knudsen et al., 1997; Lugtenberg, Dekkers, & Bloemberg, 2001). No obstante, se debe tener en cuenta que la introducción exitosa de un agente de biocontrol en un sistema planta-suelo-ambiente determinado no garantiza los mismos resultados ni la sobrevivencia de este en otro tipo de suelo o en otro genotipo vegetal (Jagnow, Höflich, & Hoffmann, 1991; Van Elsas & Heijnen, 1990; Van Veen, Van Overbeek, & Van Elsas, 1997).

Después de la inoculación, un antagonista debe establecerse y distribuirse en la raíz, reproducirse y sobrevivir por varias semanas, así como competir con la microflora nativa (Benizri, Baudoin, & Guckert, 2001; Compant et al., 2010; Compant, Duffy, Nowak, Clément, & Barka, 2005; Weller, 1988). El término *competencia* fue usado por Ahmad y Baker (1987) para describir la capacidad que tienen los agentes de control biológico de crecer y ejercer su actividad biocontroladora en la rizosfera. Dicha competencia varía entre especies y entre cepas de la misma especie.

En el caso de las rizobacterias, por ejemplo, su dispersión desde el punto de inoculación (usualmente la semilla) hacia las raíces en crecimiento es controlada básicamente por dos mecanismos: motilidad activa de la bacteria y el movimiento pasivo de la bacteria a través del agua de percolación o a través de vectores (figura 2.2). La efectividad de los mecanismos de dispersión depende del tipo de suelo, la planta hospedera y las características de la bacteria (Benizri et al., 2001). No obstante, existen otros factores que afectan el proceso de colonización de la rizosfera y que, a su vez, pueden explicar el hecho de que la colonización del rizoplano no sea uniforme. Tales factores incluyen patrones variables de exudación de la raíz, quimiotaxis, producción de metabolitos secundarios involucrados en biocontrol, presencia de flagelos, *quorum sensing* y producción de compuestos específicos como polisacáridos extracelulares y enzimas.

La simple introducción de agentes de control biológico solos o en consorcio al suelo no ha brindado el éxito deseado, principalmente porque los antagonistas no sobreviven lo suficiente para tener un efecto significativo. Una estrategia utilizada para colocar los antagonistas en el sitio donde haya mayor disponibilidad de nutrientes, en teoría, es aplicarlo en la

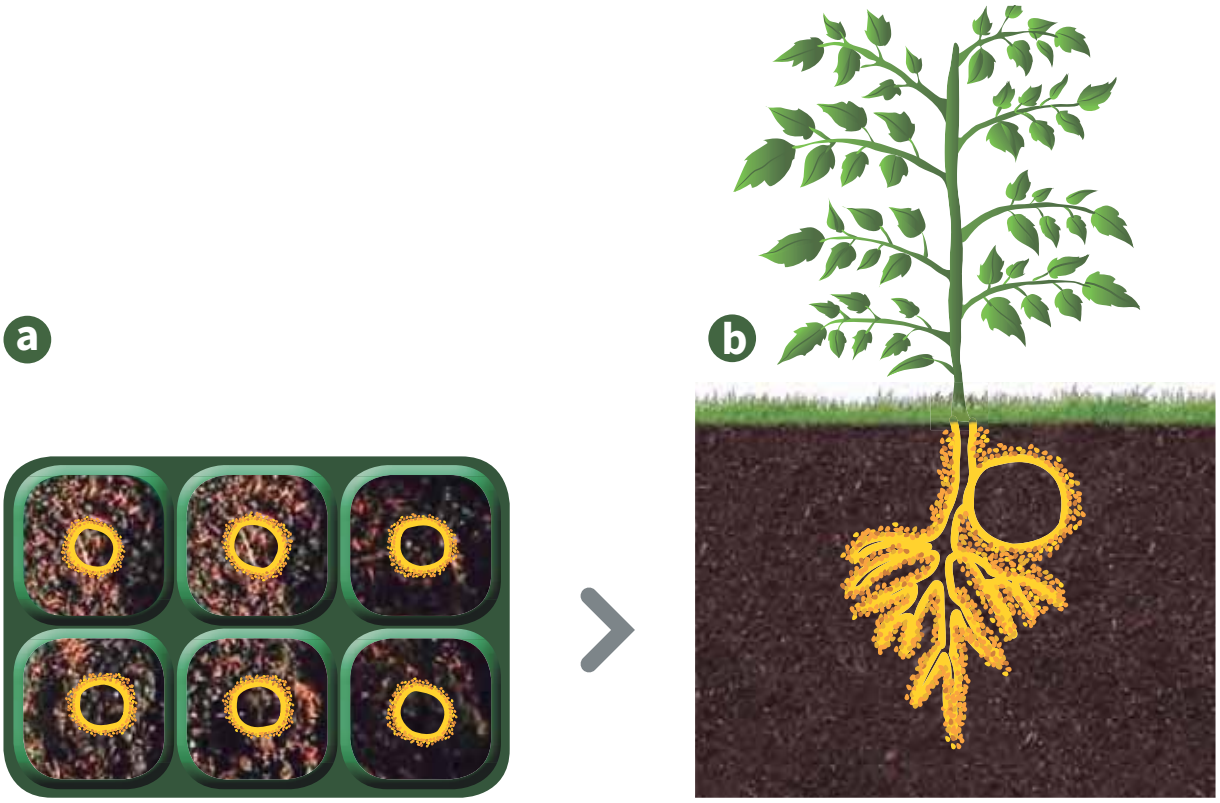


Figura 2.2. Colonización de rizobacterias. a. Semillas tratadas con un biocontrolador que las coloniza. b. Dispersión y colonización del biocontrolador en el sistema radicular de la planta.

Fuente: Elaboración propia

raíz de las plántulas antes del trasplante. Otra estrategia consiste en la introducción de una base nutricional, como abonos verdes o compost, junto con el agente de control biológico (Hoitink & Boehm, 1999).

Efecto rizosférico

Las comunidades de microorganismos que se desarrollan en la rizosfera utilizan los exudados de la raíz como fuente de energía y nutrientes (Hartmann et al., 2008; Smalla, Sessitsch, & Hartmann, 2006). Dicho estímulo ejercido por los exudados radicales es conocido como "efecto rizosférico" (Hinsinger et al., 2005; Lugtenberg & Kamilova, 2009). Los principales grupos de microorganismos y otros agentes que se encuentran en la rizosfera incluyen bacterias, hongos, nematodos, protozoos, algas y microartrópodos (Raaijmakers, Paulitz, Steinberg, Alabouvette, & Moënne-Loccoz, 2009). Algunas especies de microorganismos presentes en la rizosfera son benéficas y otras son deletéreas para el crecimiento de las plantas (Raaijmakers et al., 2009; Welbaum, Sturz, Dong, & Nowak, 2004) (figura 2.3). Las especies de bacterias y hongos que se encuentran en el primer grupo se conocen como rizobacterias y hongos promotores del crecimiento vegetal (PGPR y PGPF, por sus siglas en inglés) (Kloepper & Schroth, 1978).

Los fitopatógenos y los antagonistas compiten entonces por la oferta de nutrientes que ofrece la planta a través de los exudados radicales, por lo que resulta de gran interés conocer los compuestos que favorecen el crecimiento de los últimos y aquellos que afectan negativamente a los primeros. Conocer la interacción entre los fitopatógenos y los exudados de la raíz resulta de particular interés en el caso de patógenos cosmopolitas, como *Fusarium*

oxysporum, *Rhizoctonia solani* y *Sclerotinia sclerotiorum*. En este sentido, Steinberg, Whipps, Wood, Fenlon y Alabouvette (1999) observaron que el desarrollo (germinación, elongación de hifas y ramificación) de cepas de *F. oxysporum* patogénicas y no patogénicas fue estimulado de forma similar por los exudados radicales de tomate. Así mismo, estas cepas mostraron un patrón similar de respuestas en la vecindad de las raíces de tomate y trigo. De forma semejante, el trabajo de Steinkellner, Mammerler y Vierheilig (2005) demostró que los exudados de plantas no hospederas estimularon la germinación de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Aunque los mecanismos de reconocimiento y señalización entre la planta hospedera y los patógenos o cepas no patogénicas ocurre sobre la raíz o en su interior, estos trabajos permiten ver una de las estrategias utilizadas por los patógenos para competir con la microflora del suelo.

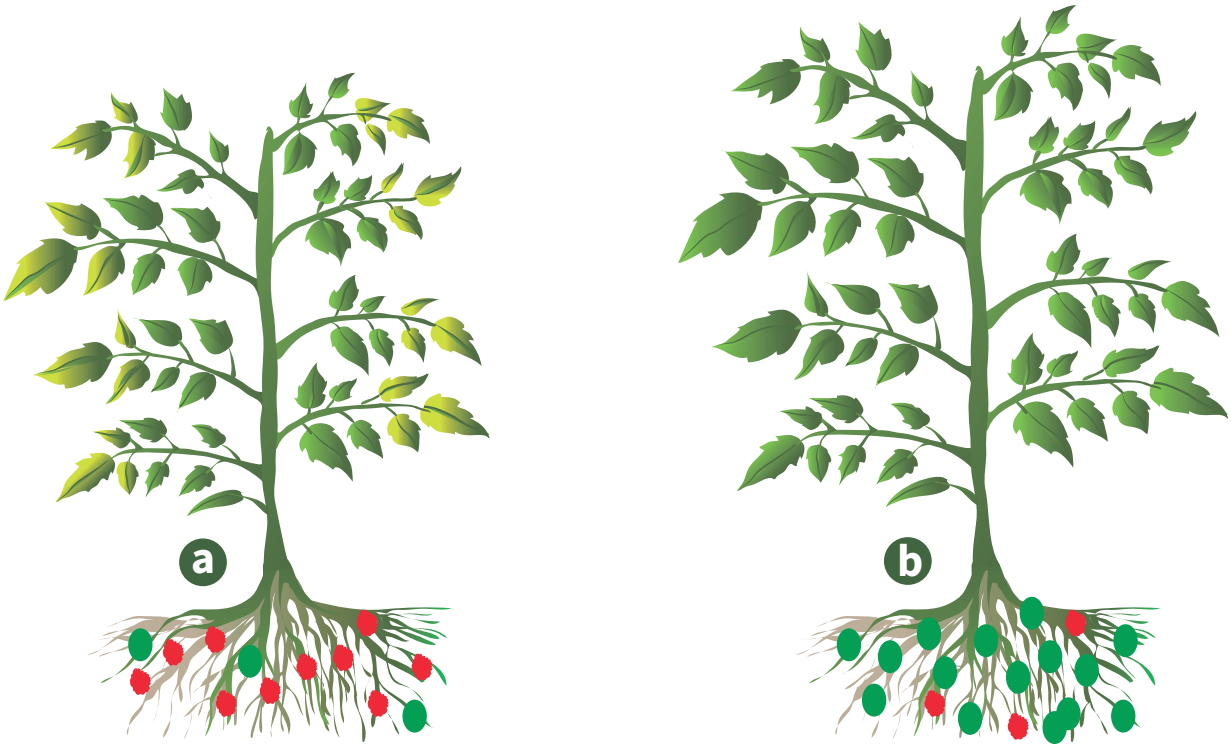


Figura 2.3. Efecto de la población microbiana sobre la salud de la planta. a. Planta con población mayoritaria de fitopatógenos ; b. Promoción de crecimiento y control de fitopatógenos en planta con población mayoritaria de biocontroladores .

Fuente: Elaboración propia

Principales biocontroladores y sus modos de acción

La investigación sobre agentes de biocontrol durante los últimos 40 años ha desencadenado una lista de bioproductos comerciales que se encuentra siempre en crecimiento. Sin embargo, la mayoría de ellos están fabricados a base de cepas de especies de los géneros *Trichoderma*, *Pseudomonas* y *Bacillus* (figura 2.4). Este último grupo es preferido como agente estimulador del crecimiento vegetal y como biocontrolador, debido a su capacidad de formar endosporas, las cuales brindan una alta sobrevivencia a los miembros de este género durante el proceso de formulación, aun en las condiciones ambientales desfavorables presentes en el ambiente de la rizosfera (Egamberdieva, 2016). Los modos de acción utilizados por *Bacillus* spp. para

promover el crecimiento vegetal incluyen la producción de fitohormonas, osmoprotectantes, solubilización y movilización de fosfatos, inhibición de la síntesis de etileno en la planta, antibiosis (figura 2.5) y competencia por nutrientes y espacio (Egamberdieva, 2016). Por su parte, *Trichoderma* spp. es conocido principalmente como un microorganismo benéfico y un agente de biocontrol útil en un amplio rango de aplicaciones, desde el recubrimiento de semillas hasta la poscosecha, desde el suelo hasta la filosfera, con base en una amplia gama de modos de acción (Lorito & Woo, 2015).

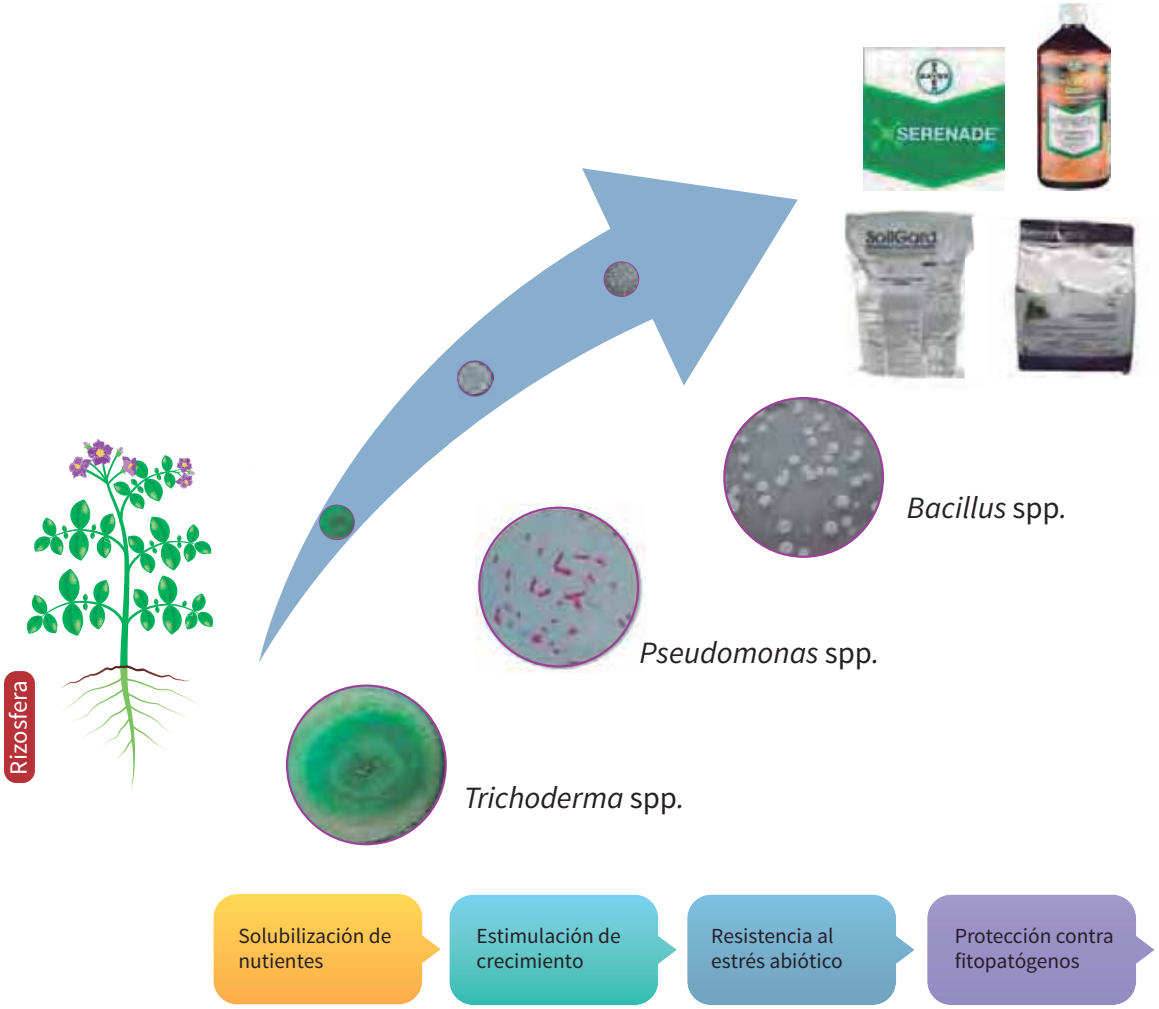


Figura 2.4. Principales grupos de microorganismos antagonistas aislados de la rizosfera que son el principio activo de la mayoría de los bioproductos registrados para el control de enfermedades.

Fuente: Elaboración propia

El uso de *Trichoderma* spp. ha causado un notable impacto en el sector agrícola mediante la expresión de sus propiedades principales, tales como una estable colonización de la raíz, el endofitismo, el micoparasitismo (figura 2.5), la competencia por nutrientes, la antibiosis y la inducción de resistencia en las plantas (Lorito & Woo, 2015). *Pseudomonas* spp., al igual que *Bacillus* spp. y *Trichoderma* spp., es un microorganismo cosmopolita en el suelo. Es una bacteria gramnegativa con alta capacidad de sobrevivencia en un amplio rango de ambientes y con gran versatilidad metabólica (Srivastava, Sinha, Vaishnavi, Kunwar, & Tigga, 2012). Entre las características que hacen de *Pseudomonas* spp. un buen candidato como agente de control biológico están el rápido crecimiento que presenta *in vitro* para su producción masiva; su eficiente utilización de los

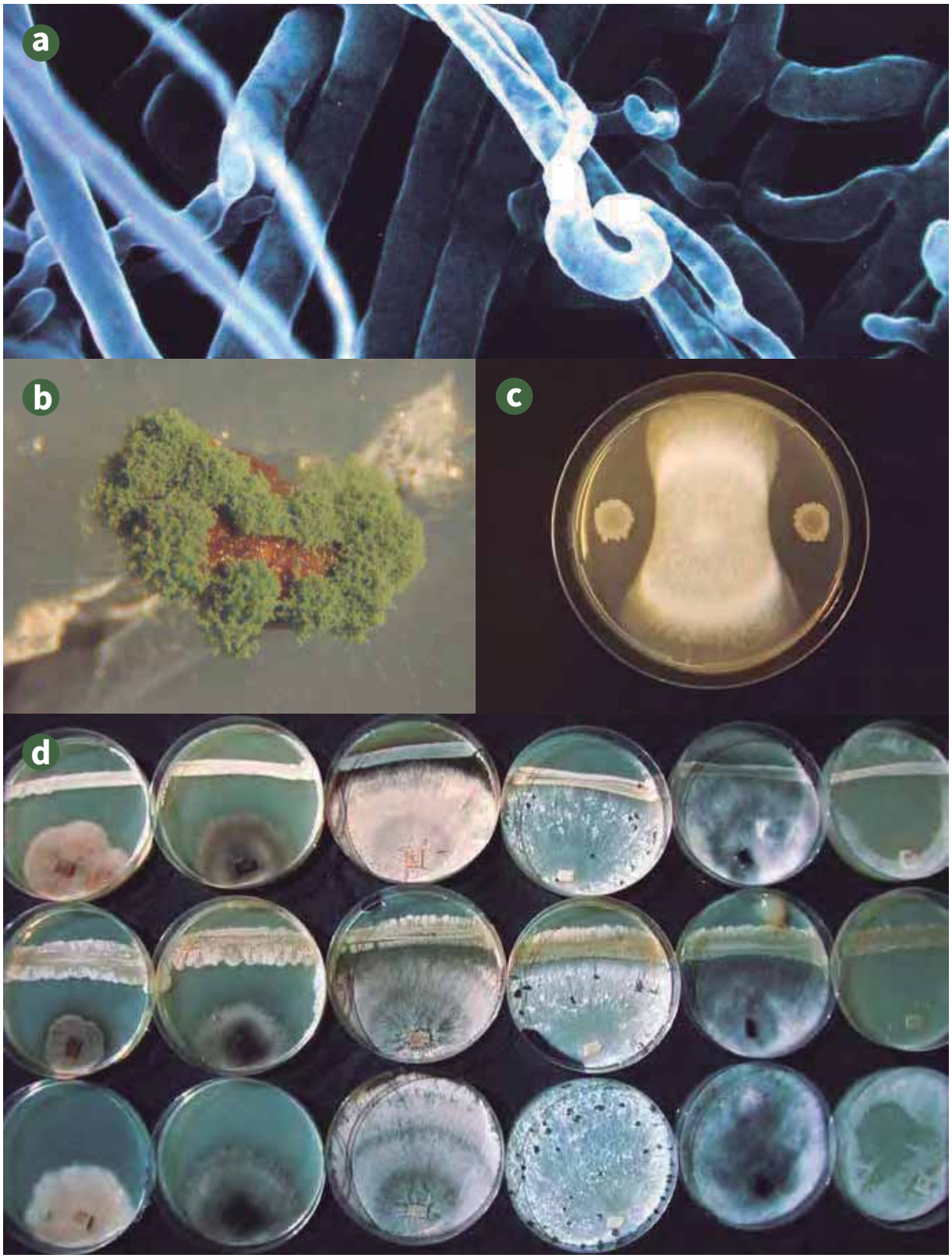


Foto: Camilo Beltrán, Carlos Andrés Moreno y Yigal Elad

Figura 2.5. Micoparasitismo y antibiosis. a. Hifas de hongo micoparásito enrolladas al micelio de *R. solani*; b. Micelio de *T. koningiopsis* Th003 (biomasa color verde) en crecimiento sobre esclerocios de *R. solani*; c. Efecto de antibiosis ejercido por el aislamiento nativo: *B. amyloliquefaciens* Bs006 sobre *F. oxysporum* f. sp. *physali* cepa Map5; d. Antibiosis contra diferentes hongos fitopatógenos.

exudados de las semillas y de las raíces de las plantas; su capacidad para colonizar la rizosfera, la espermosfera y la raíz de forma endofítica; la producción de un amplio número de metabolitos bioactivos (antibióticos, sideróforos, compuestos volátiles y promotores del crecimiento vegetal); y su capacidad de adaptación a condiciones de estrés (Weller, 2007).

Las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) también utilizan la producción de compuestos orgánicos volátiles (VOC) como un mecanismo de acción para prevenir el desarrollo de enfermedades en las plantas. De esta forma, reducen el crecimiento de los fitopatógenos directamente o actuando como inductores de resistencia sistémica en las plantas. Entre las especies de bacterias benéficas en las que se ha determinado la producción de VOC están *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Arthrobacter* y *Stenotrophomonas*. Los VOC sintetizados por *Bacillus* sp. más conocidos son acetoína y 2,3-butanediol (Ryu et al., 2003). La figura 2.6 resume los modos de acción utilizados por los agentes de control biológico en contra de los fitopatógenos del suelo.

Además de *Trichoderma* spp., *Bacillus* spp. y *Pseudomonas* spp., otros microorganismos reconocidos como agentes de control biológico de fitopatógenos de suelo son *Pythium oligandrum*, *Coniothyrium minitans* y *Sporidesmium sclerotivorum* (Fravel, 1999); así como cepas no patogénicas de *F. oxysporum* (Alabouvette,

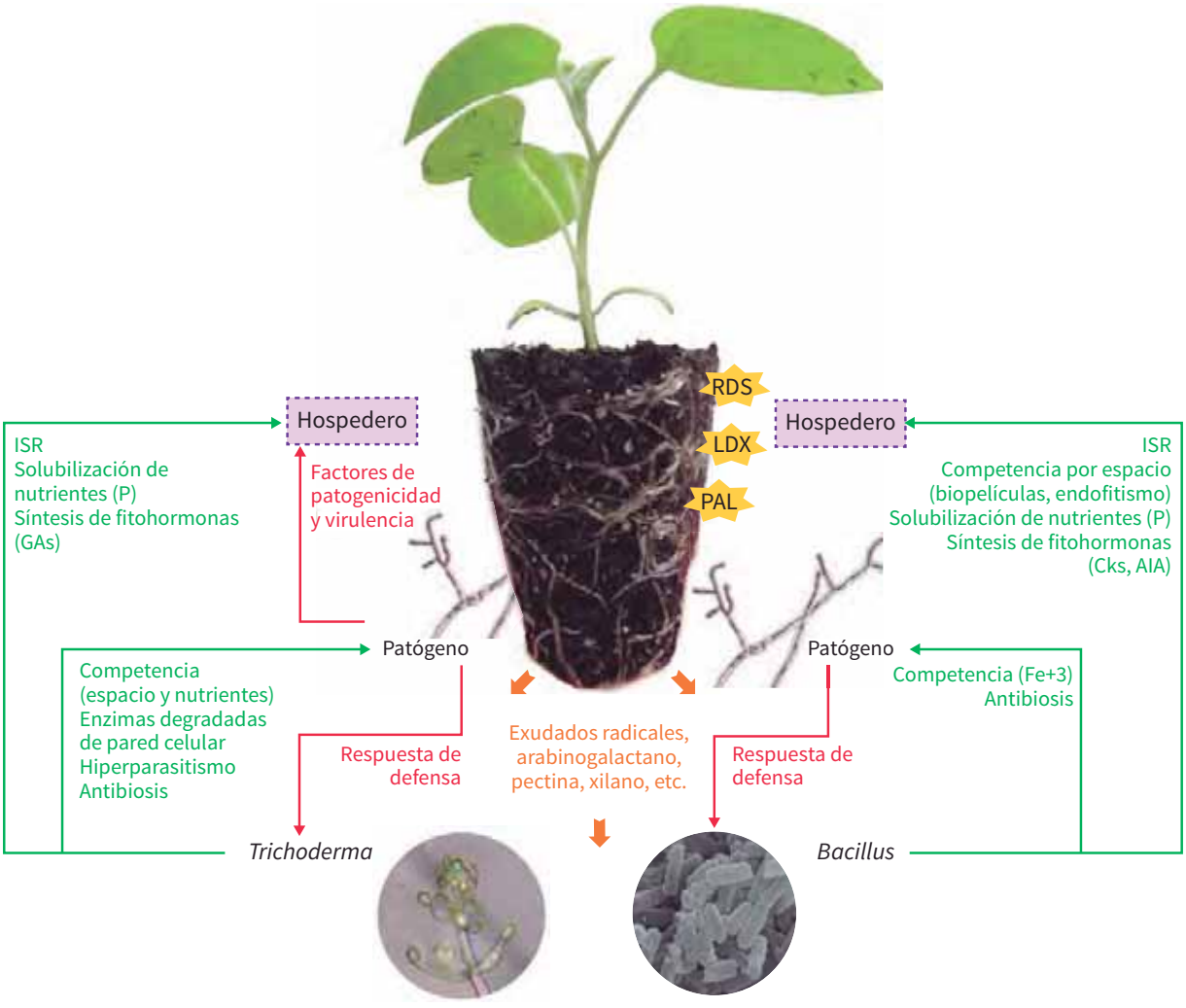


Figura 2.6. Modos de acción utilizados por agentes de control biológico contra fitopatógenos del suelo.

Fuente: Elaboración propia

Schippers, Lemanceau, & Bakker, 1998), *Talaromyces flavus*, *Pantoea agglomerans* (Sammer, Reiher, Spiteller, Wensing, & Völksch, 2012) y *Paenibacillus polymyxa* (Grady, MacDonald, Liu, Richman, & Yuan, 2016). Sobre la mayoría de estos se han desarrollado investigaciones, pero no hay muchos bioplaguicidas en el mercado, como en los casos de *Trichoderma* spp., *Bacillus* spp. y *Pseudomonas* spp. En el presente capítulo se muestran las características generales de *P. oligandrum* y *C. minitans* como representantes de la minoría de bioproductos y se profundiza en la información de los tres géneros representantes de la mayoría de dichos bioproductos.

La figura 2.6 muestra de forma simplificada cómo en un sistema de control biológico de fitopatógenos del suelo se presentan interacciones entre la planta hospedera, el fitopatógeno y el agente de biocontrol. Los exudados radicales se comportan como quimioatrayentes de microorganismos, tanto patógenos como benéficos. Las bacterias y los hongos biocontroladores —representados por *Trichoderma* y *Bacillus*, respectivamente— tienen la capacidad de afectar directamente a los fitopatógenos mediante varios modos de acción: parasitismo, en el cual la síntesis de enzimas degradadoras de pared celular tiene una alta importancia (es un rasgo más predominante en los hongos biocontroladores); antibiosis, mediante la biosíntesis y la liberación de compuestos con capacidad para matar a los fitopatógenos o para impedir su crecimiento (rasgo que es predominante en las bacterias biocontroladoras); y competencia por espacio y nutrientes, la cual se presenta tanto en hongos como en bacterias biocontroladoras.

A su vez, la colonización de la superficie de la raíz o el endofitismo por parte de los agentes de control biológico puede inducir respuestas locales o sistémicas (ISR) en las células del hospedero, como la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS), y la síntesis de enzimas como fenilalanina amonio liasa (PAL) y lipooxigenasa (LOX), entre otras que limitan el ingreso de las estructuras de los fitopatógenos a la planta. Varios agentes de control biológico también tienen la capacidad de promover el crecimiento vegetal a través de la solubilización de nutrientes (lo cual los hace disponibles para las plantas) y la síntesis de fitohormonas como citoquininas (CK), ácido indolacético (AIA) y giberelinas (GA), entre las más comunes. Por su parte, el patógeno despliega sus estrategias para superar las barreras de defensa del hospedero y también está en capacidad de responder al ataque de los agentes de control biológico.

Coniothyrium minitans

C. minitans es un hongo antagonista reconocido por su actividad biocontroladora de la enfermedad del moho blanco, causada por *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotinia minor* y *Sclerotinia trifoliorum*, en cultivos susceptibles (como lechuga, fríjol, canola, pepinos, gerbera, crisantemo, girasol, espárrago, repollo, zanahoria, apio, garbanzo, lenteja, guisante, pimentón, papa, tomate y sandía). Las esporas de *C. minitans* germinan en el suelo húmedo y actúan parasitando los esclerocios de *Sclerotinia* spp. presentes en suelo, reduciendo el número de esclerocios viables y controlando el crecimiento vegetativo del patógeno. *C. minitans* forma picnidios y conidios sobre los esclerocios de los patógenos para multiplicarse y dispersarse (Whipps & Gerlagh, 1992; Zeng et al., 2012). Este agente de control biológico también es usado sobre los residuos de cosecha para disminuir la contaminación del suelo cuando se rompe el ciclo del patógeno.

La cepa CON/M/91-08 ha sido un modelo de investigación en el género y es el principio activo del bioproducto Contans® WG. La actividad micoparasítica de *C. minitans* es ejercida a través de la producción de enzimas extracelulares que degradan la pared celular primaria, como la quitinasa (codificada por el gen *CH1*) y la β-1-3 glucanasa (codificada por *Cmg1*) (Giczey, Kerényi, Fülöp, & Hornok, 2001; Whipps, Hand, Pink, & Bending, 2008). Un segundo modo de acción utilizado por *C. minitans* es la antibiosis a través de un compuesto macrólido denominado *macrosphelido A*, al cual se le ha atribuido la inhibición del crecimiento de *S. sclerotiorum* y *S. cepivorum* (McQuilken, Gemmell, Hill, & Whipps, 2003). *C. minitans* también produce oxalato decarboxilasa (codificado por *Cmoxdc1*), el cual degrada el ácido oxálico, factor de virulencia de *S. sclerotiorum* y micotoxina con potencial efecto negativo sobre las plantas y sobre microorganismos, incluyendo los agentes de control biológico (Zeng et al., 2014). La proteína MAP-quinasa, codificada por *CmBCK1* y *CmSlt2* en *C. minitans*, también juega un papel importante en la conidiación y en el parasitismo (Wei et al., 2016; Zeng et al., 2012).

En evaluaciones *in vitro*, se determinó inhibición del crecimiento de *Aspergillus citricus*, *Penicillium* spp., *Botrytis cinerea*, *Phytophthora nicotianae*, *Pythium ultimum* y *Staphylococcus aureus*, por seis aislamientos de C. *minitans*, incluido el principio activo de Contans®. Este efecto inhibitorio se debió a la producción del compuesto macrosphelido A, lo cual indicó el amplio espectro de la actividad antibiótica de este metabolito (Tomprefa, Hill, Whipps, & McQuilken, 2011; Tomprefa, McQuilken, Hill, & Whipps, 2009). La producción de conidios de este hongo no es muy eficiente, por lo que las investigaciones para aumentar la producción de conidios de C. *minitans* mejoraría aún más su potencial como agente de control biológico. Por esto, es clave comprender las vías de señalización que modulan su conidiación, como la actividad de sintasa de óxido nítrico (NOS) —que está relacionada con el desarrollo de las esporas asexuales (Gong et al., 2007)— y los niveles de guanosín monofosfato cíclico (cGMP) —que es mensajero en la señalización (Li et al., 2010)—. El conocimiento de la regulación de los procesos de conidiación y de parasitismo de C. *minitans* puede facilitar su manipulación como agente biocontrolador para usos comerciales (Zeng et al., 2012).

Pythium oligandrum

P. oligandrum es un oomiceto hiperparásito con fuerte capacidad de competencia contra hongos fitopatógenos como *S. sclerotiorum*, *Leptosphaeria maculans*, *P. infestans*, *R. solani* y *Fusarium* spp., que activa mecanismos de defensa en la planta hospedera y estimula en ella el crecimiento vegetal. *P. oligandrum* es un colonizador de la rizosfera de muchas especies de plantas cultivadas y un buen competidor por espacio y nutrientes. Tiene una especial relación con la planta hospedera, porque coloniza la superficie de la raíz y puede ingresar de forma restringida hasta las primeras capas de las células corticales sin hacer daño, pero su tiempo de vida allí es de cerca de 12 h (Gerbore et al., 2014). Su capacidad micoparasítica está basada en una batería de enzimas líticas (quitinasas, β-1,3 glucanasas y celulasas) que desempeñan un papel clave al causar la liberación de oligosacáridos de la pared celular de hongos fitopatógenos del suelo, incluyendo ascomicetos (Benhamou et al., 1997; Bradshaw-Smith et al., 1991), basidiomicetos (Ikeda et al., 2012), oomicetos patógenos estrechamente relacionados (Benhamou et al., 1999) y estructuras de reposo o esclerocios, muy comunes en varios fitopatógenos del suelo (Rey et al., 2008).

Este antagonista también produce compuestos antimicrobianos y es promotor del crecimiento vegetal a través de la producción putativa de triptamina (TNH2), un precursor de auxinas (Le Floch et al., 2003; Mohamed et al., 2007; Takenaka et al., 2008). La resistencia en la planta inducida por *P. oligandrum* está mediada por al menos dos patrones moleculares asociados a microorganismos (MAMP) similares a la elicitina. El primero, oligandrina, estimula las vías fenilpropanoides y terpenoides que conducen a una mayor acumulación de compuestos fenólicos, los cuales pueden afectar la viabilidad de las células de los fitopatógenos (Picard et al., 2000). El segundo patrón se refiere a las glucoproteínas de la pared celular (CWP) denominadas POD-1 y POD-2 (Takenaka et al., 2006), que parecen estar estrechamente involucradas en los pasos que preceden a la activación de la vía del ácido jasmónico, a la señalización dependiente del etileno y a la posterior inducción de resistencia local y sistémica (Benhamou et al., 2012).

Otra especie micoparasítica no fitopatógena del género *Pythium* es *Pythium nunn* (Lifshitz et al., 1984b), cuya actividad micoparasítica se ha evidenciado en el microscopio: *P. nunn* enrolla y rompe las hifas de *P. ultimum* y *Pythium vexans*, y parasita las hifas de *Rhizoctonia solani*, *Pythium aphanidermatum*, *Phytophthora parasitica* y *Phytophthora cinnamomi* para formar apresorios. Esto sugiere que presenta modos de acción diferenciales según la susceptibilidad del patógeno objetivo (Lifshitz et al., 1984a).

P. mycoparasiticum (Foley & Deacon, 1985) y *Pythium acantophoron*, aislados de la rizosfera de jengibre en India, micoparasitaron las hifas del hospedero enrollándolo, desarrollaron abundantes oogonios en la zona de interacción y penetraron las hifas de *Fusarium solani* y *Pythium myriotylum*, patógenos causantes de la pudrición del rizoma de jengibre (Lodha & Webster, 1990). *P. lycopersicum*, aislado de suelos de cultivo de tomate en Turquía, también muestra antagonismo mediante la inhibición del crecimiento y la esporulación de *Botrytis cinerea* (Karaca et al., 2008).

Todas las especies benéficas de *Pythium* identificadas son consideradas potenciales agentes de control biológico, debido a su agresividad hacia una amplia gama de fitopatógenos del suelo. *P. oligandrum* también ha sido un modelo de estudio en el control biológico de *Verticillium* spp., uno de los patógenos de mayor importancia económica mundial, por lo cual incluimos, abajo, una breve descripción de este fitopatógeno.

Bacillus spp.

Bacillus es un género cosmopolita en el suelo, y constituye uno de los principales grupos de microorganismos benéficos utilizados contra enfermedades causadas por fitopatógenos del suelo (Pérez-García et al., 2011; Weller, 1988). Con excepción de algunas especies patogénicas (B. *cereus* y *B. anthracis*), el género *Bacillus* incluye especies con propiedades generalmente reconocidas como seguras o con calificación de presuntamente seguras (GRAS/QPS, por su sigla en inglés) (Monaci et al., 2016).

En los años recientes se ha incrementado la aplicación comercial de PGPR en agricultura, para aumentar el rendimiento de algunos cultivos y para reducir el uso de agroquímicos. Cerca del 75 % de los productos comerciales hechos a base de microorganismos están formulados con bacterias (Lazarovits et al., 2014), de las cuales se usan varias especies del género *Bacillus* spp. debido a su capacidad para formar endosporas. Estas últimas les brindan ventajas para resistir condiciones de exposición a compuestos químicos, radiación, desecación y déficit nutricional (Emmert & Handelsman, 2006; Ongena & Jacques, 2008; Weller, 1988). De hecho, el primer producto a base de *B. subtilis*, Alinit, fue comercializado en 1897 como fertilizante bacteriano para cereales (Borriss, 2011).

Especialmente, miembros del complejo de especies del grupo *B. subtilis* —tales como *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. licheniformis* y *B. pumilus*— han probado ser eficientes en la promoción del crecimiento vegetal y en el control biológico de fitopatógenos (Borriss, 2015). Los miembros de este complejo de especies de *Bacillus* producen un amplio rango de compuestos bioactivos, entre los cuales, los lipopéptidos cíclicos (CLP) de las

Verticillium sp.

Verticillium es un hongo del suelo, patógeno de numerosos cultivos —como el algodón, la papa, hortalizas, frutas y plantas ornamentales— y causante de la marchitez vascular de las plantas (Klosterman et al., 2009; Malamud, 1989). La especie más reconocida de este género es *Verticillium dahliae*, la cual es capaz de sobrevivir a condiciones adversas del ambiente, debido a la producción de microesclerocios, que le permiten mantenerse viable en el suelo por varios años a la espera de un hospedero (Inderbitzin et al., 2011). Estas estructuras pueden germinar formando micelio, y este, a su vez, genera los conidios, que son el inóculo más importante para infectar las plantas con facilidad. El hongo avanza a través de la epidermis, el córtex y la endodermis hasta alcanzar el xilema. De allí, sigue siendo transportado a lo largo del tallo, mientras produce más conidios, hasta llegar a obstruir por completo el sistema vascular.

En el caso de la papa, *Verticillium* puede ocasionar marchitez unilateral con o sin amarillamiento. En estos casos, los tallos pueden verse de color negro debido a la producción de microesclerocios y el tamaño de los tubérculos puede verse disminuido como consecuencia de la muerte temprana de las plantas (Torres, 2002). Para el control del marchitamiento causado por *Verticillium* se han utilizado tratamientos químicos con bromuro de metilo (Watson et al., 1992), sin embargo, su uso fue relevado debido al impacto negativo en la salud de los seres humanos y el medioambiente. Otros ingredientes activos comúnmente empleados en el control de *Verticillium* en plantas de pimienta (benomil, carbendazim y metiltiofanato) no mostraron efectos satisfactorios debido a la generación de resistencia. Por lo anterior, el control biológico con *P. oligandrum* ha sido una alternativa satisfactoria (Al-Rawahi & Hancock, 1998; Kratka et al., 1994).

familias de surfactinas, iturinas y fengicinas (figura 2.7) son reconocidos por su potencial uso en biotecnología y biofarmacia (Banat et al., 2000; Cochrane & Vederas, 2016; Singh & Cameotra, 2004). Además de las propiedades antimicrobianas de estos compuestos, también se ha demostrado que están involucrados en el proceso de colonización y en la motilidad de *Bacillus*, así como en la estimulación sistémica de respuestas de defensa de las plantas (Ongena et al., 2009). La importancia de las surfactinas radica, por ejemplo, en su papel como inductores de respuestas de defensa sistémica (Cawoy et al., 2013; Pertot et al., 2013) y su aparente participación como moléculas de señalización en los procesos de colonización de *Bacillus* (Bais et al., 2004). Las fengicinas e iturinas, por su parte, están relacionadas con los efectos directos sobre los hongos fitopatógenos (Cawoy et al., 2015; Malfanova et al., 2012).

Importancia de los lipopéptidos cíclicos de *Bacillus* spp. en el control biológico

Los lipopéptidos cíclicos (CLP) son metabolitos secundarios anfifílicos que consisten en un anillo peptídico hidrofílico compuesto de siete (iturinas y surfactinas) o diez (fengicinas) aminoácidos unido a una molécula ácido-graso hidrofóbica de tipo β-hidroxi (fengicinas y surfactinas) o β-amino (iturinas) (figura 2.7). Cada familia de lipopéptidos se ha subdividido en grupos con base en la composición de aminoácidos, y dentro de cada grupo existen moléculas homólogas, las cuales se diferencian en el número de carbonos, la ramificación y la saturación de la cola lipídica (Malfanova et al., 2012; Ongena & Jacques, 2008). De esta manera, la longitud de la cadena lipídica puede variar desde C_{13} a C_{16} (surfactinas), C_{14} a C_{17} (iturinas) y C_{14} a C_{18} (fengicinas) (Akpa et al., 2001).

Estas últimas son las principales características que hacen atractivo a este género como agente de control biológico. Sin embargo, su eficacia variable, debida en parte a la brecha en el conocimiento de los factores bióticos y abióticos que afectan su desempeño en el sitio de aplicación, ha limitado el uso de las formulaciones. Otro problema que dificulta el uso de bioplaguicidas es el alto costo de registro y el largo tiempo que dura dicho proceso. Esta situación es más crítica en Europa, donde la evaluación de dosieres tarda más de 70 meses —comparado con 23 meses en Estados Unidos (Borriss, 2011)—, debido principalmente a que el sistema de regulación para bioplaguicidas está basado en el modelo usado para los plaguicidas químicos (Chandler et al., 2011).

En Suramérica, el proceso de registro también encuentra dificultades, dado que en algunos países como Argentina, Brasil y Chile no existía una regulación específica para el registro de bioplaguicidas, razón por la cual estos también tenían que someterse a los procedimientos necesarios para el registro de plaguicidas químicos (Cotes, 2011); solo en los últimos años se han desarrollado procedimientos adecuados para bioplaguicidas. En esta región, Colombia ha sido un país pionero, ya que tiene una tradición de vieja data en su regulación específica para el registro, autorización de venta y control técnico de bioplaguicidas, lo cual ha facilitado el registro de muchos productos. Por ejemplo, cuando el microorganismo propuesto pertenece a una especie reconocida como agente de control biológico, se requieren solamente estudios de toxicidad aguda (Cotes, 2011).

Debido a su naturaleza anfifílica, los CLP pueden asociarse fácilmente y anclarse firmemente a bicapas lipídicas (Bonmatin et al., 2003; Carrillo et al., 2003), lo que les permite interactuar con las membranas de células vegetales e inducir respuestas de defensa sistémica en las plantas (Jourdan et al., 2009), así como interactuar con la membrana de los hongos y causar desestabilización celular (Bonmatin et al., 2003; Han et al., 2015; Zhang et al., 2013). Los CLP sintetizados por *Bacillus* spp. pueden interferir en la integridad de las membranas celulares de acuerdo con la dosis, pero la susceptibilidad de las membranas varía de manera específica, lo cual explica que cada familia de CLP afecte blancos distintos.

Las surfactinas, por ejemplo, son conocidas principalmente por poseer actividad hemolítica, antiviral, antimicoplasma y antibacterial, pero curiosamente no tienen una actividad fungitóxica típica. Por su parte, las iturinas tienen una fuerte actividad hemolítica y antifúngica, una limitada actividad antibacterial y ninguna actividad antiviral. Finalmente, las fengicinas poseen menor actividad hemolítica que las iturinas y las surfactinas, pero han mostrado una fuerte actividad antifúngica, especialmente, sobre hongos filamentosos (Ongena et al., 2009).

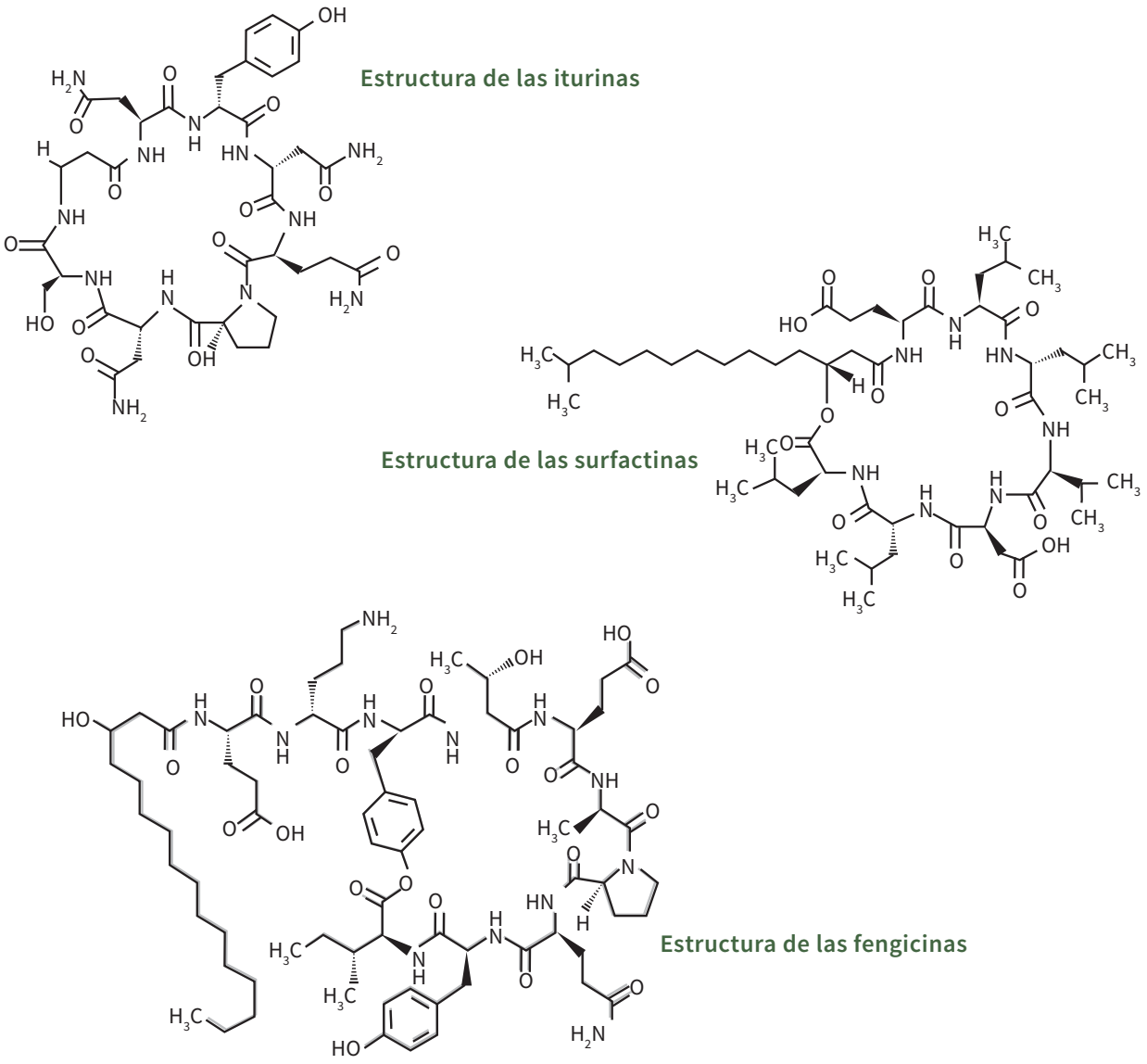


Figura 2.7. Estructuras químicas de compuestos representativos y diversidad de compuestos homólogos de las tres principales familias de lipopéptidos cíclicos sintetizados por *Bacillus subtilis* y *B. amyloliquefaciens*.

Fuente: Adaptada de Mongkolthanaruk (2012)

Estos hallazgos coinciden con un estudio reciente realizado por Moreno-Velandia (2017), en el cual se demostró que una mezcla de compuestos homólogos de fengicinas tuvo efectos fungistáticos (reducción de la germinación de microconidios) y fungicidas (hinchamiento, poros en la membrana y lisis de microconidios y de hifas) sobre *F. oxysporum* (figura 2.8). Por su parte, las iturinas tuvieron un efecto fungistático y las iturinas no afectaron el desarrollo del hongo.

Entre los mecanismos de acción de los péptidos antibióticos con actividad antifúngica, se encuentra el cambio de permeabilidad de la membrana celular mediante la inhibición de la síntesis de esteroles y la destrucción de la pared celular (Yeaman & Yount, 2003). En general, se conoce que los CLP de las familias de las iturinas, surfactinas y fengicinas son reconocidos por su capacidad para permeabilizar la membrana celular y formar poros (Inès & Dhouha,

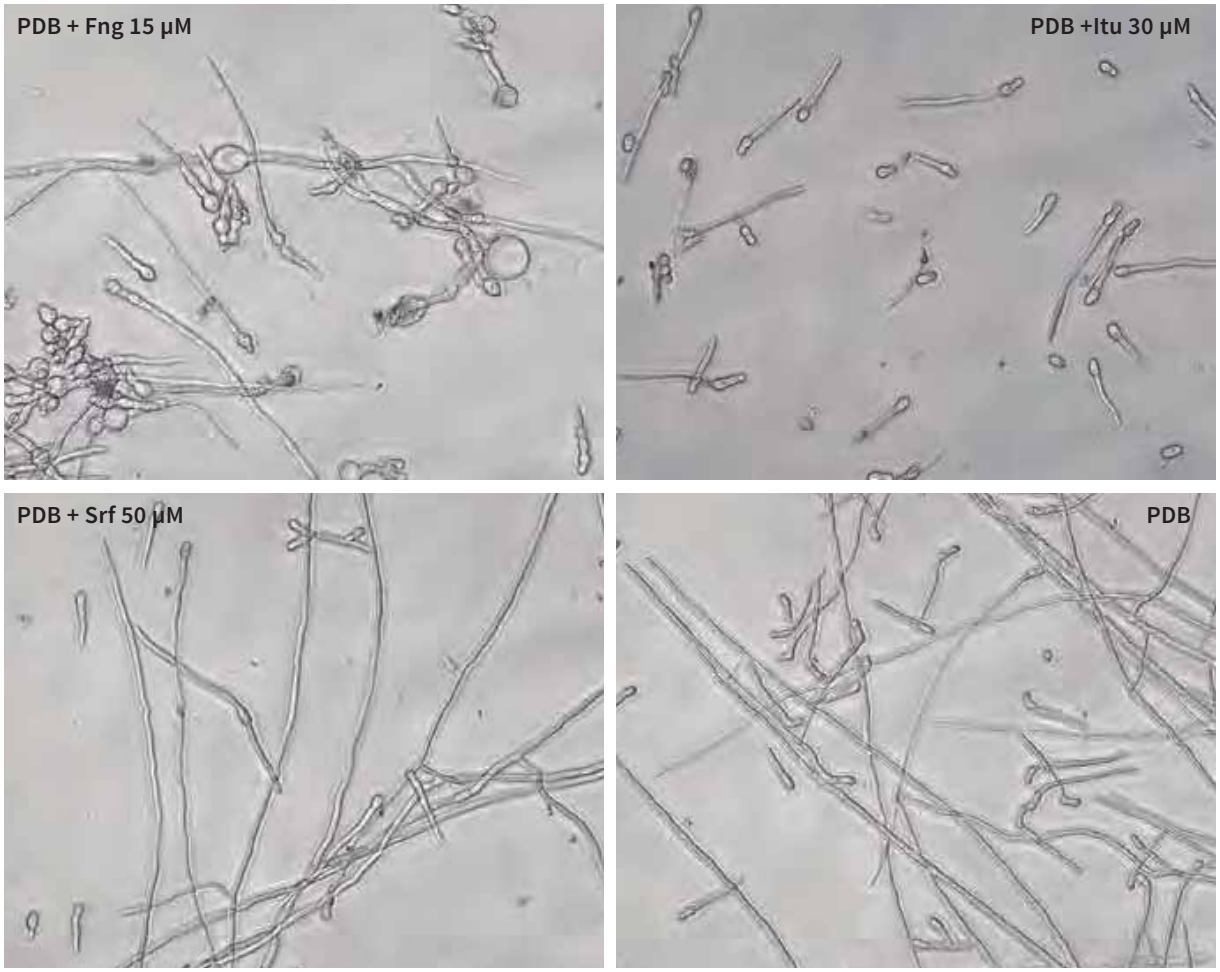


Figura 2.8. Efecto de la mezcla de compuestos homólogos de fengicinas (Fng), iturinas (Itu) y surfactinas (Srf) sobre el desarrollo de *F. oxysporum* Map5, 24 h después de incubación (oscuridad, 30 °C, 125 rpm). Los compuestos se extrajeron del cultivo líquido de *B. amyloliquefaciens* S499 y fueron adicionados al medio de cultivo caldo papa-dextrosa (PDB) en diferente concentración (µM). El medio PDB fue uno de los controles del experimento.

Fuente: Adaptada de Moreno-Velandia (2017)

2015). Particularmente, la actividad antifúngica de las iturinas está relacionada con su interacción con la membrana citoplasmática de las células blanco. Los compuestos activos de iturinas interactúan fuertemente con esteroles de la membrana, formando complejos lipopéptido/esterol en la membrana fosfolipídica (Maget-Dana & Peypoux, 1994). Dicha interacción provoca la permeabilidad de iones de K^+, la formación de pequeñas vesículas y la agregación de componentes de membrana, lo cual puede desencadenar la pérdida de electrolitos y productos de alto peso molecular del citoplasma, la degradación de los fosfolípidos y la ruptura de la membrana celular (Kumar & Johri, 2012).

La citada capacidad para formar poros depende tanto de la composición de los lípidos de la membrana como de la estructura del anillo peptídico del lipopéptido (Maget-Dana & Peypoux, 1994). Así mismo, la lisis de la pared celular provocada por las iturinas puede ocurrir de forma dependiente de la concentración de este LP (Chitarra et al., 2003; Kumar et al., 2012). En el mismo sentido, para el caso de las surfactinas, se ha demostrado que en bajas concentraciones estas

se insertan en la capa exterior de la membrana e inducen una perturbación limitada. Concentraciones intermedias inducen permeabilización transitoria de la membrana, pero dosis altas causan formación irreversible de poros y ruptura de la bicapa lipídica (Carrillo et al., 2003). En el caso de las fengicinas, se conoce que forman agregados en las membranas según la composición y concentración de lípidos (Patel et al., 2011), conforme a lo cual llegan a provocar hinchamiento, ondulamiento y lisis celular en los hongos (Li et al., 2007; Romero et al., 2007; Torres et al., 2016; Vanittanakom et al., 1986).

La variación en el contenido de ergosterol en la membrana citoplasmática de los hongos puede afectar la interacción con los CLP. Por ejemplo, la baja actividad de iturina A sobre *Rhizopus* sp. se le atribuye al bajo contenido de ergosterol en la membrana, mientras que su actividad sobre *Penicillium roqueforti* causa lisis celular, permeabilidad de la membrana e inhibición de la germinación de las esporas (Chitarra et al., 2003). Así mismo, se ha demostrado que el colesterol puede contrarrestar el efecto desestabilizante de las surfactinas (Carrillo et al., 2003) y varios tipos de esteroles (incluso el ergosterol), y puede limitar la actividad fungicida de las fengicinas dependiendo de su contenido en la membrana (Vanittanakom et al., 1986; Wise et al., 2014).

Durante la interacción con las células vegetales, las surfactinas producidas por *B. amyloliquefaciens* constituyen patrones moleculares que son reconocidos por receptores de la membrana celular vegetal y que conducen, así, a la activación de la primera línea de defensa de las plantas (PTI), la cual puede extenderse a todos los órganos de la planta (ISR) (Henry et al., 2011). Los eventos iniciales asociados con las respuestas de defensa de la planta, después del reconocimiento de las surfactinas, comprenden la alcalinización del medio externo debido a la salida de iones (K^+, NO_3-, Cl^-) desde el citoplasma; la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS); la estimulación de la actividad de la enzima fenil alanina amonio liasa (PAL); la acumulación de compuestos fenólicos; y la estimulación de la actividad lipoxigenasa (LOX) (Jourdan et al., 2009). Sin embargo, las altas concentraciones de surfactinas en interacción con las células vegetales pueden provocar muerte celular (Jourdan et al., 2009), lo cual —aunque fue considerado de menor importancia por estos mismos autores— podría tener un significado durante el proceso de infección de patógenos necrótrofos.

A su vez, las investigaciones para descifrar el diálogo molecular entre *B. amyloliquefaciens* y la planta han revelado que la secreción de surfactinas tiene lugar durante las primeras horas de interacción entre la bacteria y la raíz, como resultado de la percepción de polisacáridos presentes en la pared celular de esta última por parte de la bacteria (Debois et al., 2015). Adicionalmente, la acumulación de surfactinas producidas por *B. amyloliquefaciens* en la superficie de la raíz se ve favorecida por los exudados radicales (Nihorimbere et al., 2012), lo que explica que estas sean el principal CLP detectado en el antibioma de *B. amyloliquefaciens* en la superficie de la raíz (Debois et al., 2015).

La colonización de la raíz es un paso importante tanto para el proceso de infección de fitopatógenos de suelo como para el establecimiento de asociaciones benéficas con microorganismos (Bais et al., 2006). Dicho proceso de colonización es coordinado por los nutrientes contenidos en los exudados radicales, hacia los que se ven atraídos los microorganismos (Hartmann et al., 2008). Durante la colonización de la superficie de las raíces, las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) pueden formar biopelículas (Lugtenberg, 2015), para lo cual se ha demostrado que la participación de lipopéptidos es indispensable (Bais et al., 2004). Otros trabajos han demostrado que los nutrientes disponibles en los exudados radicales —principalmente ácidos orgánicos, azúcares y aminoácidos (Kamilova et al., 2006)— sustentan el crecimiento de especies de *Bacillus* e influencian el patrón de producción de lipopéptidos en cantidades biológicamente relevantes (Cawoy et al., 2013; Debois et al., 2014; Nihorimbere et al., 2012).

No obstante, la producción de CLP ha mostrado ser muy baja en la rizosfera, en comparación con lo que ocurre en condiciones de laboratorio (Nihorimbere et al., 2012), y no refleja el potencial genético del antagonista dirigido a la síntesis de estos compuestos (Debois et al., 2014). Por lo tanto, el conocimiento de la capacidad de producción de CLP *in planta* tiene alta relevancia en el contexto del control biológico, debido

a que cada familia de CLP tiene funciones biológicas y mecanismos de acción específicos en el control de fitopatógenos (Raaijmakers et al., 2010).

La participación de cada familia de CLP en la inhibición de fitopatógenos de importancia agronómica mediante pruebas *in vitro* de enfrentamiento dual ha sido bastante documentada. Algunos trabajos han contribuido a ampliar el conocimiento sobre la capacidad que tienen algunas cepas de *B. amyloliquefaciens* para colonizar la raíz de algunas especies de plantas y producir compuestos bioactivos como los CLP sobre las raíces (Debois et al., 2015; Debois et al., 2014; Nihorimbere et al., 2012). No obstante, los análisis de los CLP realizados hasta hoy se han llevado a cabo durante la interacción PGPR-planta principalmente, pero no durante la interacción PGPR-planta-patógeno. Así mismo, en este modelo *in vitro* de enfrentamiento PGPR-patógeno, se ha demostrado que el perfil de CLP producido durante la interacción puede variar de acuerdo con el microorganismo blanco (Cawoy et al., 2013).

En el trabajo de Moreno-Velandia (2017) se demostró el alto potencial que tiene la cepa nativa de *B. amyloliquefaciens* Bs006 para colonizar las raíces de la planta de uchuva (*Physalis peruviana*) (figura 2.9). Durante el proceso de colonización, Bs006 produjo compuestos homólogos de las tres familias de CLP (iturinas, fengicinas y surfactinas) (figura 2.9), las cuales probablemente estuvieron involucradas en la inhibición de la colonización del fitopatógeno *F. oxysporum* hacia las raíces de la planta (figura 2.9). Sin embargo, las interacciones multitróficas que ocurren en la rizosfera entre fitopatógenos, PGPR y las plantas son complejas y, en general, todavía pobremente entendidas.

Investigaciones recientes *in planta* demostraron que la cantidad de compuestos antimicrobianos producidos por *B. amyloliquefaciens* FZB42 en la rizosfera es relativamente baja, por lo que su papel como responsables de la acción directa sobre los fitopatógenos en condiciones reales está en duda. Por lo anterior, se ha sugerido una nueva hipótesis sobre el papel principal de este tipo de compuestos como inductores de resistencia en el hospedero, más que como responsables directos de actuar contra los fitopatógenos (Chowdhury et al., 2015).

Trichoderma spp.

El género *Trichoderma* (Ascomycota, Pezizomycotina, Sordariomycetes, Hypocreales, Hypocreaceae) (Teleomorfo: *Hypocrea*) presenta alta adaptabilidad a diferentes condiciones ecológicas y ambientales. Las especies de este género tienen diversos estilos de vida, son usuales habitantes del suelo y crecen saprofíticamente en la madera, la corteza y otros sustratos, especialmente, en aquellos que contienen materia orgánica o residuos vegetales en descomposición (Friedl & Druzhinina, 2012; Zeilinger et al., 2016). Además, presenta una notable diversificación genética, atribuida al hábito micoparasítico y de competencia por recursos de muchas de sus especies (Chaverri & Samuels Gary, 2013; Druzhinina et al., 2011; Jaklitsch, 2011; Kubicek et al., 2011); cuenta con al menos 250 de ellas identificadas, ampliamente distribuidas (Atanasova et al., 2013; Degenkolb et al., 2015; Hermosa et al., 2014). La correcta identificación de una cepa promisoria de *Trichoderma* que presenta ciertas características deseables es muy importante, porque algunos de los beneficios y rasgos fisiológicos, ecológicos y modos de acción son específicos de las especies o de una cepa en particular para desarrollar todo su potencial en un producto comercial exitoso (Atanasova et al., 2013).

Las especies del género *Trichoderma* son reconocidas como excelentes agentes de control biológico ampliamente utilizados en la agricultura (Romão-Dumaresq et al., 2012). Poseen varios modos de acción contra hongos fitopatógenos de diferentes grupos taxonómicos, oomicetos y bacterias fitopatógenas; incluso, se han reportado como parásitos de nematodos (Sharon et al., 2001; Szabó et al., 2012). Se estima que las especies del género pueden sintetizar más de 1.000 metabolitos secundarios dependiendo de la cepa y de las condiciones ambientales (Hermosa et al., 2014). La capacidad de síntesis de los metabolitos secundarios de *Trichoderma* pudo haber evolucionado para la comunicación con otros microorganismos, en la interacción con las raíces de las plantas en la rizosfera o en la defensa contra otros microorganismos (Brakhage & Schroeckh, 2011; Chiang et al., 2011; Mukherjee et al., 2012). El estilo de vida micoparasítico, particularmente de *Trichoderma atroviride (Hypocrea atroviridis)* y *Trichoderma virens*

(antes *Gliocladium virens*) (*Hypocrea virens*), presenta una alta variedad de metabolitos en el ataque y el control contra fitopatógenos, comparado con los de *Trichoderma reesei* (*Hypocrea jecorina*) —considerado un débil micoparásito, con menos diversidad de metabolitos secundarios, pero con buena capacidad de degradación de biomasa— (Kubicek et al., 2011).

La producción de metabolitos secundarios influye en su actividad de antibiosis mediante la producción de diversos compuestos antimicrobianos (Di Pietro et al., 1993; Howell, 2003; Howell & Puckhaber, 2005; Romão-Dumaresq et al., 2012; Vinale et al., 2008; Whilhite et al., 1994), en su actividad micoparasítica (producción de enzimas degradadoras de la pared celular de otros hongos) (Lorito et al., 1996; Reithner et al., 2011; Viterbo & Horwitz, 2010) e incluso en sus propiedades herbicidas (Hutchinson, 1999; Javaid & Ali, 2011).

De acuerdo con la variabilidad de las estructuras de las moléculas identificadas, estos metabolitos se agrupan en dos tipos principales (Reino et al., 2008; Sivasithamparam & Ghisalberti, 1998; Szekeres et al., 2005). Moléculas tipo 1: de bajo peso molecular y metabolitos volátiles (butenólidos, terpenos e isocianuros), incluidos los compuestos aromáticos simples, algunos policétidos (como pirógenos y butenólidos), terpenos volátiles y metabolitos de isociano —todos los cuales son sustancias relativamente no polares—. Moléculas tipo 2: metabolitos polares de alto peso molecular, como peptaiboles (polipéptidos no ribosomales) y dicetopiperazina; y los compuestos gliotoxina y gliovirina, que pueden ocasionar un efecto directo sobre los fitopatógenos blanco (Hermosa et al., 2014).

Varias especies de *Trichoderma* inducen respuestas de defensa en las plantas, de forma que estas pueden contrarrestar las infecciones de los fitopatógenos (Hanson & Howell, 2004; Harman et al., 2004; Luo et al., 2010; Yedidia et al., 2003). Otro modo de acción conocido en varios miembros de este grupo de agentes de control biológico es la exclusión de nicho, a través de la competencia con los fitopatógenos por los nutrientes y por sitios de infección (Bae et al., 2010). Varias especies de *Trichoderma* son utilizadas como promotores de crecimiento en cultivos de hortalizas, de plantas ornamentales y en viveros de árboles (Harman et al., 2004; Lorito et al., 2010; Shoresh et al., 2010). También es conocido que *Trichoderma* spp. brinda a las plantas tolerancia al estrés abiótico, como condiciones de sequía y salinidad, por ejemplo (Delgado-Sánchez et al., 2010; Mastouri et al., 2010; Mukherjee et al., 2013; Shoresh et al., 2010).

El control biológico mediante el uso de microorganismos benéficos del suelo —como las diferentes especies de *Trichoderma*— representa un medio sostenible gracias al cual una amplia gama de patógenos habitantes del suelo de las plantas puede controlarse. En este sentido, se ratifica la tesis de que los ACB son una propuesta alternativa viable frente al uso de plaguicidas químicos (Harman et al., 2004; Verma et al., 2007).

Sistema gnotobiótico | Raíz control | Raíz inoculada con Bs006

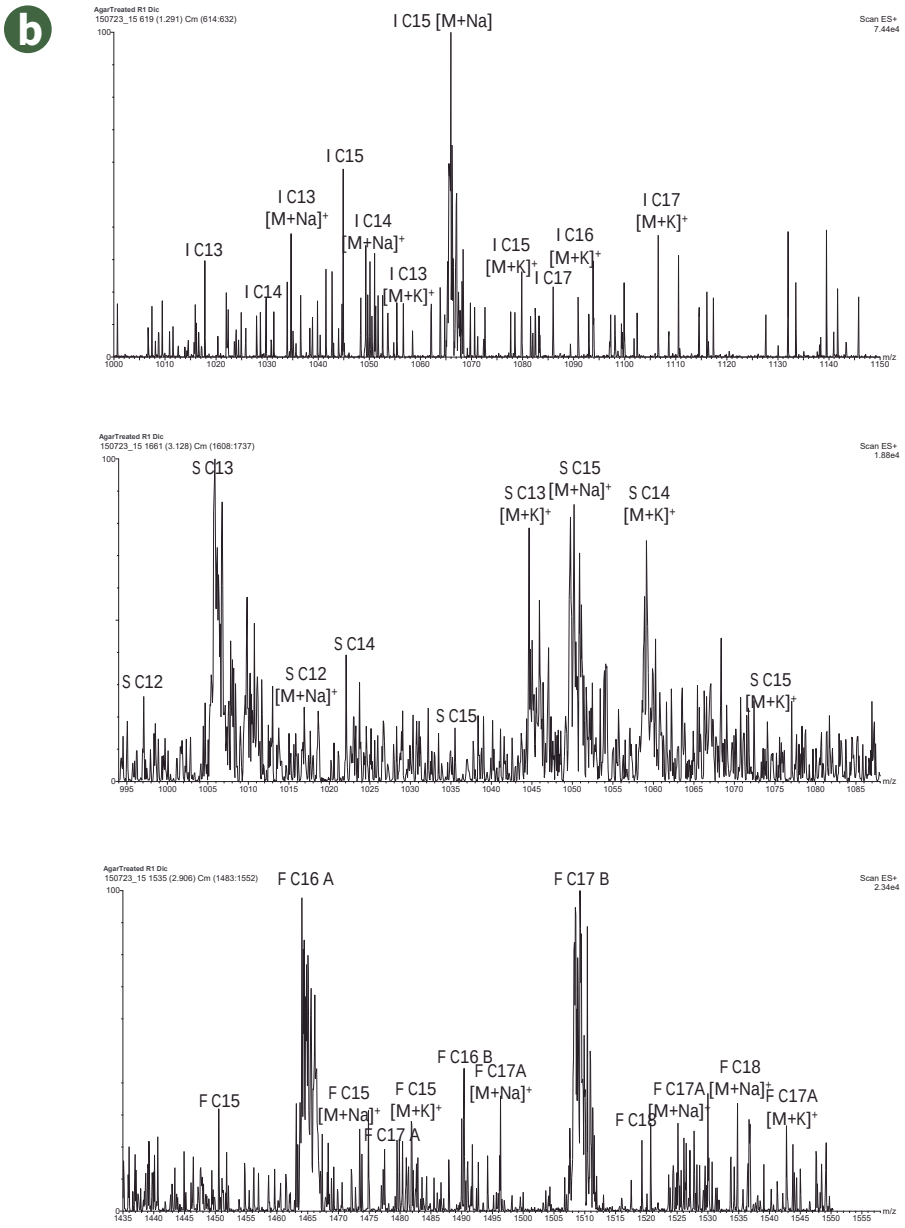


Figura 2.9. Efecto biocontrolador de *B. amyloliquefaciens* contra *F. oxysporum* en uchuva, expresado como competencia y producción de lipopéptidos. a. Modelo gnotobiótico utilizado para estudiar las interacciones entre *B. amyloliquefaciens* Bs006, *F. oxysporum* y uchuva. La plántula control fue inoculada con agua destilada estéril y la plántula tratada fue inoculada con 4 µL de Bs006 en concentración de 1x108 ufc.mL-1 en la zona del cuello (+Bs006). Nótese la zona de inhibición del crecimiento de FOX-Map5 entre el hongo y la planta inoculada con la bacteria. En la imagen de la raíz de la planta control se observa gran cantidad de micelio de FOX-Map5 colonizando la raíz, mientras que en la raíz tratada con Bs006 se observan pocas hifas del hongo acercándose a la raíz. Se observa también la biopelícula formada por la bacteria Bs006 sobre la raíz principal, las raíces secundarias y los pelos radicales de la raíz inoculada. Las imágenes se tomaron cinco días después de la inoculación del hongo en el sistema; b. Espectros de compuestos homólogos de iturinas (I), fengicinas (F) y surfactinas (S) detectadas en la zona de inhibición del crecimiento de FOX-Map5 obtenidos por análisis ESI-MS. Los compuestos homólogos de cada familia de lipopéptidos, por su longitud de la cadena lipídica de 12 a 17 carbonos, se indican como I C14-17 (iturinas), F C15-17 (fengicinas) y S C12-16 (surfactinas).

Fuente: Adaptada de Moreno-Velandia (2017)

Interacción *Trichoderma*-fitopatógeno

El fenómeno de micoparasitismo de un agente de control biológico como *Trichoderma* spp. sobre los microorganismos del suelo y su interacción con la planta huésped ha sido descrito como un proceso dirigido, dividido en las etapas siguientes: identificación del fitopatógeno; reconocimiento de la presencia del fitopatógeno (detección); inducción de las moléculas necesarias para cercar a la presa; ataque real y eventual "muerte" del fitopatógeno o reducción de la enfermedad de la planta (Druzhinina & Kubicek, 2014; Druzhinina et al., 2011; Harman et al., 2004) (figura 2.10).

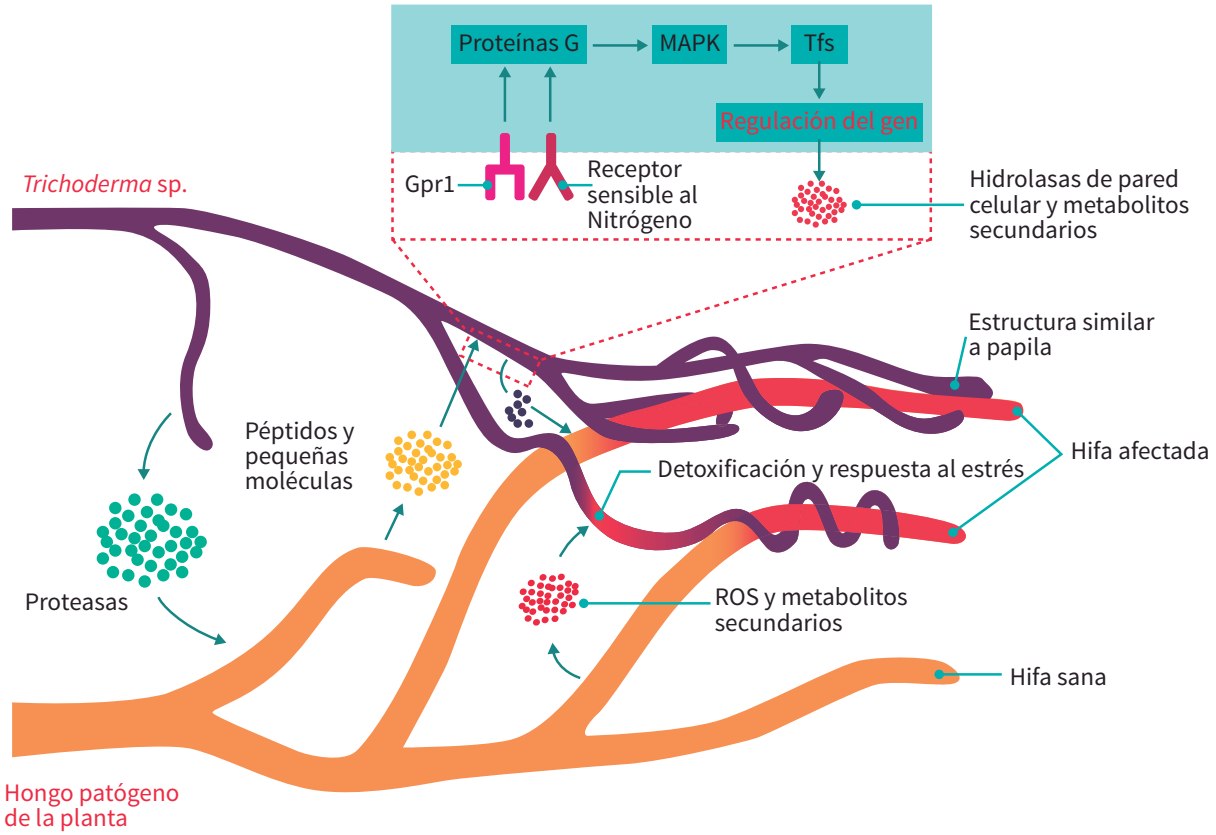


Figura 2.10. Micoparasitismo de *Trichoderma* spp. en la comunidad del suelo.

Fuente: Adaptada de Druzhinina et al. (2011)

Identificación del fitopatógeno. Un primer mecanismo se da cuando una o varias cepas de *Trichoderma* spp. con competencia en la rizosfera reconocen moléculas de bajo peso molecular liberadas por un hongo fitopatógeno y, en consecuencia, responden a su presencia. Algunas de estas moléculas pueden ser péptidos que se liberan por la acción de proteasas excretadas por *Trichoderma* spp., antes de establecer un contacto físico (figura 2.10).

Los péptidos y otras moléculas liberadas por los fitopatógenos se pueden unir a receptores acoplados a proteínas G (GPCR, *G protein coupled receptors*) en *Trichoderma* spp., como Gpr1 o PTH11-G, los cuales regulan la morfogénesis, el apareamiento, la división celular, la quimiotaxis, el metabolismo secundario y la virulencia (Brunner et al., 2008). También se pueden unir a receptores sensibles al nitrógeno en la superficie de la hifa de *Trichoderma* sp.,

lo cual genera una cascada de señalización que comprende proteínas G y proteínas quinasas como *mitogen-activated protein kinases* (MAPK, por su sigla en inglés) implicadas en respuestas a la luz, al estrés oxidativo ocasionado por la luz y en el control del ritmo circadiano en hongos (Wang et al., 2017). Particularmente, las MAPK están implicadas en la fosforilación de factores de transcripción (FT) que regulan la síntesis de celulasa en *Trichoderma* (Wang et al., 2017) (figura 2.10).

Dicha interacción también estimula en *Trichoderma* spp. la expresión de varios genes involucrados en la biosíntesis de gliotoxinas y de sus metabolitos precursores; de lectinas y β-glucanasas; de pequeñas proteínas secretadas como cisteínas y sintasas; y de enzimas proteolíticas y transportadoras de oligopéptidos. Todos estos metabolitos mejoran la capacidad micoparasítica de *Trichoderma* spp. (Atanasova et al., 2013; Dijksterhuis et al., 1994; Flores et al., 1997; Seidl et al., 2009).

Las lectinas del hongo patógeno y otras proteínas que tienen módulos de unión con la celulosa de las hifas de *Trichoderma* spp. pueden colaborar en el acercamiento del biocontrolador al patógeno. Al mismo tiempo, el patógeno responde formando metabolitos secundarios antifúngicos y especies reactivas de oxígeno (ROS) que provocan la expresión de genes de *Trichoderma* spp. en respuesta al estrés oxidativo (citocromo C peroxidasa, prolina oxidasa y glutatión-S-transferasas) y a procesos de desintoxicación —transportadores ABC de salida y transportadores de resistencia a fármacos pleiotrópicos (PDR) y a múltiples fármacos (MDR)— (Aliferis & Jabaji, 2010; Lorito et al., 2010; Papapostolou & Georgiou, 2010; Ruocco et al., 2009; Seidl et al., 2009) (figura 2.10).

Detección. Una vez detectado el fitopatógeno por parte de *Trichoderma* spp., este último dirige su crecimiento hacia las hifas del objetivo. En el proceso participan receptores (como PTH11) implicados en la formación de estructuras (apresorio y papila) y en su capacidad parasítica. También participan proteínas similares al receptor de cAMP, implicadas en el proceso de enrollamiento (figura 2.10) y en la expresión de enzimas como las quitinasas, las cuales liberan fragmentos de la pared celular de las hifas del patógeno (Atanasova et al., 2013; DeZwaan et al., 1999; Kubicek et al., 2011; Kulkarni et al., 2005; Omann & Zeilinger, 2010; Omann et al., 2012).

Cercamiento de la presa. El reconocimiento, así como el crecimiento dirigido hacia y junto a la hifa del fitopatógeno (como respuesta activa y de quimiotaxis) es el primer paso esencial para la adhesión y la interacción con el fitopatógeno. Diferentes cepas y especies de *Trichoderma* usan los diversos metabolitos secundarios en varias estrategias para el proceso de antagonismo. La formación de hifas del agente de control biológico en forma de hélice y el enrollamiento alrededor de la hifa del fitopatógeno es una respuesta morfológica que con frecuencia está asociada con el parasitismo. Este proceso se ha relacionado con la estimulación de la expresión de genes que codifican proteínas con dominios tipo lectina, los cuales incrementan la liberación de enzimas y proteínas similares con sitios de unión a carbohidratos y la producción de antibióticos (Atanasova et al., 2013; Inbar & Chet, 1996; Notenboom et al., 2002) (figura 2.10).

Muerte. La muerte del fitopatógeno depende de la acción sinérgica de diversos metabolitos secundarios antifúngicos como los péptidos no ribosomales —sintetizados a partir de sintetasas peptídicas no ribosomales (NRPS)— o las gliotoxinas (Howell, 2006; Lumsden et al., 1992). Metabolitos como los peptaiboles, con propiedades antibióticas, pueden actuar sinérgicamente con enzimas hidrolíticas (como las hidrolasas secretadas en la pared celular) para promover el ingreso de estructuras infectivas de *Trichoderma* y evitar la reparación de estas; lo cual sugiere un papel importante para el estilo de vida de los micoparásitos y el antagonismo contra los patógenos de plantas (Kubicek et al., 2011; Lorito et al., 1996; Schirmböck et al., 1994).

También pueden funcionar de forma similar metabolitos como los policétidos sintetizados mediante policétidos sintasas (PKS), derivados de isoprenoides como la viridina —un esteroide fungistático que puede ser reducido a viridiol, compuesto con propiedades herbicidas— (Jones & Hancock, 1987; Kubicek et al., 2011; Mukherjee et al., 2006). Funciona de forma parecida el compuesto trichodermina, altamente fungitóxico y fitotóxico, el cual es formado por una cascada de reacciones en las que la tricodieno-sintasa (gen TRI5) cataliza el primer paso (Tijerino et al., 2011). Así mismo,

el grupo de compuestos denominados *pironas*, como 6-pentil-(2H)-piran-2-ona (6-PP), un compuesto orgánico volátil (con un característico aroma de coco) que tiene actividad antifúngica (Serrano-Carreon et al., 1993).

La pared celular representa aproximadamente el 30 % del peso seco de las células fúngicas y consiste principalmente en quitina, β-1,3-glucanos, α-1,3-glucanos y α-1,4-glucanos (Latgé, 2007). Las especies de *Trichoderma*, en general, sintetizan varias quitinasas que hidrolizan la quitina, que es el polímero más abundante de la pared fúngica (Benítez et al., 2004; Harman et al., 2004; Kubicek et al., 2011; Limón et al., 2004; Mukherjee et al., 2003; Seidl, 2008). Las enzimas quitosanasas hidrolizan el quitosano, una forma parcialmente desacetilada de la quitina (Hanson & Howell, 2004; Kubicek et al., 2011). Las β-1,3-glucanasas hidrolizan el β-1,3-glucan, que es el segundo polímero en abundancia (Kubicek et al., 2011; Latgé, 2007); además, producen β-1,6-glucanasas, que hidrolizan el β-1,6-glucan, también presente en la pared de varios hongos, principalmente, en levaduras (Ihrmark et al., 2010; Montero et al., 2007). Se considera que algunas de estas enzimas han coevolucionado por selección positiva durante la interacción entre el biocontrolador y el fitopatógeno (Ihrmark et al., 2010).

Interacción *Trichoderma*-planta

Las especies biocontroladoras de *Trichoderma* tienen la capacidad de colonizar la rizosfera e interactuar en la superficie de las raíces y en las capas exteriores de la corteza de la raíz. Allí establecen una zona de interacción interna en la que *Trichoderma* libera moléculas bioactivas y se presentan señales de intercambio entre el biocontrolador y la planta (figura 2.10). Algunos de estos compuestos, liberados tanto en la exorrizosfera como en la endorriza, se comportan como elicitores de resistencia vegetal: proteínas homólogas de avirulencia (Avr), péptidos y proteínas con funciones enzimáticas, y compuestos de bajo peso molecular que activan una cascada de proteínas quinasas (MAPK) en la planta.

Los fragmentos de pared celular de otros hongos, provenientes de la acción de quitinasas, liasas, peroxidasas y β-1-3-glucanasas de *Trichoderma*, también estimulan la respuesta de defensa de la planta. Compuestos como peptaiboles y la ceratoplatanina Sm1 (Epl1 en algunas especies) inducen resistencia sistémica en las plantas, que culmina con la síntesis de hidroperóxido liasa, peroxidasa y fenilalanina amonio liasa (PAL), que, a su vez, inducen la lignificación del tejido. Las plantas producen así depósitos en la pared celular y factores bioquímicos que limitan el crecimiento de *Trichoderma* a causa de su avirulencia (Shoresh et al., 2010).

Las vías de señalización del ácido jasmónico (JA) y del etileno se activan, lo que resulta en la inducción de genes relacionados con el aumento de la defensa de la planta, que finalmente aumentan la resistencia del huésped tratado con *Trichoderma* (Moreno et al., 2009). Además, se aumenta el metabolismo de carbohidratos y la fotosíntesis, lo cual cambia la relación fuente-vertedero. Esto genera más energía y fuentes de carbono disponibles para la planta, de forma que se da una respuesta de crecimiento vegetal. *Trichoderma* spp. se beneficia directamente de las raíces de las plantas al recibir sacarosa como fuente de carbono, lo que permite su crecimiento más rápido.

Las xilanasas producidas por algunas especies de *Trichoderma* también pueden estimular respuestas de defensa de la planta, pues degradan parcialmente las celulasas y actúan como un patrón molecular asociado a microorganismos (Rotblat et al., 2002). La enzima 1-aminociclopropano-1-carboxílico desaminasa (AAC desaminasa) también es sintetizada por *Trichoderma* spp. Esta enzima inhibe la formación de etileno en la planta, lo cual estimula el crecimiento de la raíz. Una nitrilasa sintetizada constitutivamente por *Trichoderma* podría ayudar en la síntesis de ácido indol-3-acético (AIA), al cual también se le ha atribuido el efecto promotor del crecimiento de la raíz en plantas tratadas con *Trichoderma* spp. El fenómeno de nematofagia de Trichoderma spp. involucra la acción de quitinasas y proteasas de tipo subtilisina, proteínas pequeñas secretadas ricas en cisteína (SSCP) (Kubicek et al., 2011).

Algunas cepas de *Trichoderma* inducen respuestas de defensa, pero no estimulan el crecimiento vegetal, y viceversa, lo que sugiere que la señalización de las respuestas para cada vía es diferente. Finalmente, como

consecuencia de la interacción entre *Trichoderma* spp. y la planta, una variedad de patógenos de las raíces y de partes aéreas de las plantas causan menos enfermedad cuando las raíces están colonizadas por *Trichoderma* spp. Igualmente, en ausencia de patógenos o de enfermedades, las plantas frecuentemente tienen raíces más largas y altos rendimientos en presencia de *Trichoderma* spp.

Pseudomonas spp.

Las bacterias biocontroladoras del género *Pseudomonas* spp. son gramnegativas, están presentes en todos los suelos agrícolas y se adaptan muy bien para crecer en la rizosfera. Las rizobacterias de este género han sido uno de los centros de atención de la investigación en control biológico de fitopatógenos del suelo y en el desarrollo de bioplaguicidas. Los primeros estudios con *P. fluorescens* y *P. putida* mostraron el alto potencial de este grupo de microorganismos como promotores del crecimiento vegetal (Weller, 1988). Sin embargo, mientras que *Trichoderma* spp. y *Bacillus* spp. han sido más atractivos debido a que son fáciles de producir masivamente y de formular, *Pseudomonas* spp. ha recibido bastante atención en estudios básicos sobre mecanismos de biocontrol, porque presenta mayor facilidad para las manipulaciones genéticas frente a los dos géneros mencionados y es un colonizador fuerte tanto de la rizosfera como de la filosfera (Weller & Thomashow, 2016). Aunque *Pseudomonas* spp. se puede producir fácilmente, la vida útil de los productos formulados es limitada, ya que no genera esporas dormantes como *Bacillus* spp.

Así como *Trichoderma* spp. y *Bacillus* spp., las especies de *Pseudomonas* biocontroladoras también tienen mecanismos que afectan directamente a los fitopatógenos, inducen resistencia sistémica en la planta y estimulan el crecimiento vegetal. Además de los rasgos ya mencionados, otras características que hacen de *Pseudomonas* un agente de control biológico apropiado son su capacidad de utilizar rápidamente los exudados de las semillas y de las raíces; su capacidad de colonizar eficientemente la rizosfera y la espermosfera; su capacidad de crecer y multiplicarse en el interior de los tejidos vegetales; su facultad para sintetizar un amplio espectro de metabolitos bioactivos como antibióticos, sideróforos, volátiles y promotores del crecimiento vegetal; y su fácil adaptación a condiciones de estrés ambiental (Weller, 2007).

El género *Pseudomonas* es uno de los mejores ejemplos de defensa natural contra las enfermedades de las plantas por suelos supresivos. En los suelos supresivos, un fitopatógeno no se establece o no persiste eficientemente. En el caso de que logre establecerse, causa poco o ningún daño a las plantas, o también puede causar daño en los primeros ciclos de cultivo, pero en los ciclos siguientes la enfermedad se vuelve menos importante (Weller et al., 2002). Un ejemplo es la reducción de la enfermedad del mal del pie de los cereales (*take-all*) causada por *Gaeumannomyces graminis*, caso en el cual la reducción espontánea de la incidencia y la severidad de la enfermedad, así como el incremento del rendimiento, ocurrieron después de un ataque severo de la enfermedad en condiciones de monocultivo de trigo o cebada (Weller & Thomashow, 2016).

El control de enfermedades por suelos supresivos puede ser general o específica: general, debido a la competencia y actividad antagónica del microbioma total del suelo; específica, debido a un grupo particular de microorganismos que actúa contra un fitopatógeno específico y, con frecuencia, sobre un cultivo específico. La supresión general no es transferible, se puede aumentar con prácticas que incrementen la actividad microbiana en el suelo y se reduce con el vapor; mientras que la supresión específica se superpone a la supresión general, es transferible y se pierde por pasteurización del suelo (Weller, 2015). En términos generales, las bases microbiológicas de la mayoría de suelos supresivos en el mundo no están del todo determinadas, sin embargo, la aplicación de las nuevas técnicas ómicas, junto con métodos clásicos utilizados para caracterizar suelos supresivos, constituyen una herramienta útil para identificar las bases microbiológicas de los suelos supresivos (Mendes et al., 2011).

Se ha demostrado que varias especies de *Pseudomonas fluorescens* —productoras de 2,4-diacetilfloroglucinol (DAPG) en densidades superiores a $1x10^5$ ufc/g de raíz— han sido las responsables directas de la reducción espontánea de la incidencia y la severidad de la enfermedad mal del pie de los cereales producida por *Gaeumannomyces graminis*, fenómeno conocido en inglés como *take-all decline* (TAD) (Raaijmakers &

Weller, 1998; Weller, 2007; Weller et al., 2002). Estas rizobacterias productoras de DAPG son miembros naturales del microbioma del suelo y se encuentran en bajas densidades. Sin embargo, la infección de las raíces del trigo y la cebada durante los monocultivos estimula el crecimiento de su población. El DAPG es un antibiótico tipo policétido y se ha demostrado que cepas de especies productoras como *P. protegens* CHA0, *P. fluorescens* F113, Q-287, SSB17 y *P. brassicacearum* Q8r1-96 tienen efecto contra varios fitopatógenos del suelo como *Rhizoctonia*, *Pythium*, *Fusarium*, *Pectobacterium*, *Dickeya* y nematodos quistes (Weller, 2015).

Modos de acción utilizados por *Pseudomonas* contra fitopatógenos del suelo

La especie vegetal y el tipo de suelo tienen una amplia influencia sobre la estructura y la función de las poblaciones de microorganismos de la rizosfera, lo cual es menos pronunciado para las comunidades de hongos que para las bacterias (Berg et al., 2005). Sin embargo, algunos estudios han demostrado pocas diferencias para el grupo de bacterias antagonistas del género *Pseudomonas* entre el suelo y la rizosfera (Berg et al., 2006), lo que sugiere que los miembros de este grupo de bacterias poseen rasgos que les permiten competir eficientemente y colonizar este ambiente particular. Las características determinantes de la colonización de la raíz, la promoción del crecimiento vegetal y la actividad biocontroladora contra fitopatógenos se pueden encontrar con mayor detalle en las revisiones de Lugtenberg et al. (2001), Berg y Smalla (2009), Couillerot et al. (2009) y Mavrodi et al. (2013). Aquí presentamos un breve resumen de estos rasgos que diferencian a *Pseudomonas* spp. como un agente de control biológico. Se considera que la producción de sideróforos, lipopolisacáridos y metabolitos secundarios con efectos antibacterianos y antifúngicos tiene un papel fundamental en el control biológico de fitopatógenos por *Pseudomonas*.

La capacidad de *Pseudomonas* spp. para utilizar los monosacáridos, los ácidos orgánicos y las poliaminas contenidas en los exudados radicales, y su capacidad para adherirse a la superficie de la raíz a través de componentes como proteínas de membrana, polisacáridos y lipopolisacáridos (Lugtenberg et al., 2001) son indicadores de su habilidad competitiva y de la colonización de la rizosfera, requerimiento importante en el control de las enfermedades de la raíz (Chin-A-Woeng et al., 2000). Otro factor importante para la colonización de las raíces por especies benéficas de *Pseudomonas*, especialmente en condiciones con limitaciones de hierro, es la síntesis de compuestos quelantes de hierro (sideróforos como pioverdinas y pseudobactinas), que implica una menor disponibilidad de este elemento para los fitopatógenos (Kloepper et al., 1980).

Las cepas de especies antagonistas de *Pseudomonas* generalmente sintetizan varios antibióticos utilizados en contra de los fitopatógenos, en particular, pioluteorin (Plt), ácido fenazina-1-carboxílico (PCA), 2,4-diacetilfloroglucinol (DAPG), pirrolnitrina (Prn), ácido cianhídrico (HCN) y bacteriocinas (Haas & Défago, 2005). Finalmente, similar al caso de *Bacillus* y *Trichoderma*, las especies biocontroladoras de *Pseudomonas* también pueden inducir respuestas de defensa sistémicas en el hospedero, como un mecanismo adicional de acción contra los fitopatógenos (figura 2.11). Estas pueden ser inducidas por el reconocimiento de componentes de la superficie celular de *Pseudomonas*, como lipopolisacáridos y flagelos, o por la interacción con metabolitos secundarios producidos por la bacteria, incluidas pioverdina y DAPG (Bakker et al. 2007; Pieterse et al., 2003). Recientemente se demostró que las fenazinas (PCN) de *Pseudomonas* sp. son determinantes en la inducción de resistencia sistémica contra *Magnaporthe oryzae* y *R. solani* en plantas de arroz y fríjol, respectivamente (Ma et al., 2016).

De acuerdo con lo descrito en la figura 2.11, *P. fluorescens* puede actuar directamente sobre la planta, a través de la producción de varias señales —2,4-diacetilfloroglucinol (DAPG), fitohormonas, etc.— o mediante la inducción de vías de respuesta de resistencia sistémica (ISR). A su vez, la planta les proporciona exudados orgánicos y señales moleculares. Este grupo de bacterias también puede inhibir los fitopatógenos por competencia o antagonismo mediado por metabolitos secundarios tales como DAPG. Además, estos efectos son modulados por la acción de ciertos miembros de la comunidad microbiana

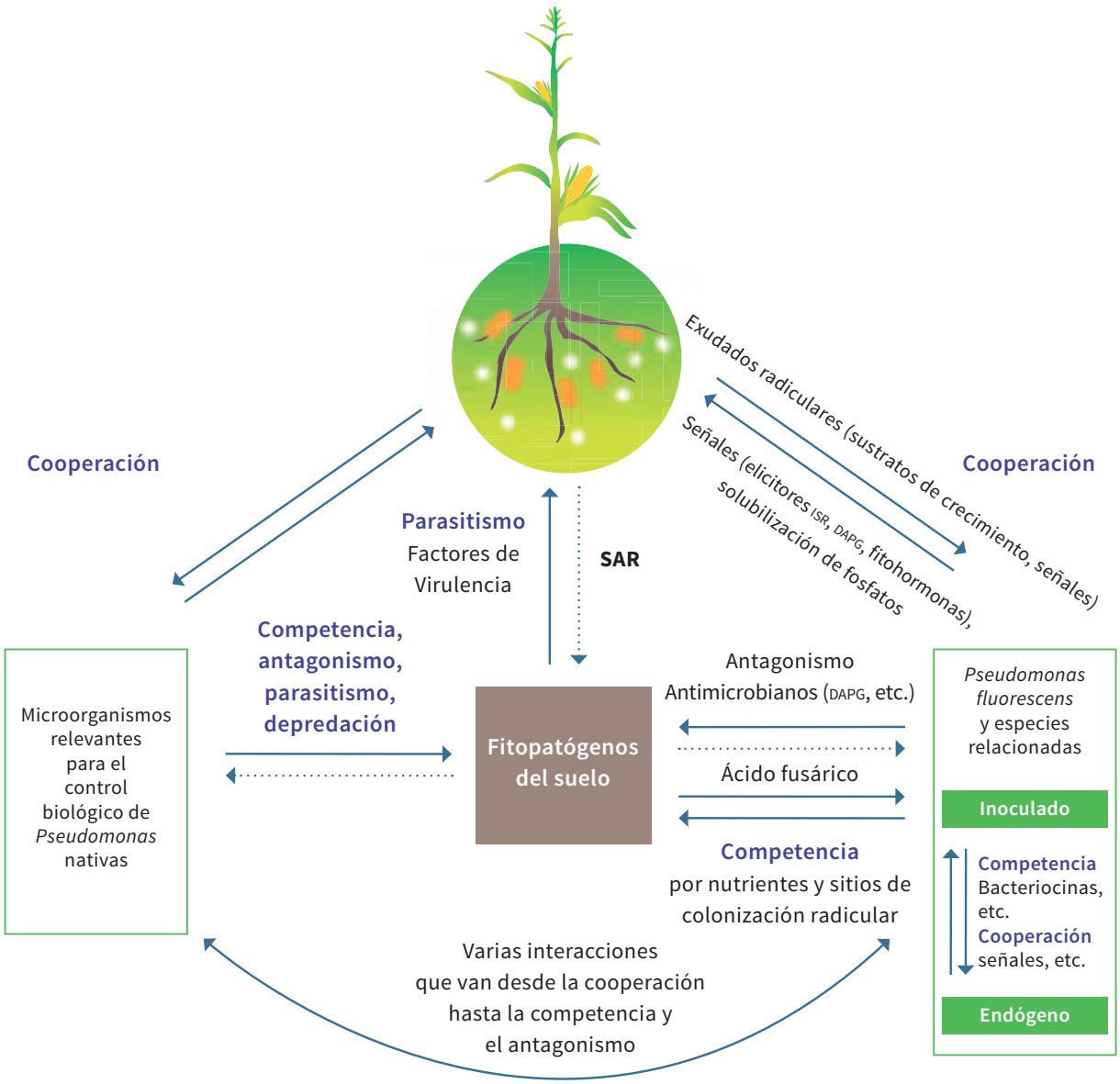


Figura 2.11. Descripción de los modos de acción utilizados por *P. fluorescens* y especies de *Pseudomonas* fluorescentes estrechamente relacionadas con la protección de plantas.

Fuente: Adaptada de Couillerot et al. (2009)

diferentes a *Pseudomonas*, que también pueden tener efectos de biocontrol directos o indirectos (es decir, a través de la planta) o interferir con el funcionamiento de los agentes de biocontrol de *P. fluorescens* y especies relacionadas. En cuanto a los inoculantes a base de *Pseudomonas*, su ecología y propiedades benéficas para las plantas pueden verse influenciadas positivamente (a través de la señalización y cooperación) o negativamente (a través de la competencia) por *Pseudomonas* nativas colonizadoras de raíces. Las líneas discontinuas (figura 2.11) indican posibles respuestas de *Pseudomonas* durante interacciones negativas, tales como la inhibición de la producción de DAPG ocasionada por el ácido fusárico de *Fusarium oxysporum* y la resistencia sistémica adquirida en la planta en respuesta a la infección de un fitopatógeno.

Bioplaguicidas

Dentro de los principios activos de diferentes productos registrados y comerciales para el control de diversos insectos plaga y enfermedades en el mundo, Van Lenteren et al. (2018) encontraron información de al menos 209 cepas de microorganismos correspondientes a 94 especies diferentes, lo cual representa un acercamiento aproximado de la diversidad existente. Frente a estas cifras, es importante aclarar que puede existir un subregistro, debido a que, en diferentes casos, la información registrada por aproximadamente 200 fabricantes puede duplicar o subestimar la cifra según el país y la región en que se distribuya el producto, puesto que se usan diferentes nombres comerciales para una misma cepa. En este mercado se presenta la tendencia a que las empresas multinacionales de agroquímicos se fusionen o absorban pequeñas y medianas empresas que producen y comercializan bioplaguicidas, dado el potencial del mercado de productos más amigables con el medioambiente y con los consumidores (Van Lenteren et al., 2018).

Actualmente en Europa y en Estados Unidos de América se encuentran registrados al menos 46 bioplaguicidas para el control de enfermedades radiculares (Environmental Protection Agency [EPA], 2017; European Commission [EU], 2017) (tabla 2.2). El 50 % de estos tiene como ingrediente activo una bacteria, el 43,4 % está fabricado a base de hongos filamentosos y solo el 6,5 % está hecho a base de actinomicetes.

Tabla 2.2. Microorganismos como ingredientes activos de bioplaguicidas para el control de patógenos del suelo que presentan registro en Europa (UE) y en Estados Unidos de América (EE. UU.)

Ingrediente activo	Cepa	Nombre comercial / formulación registrada en la Unión Europea	Nombre comercial / formulación registrada en Estados Unidos de América (EE. UU.)
Hongos			
Trichoderma. asperellum	T34		T34®, Biocontrol® Asperello T34®
Trichoderma asperellum	T-25	Tusal®	
Trichodermaasperellum	TV1	Virisan®	
Trichoderma asperellum	ICC 012		Bioten® WP Nombres alternos: Tenet® WP Remedier WP Tenet® T&O
Trichoderma hamatum	382		Incept®
Trichoderma gamsii	ICC 080	Remedier®	
Trichoderma asperellum *Trichoderma gamsii*	ICC 012 ICC 080	Bioten®, Tenet® WP, Remedier®	Bioten®WP Nombres alternos: Bio-Tam® 2.0 Tenet® WP Remedier WP Tenet® T&O
Trichoderma polysporum *Trichoderma harzianum*	IMI 206039 IMI 206040	Binab T® WP	

(Continúa)

(Continuación tabla 2.2)

Ingrediente activo	Cepa	Nombre comercial / formulación registrada en la Unión Europea	Nombre comercial / formulación registrada en Estados Unidos de América (EE. UU.)
Trichoderma atroviride (antes, *T. harzianum*)	ITEM 908, T-11, T22	Trianum-P®	
Clonostachys rosea (antes, *Gliocladium catenulatum*)	J1446	Prestop® PreStop Mix®	
Bacterias			
Bacillus amyloliquefaciens (antes, *Bacillus subtilis*)	MBI 600		Subtilex® Biotak® Integral®
Bacillus amyloliquefaciens subsp. *plantarum*	D747		Double nickel 55® CX-9030® CX9032®
Bacillus subtilis var. *amyloliquefaciens*	FZB24		Taegro 2®
Bacillus subtilis	QST 713		Rhapsody® ASO Serenade®
Bacillus subtilis	GB03		Kodiak®
Bacillus pumilus	GB34 (sinónimo INR7)		YieldShield®
Bacillus pumilus	QST 2808		Sonata®
Bacillus pumilus	GHA 180		GHA 180
Bacillus licheniformis	SB3086		Eco-Guard® GreenReleaf® 710-140
Pseudomonas chlororaphis	MA 342	Cedomon® Cedress® Cerall®	
Pseudomonas chlororaphis subsp. *aurantiaca*	AFS009		Howler®Active Howler®Technical Howler® T&O
Pseudomonas chlororaphis	63-28		AtEze®
Pseudomonas sp.	DSMZ 13134	Proradix®	
Actinomicetes			
Streptomyces sp.	K61	Mycostop® WP	
Streptomyces lydicus	WYEC 108		Actinovate® AG

WG: gránulos humectables/dispersables en agua; WP: polvos humectables; SC: suspensión concentrada

Fuente: Adaptada de Anderson et al. (2018), Cawoy et al. (2011), EFSA (2018), EPA (2018) y Van Lenteren et al. (2018)

Los productos están constituidos por una sola cepa o por la mezcla de varios microorganismos compatibles, y se usan como una herramienta en el manejo integrado de cultivos. La mayoría de los hongos se formulan como gránulos y polvos mojables o dispersables, mientras que las bacterias se formulan en suspensiones concentradas. En cuanto a los hongos, la mayor parte de los productos registrados para el control de fitopatógenos del suelo están conformados por una cepa del género *Trichoderma*, dos formulaciones están conformadas por la mezcla de dos especies de este mismo género y tan solo una está formulada a base de *Clonostachys rosea* (EPA, 2017; EU, 2017) (tabla 2.2).

Nueve bioplaguicidas están basados en cuatro cepas diferentes de la especie *T. asperellum*, de los cuales, los productos T34®, Biocontrol® y Asperello T34® están fabricados a partir de la cepa T34. Esta cepa se recomienda para la supresión de enfermedades de raíces causadas por *F. oxysporum* f. sp. *dianthi*, *Rhizoctonia*, *Pythium* y *Phytophthora*, con aplicación al momento de la propagación o siembra, antes del trasplante y en la preparación de sustrato antes de la siembra (EPA, 2011b; European Food Safety Authority [EFSA], 2012b). Otros productos a base de esta especie son Tusal® cepa T-25, con acción antagonista contra muchos hongos patógenos del suelo como *Phytophthora* sp., *Fusarium* sp., *Rhizoctonia solani*, *Pythium* sp. y *Sclerotinia sclerotiorum*, el cual es recomendado para cultivos de tomate, pimienta, pepino y calabacín (EFSA, 2013c). Por su parte, Virisan® cepa TV1 está registrada para el control de *Pythium* spp., *Rhizoctonia* spp. y *Fusarium* spp. (EFSA, 2013c), y la cepa ICC 012 — ingrediente activo de los productos Bioten WP, Tenet WP, Remedier WP y Tenet T&O— suprime diversos patógenos fúngicos como *Pythium* spp., *Phytophthora* spp., *Sclerotinia* spp., *Sclerotium* spp., *Thielaviopsis basicola*, *Rhizoctonia* spp. y *Verticillium* spp. (EPA, 2010a; EFSA, 2013c).

A base de otras especies de *Trichoderma*, como *Trichoderma atroviride* (antes identificado como *Trichoderma harzianum*), se han registrado otros bioplaguicidas, cuyo producto se registró con el nombre de Trianum-P®, formulado a base de las cepas ITEM 908, T-11 y T22. Este producto se recomienda como biofungicida preventivo para el control de *Pythium* spp., *Rhizoctonia* spp. y *Fusarium* spp. en cultivos de tomate, céspedes y ornamentales. Se recomienda su aplicación en semilleros, en el momento del trasplante de cualquier material vegetal propagativo, directamente en el surco o en sustratos de trasplante con protección para la raíz de la planta (EFSA, 2013e).

ICC 080: Remedier® es un producto a base de *T. gamsii*, con acción preventiva contra patógenos del suelo como *Pythium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Phytophthora* spp., *Phoma* spp., *Verticillium* spp., *Fusarium* spp., *Sclerotinia* spp., *Sclerotium* spp. y *Thielaviopsis basicola*. Este debe ser aplicado antes o en el momento de la siembra o del trasplante de diferentes cultivos (EPA, 2010b; EFSA, 2013d). El bioplaguicida Incept®, a base de *Trichoderma hamatum* cepa 382, controla enfermedades causadas por *Pythium*, *Phytophthora*, *Fusarium* spp., *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* y *Thielaviopsis basicola*. Este debe ser aplicado en el suelo y en el compost en viveros e invernaderos para la producción de plantas ornamentales y vegetales (EPA, 2010c).

También se han registrado dos formulaciones mixtas a base de *Trichoderma* spp. Una de ellas es Bioten® WP y sus cuatro nombres alternativos: Bio-Tam® 2.0, Tenet® WP, Remedier® WP y Tenet T&O®. Estos contienen una mezcla de *T. asperellum* (ICC 012®) y *T. gamsii* (ICC 080), cepas que de manera individual también constituyen bioplaguicidas. La otra mezcla es el producto Binab T®, a base de *T. polysporum* (IMI 206039) y *T. atroviride* (IMI 206040), altamente efectivo contra *Fusarium* sp., *Verticillium dahliae*, *Rhizoctonia* sp., *Phomopsis* sp., *Sclerotium* sp., *Sclerotinia* sp. y *Pythium* sp., en cultivos de bayas (arándano, fresa y frambuesa), melón, berenjena, sandía, tomate, papa, lechuga y espinaca (EPA, 2010a; EFSA, 2014b).

También se han registrado otros principios activos, como *Clonostachys rosea* (antes *Gliocladium catenulatum* cepa J1446) (Prestop®, PreStop Mix®), el cual se usa para el control preventivo de enfermedades producidas por *Pythium*, *Phytophthora* y *Fusarium* spp. Su aplicación se recomienda en trigo, maíz, papa, cebolla y uva, así como para semillas y plántulas de vivero para fresa, pepino, melón, tomate, lechuga, pimienta, plantas ornamentales y flores de corte. Este principio activo también se usa en productos que necesitan ser almacenados, como semillas de papa y bulbos de flores (EPA, 2002; EFSA, 2017b).

De los productos a base de actinomicetes, solamente hay dos especies diferentes del género *Streptomyces*.

Una de ellas es *Streptomyces lydicus* cepa WYEC 108, con los productos Actinovate® y Actino-Iron®, contra hongos que causan pudrición de la raíz y volcamiento de plantas (*Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Phytophthora*, *Pythium*, *Phymatotrichum*, *Aphanomyces*, *Monosporascus*, *Armillaria*, *Sclerotinia*, *Postia*, *Verticillium* y *Geotrichum*). Dichos productos se usan como agentes antifúngicos para recubrir semillas en viveros e invernaderos, con aplicación en céspedes y en suelo agrícola (EPA, 2005; EFSA, 2013a, 2014a). La otra especie es *Streptomyces* sp. cepa K61, como ingrediente activo de Mycostop®, el cual se recomienda para el control de *Alternaria*, *Fusarium*, *Pythium*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Phymatotrichum* y *Armillaria* (EFSA, 2013b; EPA, 2010d).

En los últimos 30 años, también se han registrado ante la EPA o han sido aprobados por la EFSA varios bioplaguicidas a base de bacterias como *Pseudomonas* y *Bacillus*, lo que demuestra una larga historia de seguridad en su aplicación (Anderson et al., 2018; Cawoy et al., 2011; EFSA, 2017a; EPA, 2018). En todos los casos, los productos han sido formulados a base de una sola cepa como ingrediente activo, de los cuales se han registrado 23 bioproductos para el control de patógenos del suelo (tabla 2.2).

A base de *Bacillus* spp., se encuentran los productos Subtilex®, Biotak® e Integral® —este último a base de *Bacillus amyloliquefaciens* (antes *Bacillus subtilis*) cepa MBI 600—, los cuales son supresores de fitopatógenos que atacan las raíces y ocasionan marchitamientos y pudrición de cuello y de raíz (*Fusarium* spp., *Rhizoctonia solani*, *Pythium* spp., *Alternaria* y *Aspergillus*) en soya, canola, hortalizas, cucurbitáceas y ornamentales. Estos productos también se usan para el tratamiento de sustratos destinados a siembra y trasplante, y de forma preventiva en semillas de algodón, fríjol, cebada, trigo, maíz, guisantes, maní y soya (EPA, 1999b). La cepa MBI 600 se usa, además, como bioinoculante (con las denominaciones de BioStacked®, HiStick® N/T, HiCoat® N/T S225 y Nodulator® N/T) para promover una más efectiva formación de nódulos en las raíces de leguminosas (como la soya) cuando esta cepa se combina de manera sinérgica con bacterias fijadoras de nitrógeno como *Bradyrhizobium japonicum*, lo que propicia la absorción de nutrientes y genera mayores rendimientos (EFSA, 2016).

Los productos CX-9030®, CX9032® y Double Nickel 55®, a base de *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* cepa D747, se recomiendan para el control de *Rhizoctonia*, *Fusarium* y *Verticillium* en hortalizas, frutales, bayas, nueces, especias, tabaco y ornamentales (EPA, 2011a). Así mismo, Taegro 2® (con *Bacillus subtilis* var. *amyloliquefaciens* cepa FZB24 como ingrediente activo) es recomendado para suprimir enfermedades del suelo como *Rhizoctonia*, *Sclerotinia*, *Fusarium* y *Pythium* en cultivos de hortalizas de hoja, papa, ornamentales, hierbas y especias. Las aplicaciones de este se hacen de manera preventiva y en etapas iniciales de la enfermedad. También es usado para el crecimiento y fortalecimiento de las plantas en etapas de semillero y trasplante, en el manejo de tubérculos, bulbos, esquejes y cormos de plantas ornamentales y forestales (EPA, 2000). La cepa QST 713 de *B. subtilis* es el ingrediente activo de Rhapsody® ASO, producto de amplio espectro para la prevención, supresión y control de enfermedades transmitidas por patógenos del suelo como *Rhizoctonia* spp., *Pythium* spp., *Fusarium* spp. y *Verticillium* spp., en una amplia variedad de plantas ornamentales, brasicáceas, frutales, hortalizas y céspedes, así como en viveros y plántulas de forestales tipo coníferas. En todas ellas, dicho producto mejora la germinación y el crecimiento de las plántulas (EPA, 2013). QST 713 también es el ingrediente activo de Serenade®, el cual se recomienda para el manejo de *Sclerotinia* en lechuga (EPA, 2006).

Otro producto cuyo principio activo es *Bacillus* spp. es Sonata®, a base de *Bacillus pumilus* (QST 2808), recomendado para el control de *Sclerotinia* en brasicáceas, ya que evita el establecimiento de patógenos desde el trasplante de la planta (EPA, 2004). *Bacillus pumilus* cepa GB34 como ingrediente activo de YieldShield® suprime enfermedades de la raíz causadas por *Rhizoctonia* y *Fusarium*, en soya, hortalizas y leguminosas, y se puede usar para el tratamiento de semillas (EPA, 2012). *Bacillus subtilis* cepa GB03, con el nombre de Kodiak®, se utiliza de manera preventiva para el control de enfermedades producidas por *Rhizoctonia*, *Alternaria*, *Fusarium* y *Aspergillus*, en plantas de cebada, trigo, bayas, algodón, cucurbitáceas, hortalizas, leguminosas, ornamentales, maní, soya, tomates, árboles y céspedes (EPA, 1999a). Las aplicaciones se deben dirigir al suelo y deben hacerse en el sustrato de siembra y en el riego, incluso en sistemas hidropónicos. El producto se usa también en pretratamientos de esquejes, tubérculos, semillas de flores, ornamentales, algodón, maní y soya (EPA, 1999a).

Por su parte, la cepa SB3086 de *Bacillus licheniformis* es el ingrediente activo de los productos Eco-Guard® y GreenReleaf® 710-140, que son aplicados en plantas ornamentales, coníferas y céspedes para prevenir las enfermedades causadas por *Phytophthora drechsleri* y *Rhizoctonia solani* (EPA, 2001b). *Bacillus pumilus* cepa GHA 180 se usa para el control de *Pythium*, *Fusarium* y *Rhizoctonia*, en cultivos de tabaco, ornamentales y en sustratos de cultivo en viveros para la germinación de semillas (EPA, 2012).

Así mismo, se han registrado varios bioplaguicidas a base de *Pseudomonas* spp. Uno de ellos lleva el nombre comercial de Proradix®, a base de la cepa DSMZ 13134 de *Pseudomonas* sp., cuyo uso se recomienda para el control de enfermedades del suelo causadas por *Rhizoctonia* en tubérculo semilla de papa, en semillas de flores ornamentales, lechuga, tomate y pepino (EFSA, 2012a). AtEze, cuyo ingrediente activo es *Pseudomonas chlororaphis* cepa 63-28, se recomienda para el control de *Pythium* spp., *Rhizoctonia solani* y *Fusarium oxysporum*, en cultivos de hortalizas y ornamentales bajo condiciones de invernadero (EPA, 2001a). *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca* cepa AFS009 es el ingrediente activo de los biofungicidas Howler® Active, Howler® Technical y Howler® T&O, con acción preventiva y de larga duración contra enfermedades causadas por *Rhizoctonia* y *Pythium*. Estos productos pueden ser utilizados en las fases de producción inicial (invernadero, plantación, plantas tempranas y plantas en maduración) de cultivos de bayas, zanahorias, uvas, lechuga, cebollas, maní, pimientos, papas, espinacas, fresas, tabaco, tomate, céspedes y ornamentales (EPA, 2016; GPO, 2016). Los biofungicidas Cedomon®, Cedress® y Cerall®, con *Pseudomonas chlororaphis* cepa MA 342 como ingrediente activo, son usados para el tratamiento de enfermedades fúngicas transmitidas por semillas (*Drechslera graminea*, *Drechslera teres*, *Drechslera avenae*, *Tilletia caries*, *Ustilago avenae*, *Ustilago hordei*, *Fusarium* sp., *Stagonospora nodorum* y *Microdochium nivale*) en cultivos de monocotiledóneas (avena, centeno, trigo y cebada) (EFSA, 2017c).

En Colombia, la oferta de bioplaguicidas registrados es limitada y se restringe a ocho productos a base de *Trichoderma* (con al menos tres especies identificadas) y cinco a base de *Bacillus subtilis*. Estos se recomiendan para el control de algunos patógenos del suelo como *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum* y *Phytophthora* spp. (tabla 2.3).

Estudios de caso

En esta sección se presentan los modelos de patosistemas en los cuales el control biológico ha sido objeto de investigación y desarrollo de bioproductos; con una breve reseña de los fitopatógenos del suelo causantes de la enfermedad. Se incluyen los patosistemas *R. solani*-papa, *S. sclerotiorum*-soya y lechuga. También se presenta brevemente el modelo de bioplaguicida Tricotec® desarrollado por AGROSAVIA (antes Corpoica) como alternativa para el control de *F. oxysporum*, *R. solani* y *S. sclerotiorum* en Colombia.

Control biológico de *Rhizoctonia solani* en papa (Colombia)

En Colombia se cultivan cerca de 60 variedades de papa (unas más comercializadas que otras), producto básico de la canasta familiar y eje fundamental de la economía del país, que genera alrededor de 66.913 empleos directos (García, 2017). Sin embargo, la sostenibilidad del cultivo se ve amenazada por la incidencia de varias enfermedades, incluido el cáncer del tallo y la costra de los tubérculos causada por *R. solani*.

Control biológico de *R. solani*

El cultivo de papa es uno de los que emplea mayor cantidad de agroquímicos en Colombia. El uso de insecticidas y fungicidas aporta el 25 % de los costos directos de la producción, con 18 % y 7 % respectivamente (Borráez, 2011). A pesar de la aplicación de fungicidas, el control de *R. solani* no es totalmente satisfactorio, razón por la cual el control

Tabla 2.3. Microorganismos biocontroladores registrados en Colombia como bioplaguicidas para el control de patógenos del suelo

Microorganismo biocontrolador	Patógenos objetivo	Compañía y departamento en el que se comercializa
Bacillus subtilis (Ehrenberg) Cohn	Nematodos y *Fusarium* sp.	Bayer S. A. Core Biotechnology S.A.S. (Val) Laverlam S. A. (Val) Mezfer de Colombia Ltda. (Cun) Semillas Valle S. A. (Val)
Trichoderma atroviride (Karsten) Bissett	*Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*	Inproarroz Ltda. (Met)
Trichoderma koningiopsis (Samuels)	*Fusarium oxysporum*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Rhizoctonia solani*	Corpoica (Cun)
Trichoderma viride (Pers) (incluye productos vendidos como *Trichoderma lignorum*)	*Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*	Biocontrol (Val) Biocultivos (Tol) Laverlam S. A. (Val) Yaser S. A. S. (Val)
Trichoderma spp. (mezclas de diferentes especies)	*Phytophthora* spp., *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* spp.	Natural Control S. A. (Ant) Soluciones Microbianas del Trópico Ltda. (Cal)

Antioquia (Ant), Boyacá (Boy), Caldas (Cal), Casanare (Cas), Cauca (Cau), Cundinamarca (Cun), Magdalena (Mag), Meta (Met), Tolima (Tol), Valle del Cauca (Val)

Fuente: Adaptado del Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) (2018a, 2018b)

biológico con microorganismos antagonistas es una alternativa con alto potencial para el patosistema *R. solani*-papa.

Varios géneros de hongos y de bacterias han sido identificados como potenciales agentes de control biológico contra las enfermedades causadas por *R. solani* en papa: *Trichoderma* spp., *Gliocladium* spp., *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp. y *Streptomyces* spp., los cuales actúan mediante distintos mecanismos. Estos microorganismos son los que han ofrecido mejores resultados; algunos de ellos han sido registrados como productos comerciales en diferentes países de Europa y América: Trianum-G® (*T. harzianum*) (Wilson et al., 2008; Wilson et al., 2007), Root-Pro® (dos cepas de *T. harzianum*) (Tsror et al., 2001), Prestop® (*Gliocladium catenulatum*) (Wilson et al., 2008), RootShield® (*T. harzianum*) (Brewer & Larkin, 2005), SoilGard® (*T. virens*) (Brewer & Larkin, 2005), Kodiak® (*Bacillus subtilis* GB03) (Brewer & Larkin, 2005), *Pythium oligandrum* (Polyversum®) (Kurzawińska & Mazur, 2008), CX-9030 (*Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *Plantarum*), Proradix® (*Pseudomonas* sp.) (Moszczyńska et al., 2015), Actinovate® (*Streptomyces lydicus*) y Mycostop® (*Streptomyces griseoviridis*) (Wilson et al., 2008).

A continuación, se describen los estudios realizados en Colombia dirigidos al control de *Rhizoctonia* en papa, desde la selección *in vitro* de los biocontroladores hasta su evaluación en invernadero y en campo. Estos estudios demuestran el potencial de control de diferentes cepas de *Trichoderma* y *Pseudomonas*.

Chet y Baker (1981) reportaron en Colombia suelos supresivos de *R. solani* en los que encontraron que *T. hamatum* era el causante de este efecto en monocultivos de rábano. También encontraron que, en

suelos orgánicos de la sabana de Bogotá, la densidad de propágulos de *T. hamatum* (de $8x10^5$ propágulos.g^{-1}) es extremadamente alta en suelos con bajo pH, condición que resulta favorable para el desarrollo de la supresividad de *R. solani* y el incremento del antagonismo de *T. hamatum*.

Beltrán Acosta et al. (2007) evaluaron cinco aislamientos nativos de *Trichoderma* spp. (Th002, Th003, Th007, Th034, Th181) que presentaron eficiente actividad parasítica contra esclerocios de *R. solani*, de los cuales *T. koningiopsis* Th003 (antes *T. koningii*) —seleccionado previamente contra *R. solani* en tomate (Cotes et al., 2001)— y *T. asperellum* Th034 fueron los más eficientes. La actividad antifúngica de los aislamientos Th003 y Th034 fue evaluada contra *R. solani* en plántulas de papa (*Solanum tuberosum*) var.

Rhizoctonia solani

Rhizoctonia solani Kühn —teleomorfo: *Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk (Domsch et al., 1980)— es un hongo habitante del suelo que afecta más de 250 especies de plantas como patógeno (Banville, 1989; Ogoshi, 1987). Es el agente causal del chancro o cáncer del tallo de estolones y de raíces, y de la sarna o costra negra cuando se presenta como esclerocios (estructuras de latencia) en la superficie de los tubérculos de la papa (figura 2.12). *R. solani* no produce esporas asexuales y persiste como micelio o como esclerocios en el suelo (Keijer, 1996), además, se encuentra tanto en la superficie como en estratos profundos del suelo (CIP, 1996).

De acuerdo con la virulencia sobre sus huéspedes, su morfología, características moleculares y bioquímicas, *R. solani* se subdivide en grupos de anastomosis (GA) genéticamente distintos (Carling et al., 2002; Sharon et al., 2006). Los GA asociados a la papa son GA-1, GA-2-1, GA-2-2, GA3, GA- 4, GA-5, GA-7 y AG-9 (Banville, 1989; Campion et al., 2003; Tsror, 2010). De este grupo, el GA-3 subgrupo PT es el más frecuentemente aislado de la papa y el que genera más síntomas de la enfermedad en la mayoría de las áreas del mundo (Ceresini et al., 2002; Justesen et al., 2004; Lehtonen et al., 2008).

Chavarro y Ángel (2011) analizaron 42 aislamientos de *R. solani* obtenidos de cultivos comerciales de papa de los departamentos de Boyacá, Antioquia y Cundinamarca (Colombia). Mediante la amplificación de secuencias trascritas internas (ITS) de *R. solani*, encontraron que el grupo GA-3 es predominante entre los aislamientos del patógeno (86 %), mientras que los grupos GA2-1 y GA-1 representan el 9 % y el 5 % de los grupos presentes en las zonas de estudio. Posteriormente, en el trabajo realizado por Ferrucho et al. (2012) se encontró que, del 88 % de los aislamientos de una colección de 433 cepas colectadas en las principales zonas productoras de papa de Colombia, el grupo GA-3PT es el principal patógeno asociado con las enfermedades del chancro del tallo y la sarna negra de la papa, seguido por el GA-2-1 (2,5 %), mientras que los restantes correspondieron a cepas binucleadas de *R. solani* (GA-A, GA-E y GA-I).

Métodos de control de *R. solani*

La principal herramienta de control usada por los agricultores de papa es el control químico. Los fungicidas para el control de *R. solani* pueden dirigirse tanto al inóculo presente en los tubérculos como al suelo del cultivo. La aplicación de ingredientes activos como tiofanato-metilo, flutolanil, pencycuron y azoxistrobin en tubérculo-semilla elimina en gran medida este inóculo (Campion et al., 2003; Errampalli et al., 2006; Wilson et al., 2008). Sin embargo, el control de *R. solani* en el suelo es variable y los fungicidas son menos eficaces cuando los niveles iniciales del patógeno son altos (Brewer & Larkin, 2005; Tsror & Peretz-Alon, 2005).

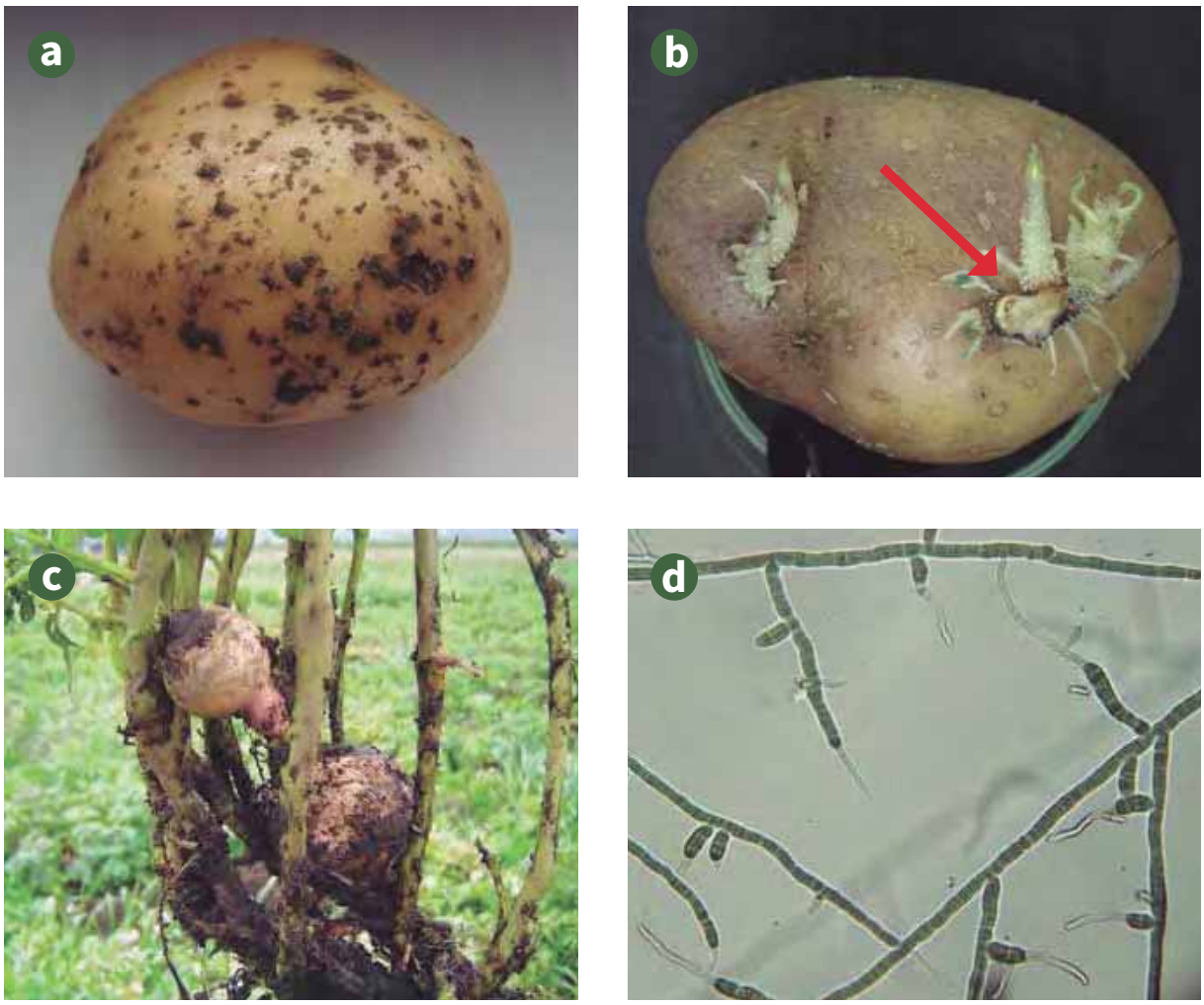


Foto: Camilo Beltrán y Carlos Andrés Moreno

Figura 2.12. Síntomas y signos de la enfermedad conocida como rizoctoniasis de la papa causada por *R. solani*. a. Esclerocios de *R. solani* formados en la superficie del tubérculo; b. La flecha indica la necrosis causada por *R. solani* en el ápice de los brotes de la semilla de papa; c. Tubérculos aéreos formados en plantas de papa var. Parda pastusa, uno de los síntomas típicos que se presentan en campo; d. Vista microscópica de las hifas de *R. solani*.

Parda pastusa, con lo cual se evidenció una alta actividad antagonista (reducción de la incidencia de 45 % y 19 %, respectivamente) y también efectos de promoción de crecimiento vegetal (Beltrán-Acosta, 2004; Beltrán Acosta et al., 2007).

En otros estudios, Bautista et al. (2007) seleccionaron seis cepas de *Pseudomonas fluorescens* que inhibieron el crecimiento *in vitro* de *R. solani*. Las cepas IBPf.33 e IBPf.63 mostraron mayor colonización de las raíces de plantas de papa (*Solanum phureja*) en presencia de *R. solani* en comparación con las plantas sin el patógeno. Todas las cepas de *Pseudomonas* evaluadas redujeron significativamente la severidad de la enfermedad en comparación con el testigo patógeno, en el que se produjeron deformaciones severas y mayor formación de esclerocios en los tubérculos (Bautista et al., 2007).

Simultáneamente, las cepas de *P. fluorescens* aumentaron de forma importante el número y el peso de tubérculos en ausencia del patógeno, en comparación con el testigo no tratado. La cepa IBPf.63 presentó el mayor aumento del rendimiento: dos veces más en comparación con el testigo no tratado y con el testigo patógeno. Las cepas restantes presentaron menos producción de tubérculos comparadas con IBPf.63 (entre 25 % y 48 %) y menos

peso (entre 11 % y 74 %), pero fueron significativamente mayores que el control. La inoculación con cepas de *P. fluorescens* en presencia del patógeno evitó el desarrollo de tubérculos deformados y redujo significativamente el ataque de la enfermedad, que no expresó niveles severos en comparación con el testigo patógeno (Bautista et al., 2007). La promoción del crecimiento de las plantas de papa por algunas cepas de *Pseudomonas* sp. se correlacionó notablemente con la colonización, la supresión de la enfermedad y el rendimiento, lo que sugiere que la asociación de las cepas de *P. fluorescens* con la rizosfera de *S. phureja* y su capacidad antagónica frente a *R. solani* está influenciada por la capacidad de colonización de las bacterias (Bautista et al., 2007).

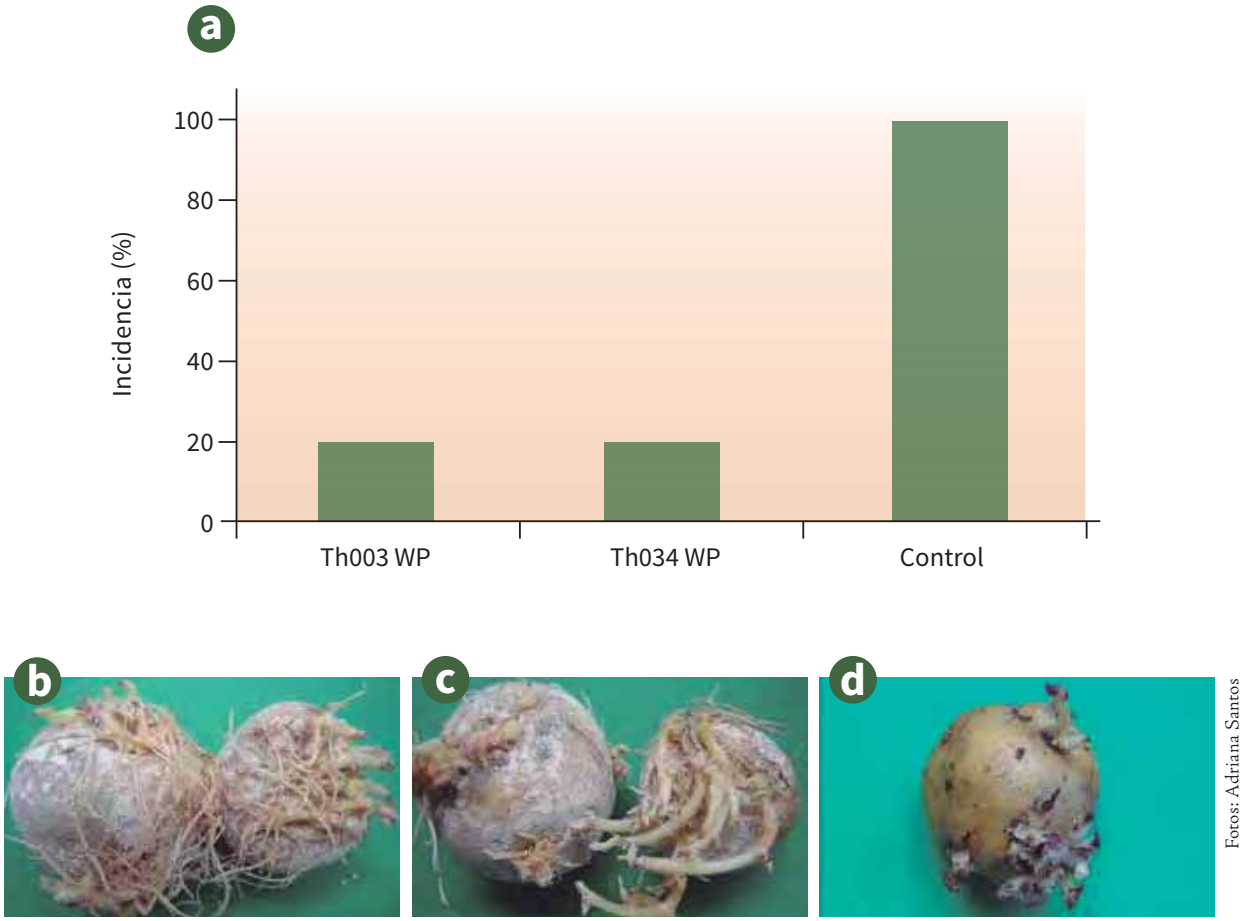
La producción de diferentes compuestos antagonistas de cada uno de los aislamientos proporciona una ventaja selectiva sobre la colonización de la rizosfera, incluso si son de la misma especie o de especies relacionadas (Mazzola, 1998; Raaijmakers et al., 1995). Uribe et al. (1999) encontraron que *P. fluorescens* fue la especie dominante en la rizosfera y el rizoplano tanto de *S. tuberosum* como de *S. phureja*. Otros estudios que usaron combinaciones compatibles de *P. fluorescens* han revelado los beneficios de esa estrategia para proporcionar un mayor control de diferentes fitopatógenos, cuyos resultados mejoran al expandir el espectro de metabolitos antifúngicos o los mecanismos más allá de los producidos individualmente (Mazzola, 1998; Pierson & Weller, 1994; Sindhu et al., 2002; Weller & Cook, 1983).

El grupo de investigación Control Biológico de Plagas Agrícolas de Corpoica desarrolló dos prototipos de formulación: polvo mojable (WP) y granulado dispersable (WG) a base de los antagonistas *T. koningiopsis* (Th003) y *T. asperellum* (Th034), cuya eficacia fue evaluada contra *R. solani* en plántulas de papa. Las formulaciones WP de ambos antagonistas fueron más eficaces en la reducción de la enfermedad (Beltrán-Acosta et al., 2010). Posteriormente, Th003 y Th034 fueron utilizados por Santos et al. (2011) como principios activos de dos prototipos de bioplaguicida formulados como polvos para espolvoreo, los cuales se aplicaron sobre tubérculos-semilla de papa criolla (*S. phureja*) var. Yema de huevo, que tenían una densidad de 8 a 10 esclerocios de *R. solani* por tubérculo y fueron almacenados durante 15 días antes de la siembra. Los dos bioplaguicidas redujeron en 80 % la incidencia de *R. solani* en los brotes en comparación con la semilla de papa no tratada, en la cual la incidencia de la enfermedad fue del 100 % (figura 2.13a). Los brotes de la semilla tratada con los bioplaguicidas presentaron mayor vigor en términos de diámetro, longitud y peso, en comparación con los brotes de la semilla no tratada (figuras 2.13b - 2.13d).

Los tubérculos tratados se sembraron en suelo inoculado con *R. solani* y se evaluó la incidencia de la enfermedad y el peso seco de la planta. Se obtuvo, entonces, una eficacia de 86 % con Th003 y de 71 % con Th034 en comparación con el testigo patógeno, el cual presentó una incidencia del 100 % (Santos et al., 2011). Así mismo, se evidenció micoparasitismo de las cepas Th003 y Th034 sobre *R. solani*. Los prototipos de bioplaguicida a base de *T. koningiopsis* Th003 redujeron la formación de esclerocios en la superficie de minitubérculos de papa (*S. tuberosum*) (semilla élite) hasta en 62 % y aumentaron los rendimientos hasta en 26 % (Beltrán-Acosta et al., 2010).

Hasta donde conocemos, el último trabajo publicado sobre control biológico de *R. solani* en Colombia es el de Hoyos et al. (2012), quienes evaluaron cinco cepas de *Trichoderma* spp. aisladas de diferentes agroecosistemas de Cundinamarca, Boyacá y Cesar: la cepa T41 aislada del suelo, T51 de la rizosfera de plantas de papa criolla, T48 proveniente de suelo de potreros, T07 aislada de maracuyá y T96 proveniente de arena de río. Estos aislamientos en concentración de $1x10^5$ conidios. g^{-1} de suelo se aplicaron 24 horas después de la siembra de tubérculos-semilla de papa criolla var. Colombia (*Solanum tuberosum* grupo phureja) y en el momento del aporque, en condiciones de invernadero y en presencia de inóculo artificial de *R. solani* en el sustrato de siembra. Se cuantificó el número total de tallos emergidos, la incidencia de rizoctoniasis y la longitud de la lesión causada por *R. solani* en el tallo. En poscosecha se evaluó el número, el peso y el tamaño de los tubérculos, así como la formación de esclerocios expresada como un porcentaje de severidad.

Los tratamientos T48, T07 y T51 redujeron la incidencia de la enfermedad en 85 %, 63 % y 58 %, respectivamente, comparados con el testigo no tratado. Los menores porcentajes de severidad en los tubérculos se obtuvieron con los tratamientos T51 y T48, seguidos por T41 y T07 (Hoyos et al., 2012). De forma



Fotos: Adriana Santos

Figura 2.13. Efecto biocontrolador de *Trichoderma* spp. sobre *R. solani* en tubérculos de papa. a. Efecto de prototipos de bioplaguicida en polvos mojables (WP) a base de *T. koningiopsis* (Th003) y *T. asperellum* (Th034) sobre la incidencia de *R. solani* en semilla de papa criolla; b. Semilla tratada con el bioplaguicida a base de Th003; c. Semilla tratada con el bioplaguicida a base de Th034; d. Semilla de papa no tratada (control). Obsérvese la necrosis en los brotes y el poco desarrollo de raíces en las semillas no tratadas, en contraste con los brotes más desarrollados y las raíces de mayor longitud en las semillas tratadas con los bioplaguicidas.

Fuente: Santos et al. (2011)

general, los tratamientos T07, T48 y T51 mostraron los mejores resultados para las variables de sanidad y fisiología de la planta evaluada, además, fueron los más eficientes en el proceso de adaptación y colonización del sustrato frente a las cepas restantes, por lo tanto, tuvieron mejor actividad de control sobre rizoctoniasis y mejores indicadores en poscosecha. La capacidad antagónica de los aislamientos probados se correlacionó con su capacidad metabólica (producción de enzimas y antibióticos), con el micoparasitismo, la adaptación al medio y la afinidad con la planta (Hoyos et al., 2012).

Control biológico de *Sclerotinia sclerotiorum* en soya (*Glycine max*) (Brasil)

Actualmente, la soya es el principal cultivo agrícola del Brasil. De acuerdo con el Instituto Brasileiro de Geografía e Estatística [IBGE] (2016) y Companhia Nacional de Abastecimento [Conab] (2016), el área cultivada con soya fue de 32,96 millones de hectáreas

en 2015, lo cual representa el 49 % del área del cultivo de granos en el país. La producción en ese año fue de 95 millones de toneladas. Estas cifras ubican la producción de soya como una de las actividades económicas que más crecieron en Brasil en los últimos años y la más importante en términos de exportación de productos básicos del país.

Entre las enfermedades que afectan la soya, el moho blanco —causado por *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary— es una de las enfermedades más antiguas reportadas en este cultivo. La ocurrencia y los daños causados por este patógeno vienen aumentando, tanto en las áreas tradicionales de cultivo del sur y del sudeste brasileño como en las áreas más altas de la región de El Cerrado. La productividad de soya puede reducirse hasta en 70 % a causa de esta enfermedad, y se estima que el 23 % del área de producción brasileña de soya está infestada con el patógeno (Meyer et al., 2014). Este último está distribuido en las áreas de los principales países productores de soya —en las que se incluyen Estados Unidos, Argentina y Brasil (Wrather et al., 2001)— y presenta una amplia gama de plantas hospedero, lo que dificulta aún más su manejo. Otro factor que dificulta su control es la capacidad del patógeno para sobrevivir en el suelo por largos periodos, gracias a su estructura de resistencia: los esclerocios. Los esclerocios son los responsables de desencadenar nuevos ciclos de la enfermedad, pues, al germinar, originan los apotecios, que producen una gran cantidad de ascosporas, estructuras infectivas del patógeno.

El hongo puede atacar toda la parte aérea de la planta, como las hojas, el tallo y las vainas. También puede infectar cualquier parte de la planta, pero las infecciones inician con mayor frecuencia a partir de las inflorescencias, las axilas, los pecíolos y las ramas laterales. Una vez infectados los tejidos, se observa pudrición de ramas, vainas, hojas y tallo principal, incluso, se llega a la muerte de la planta. La formación de moho blanco sobre los tejidos infectados permite identificar fácilmente la enfermedad. Los esclerocios se forman en los tejidos enfermos, caen al suelo durante la cosecha y se convierten en fuente de inóculo para el cultivo subsiguiente. El hongo se beneficia con la alta humedad del suelo, temperatura entre 15 °C y 25 °C y poca incidencia de luz solar (Meyer et al., 2010).

Mediante un enfoque de metaanálisis —llevado a cabo para evaluar la relación entre la incidencia del moho blanco y la productividad de la soya, y la relación entre la incidencia de la enfermedad y la producción de esclerocios— Lehner, Pethybridge, Meyer y Del Ponte (2017) estimaron que, en ausencia de un manejo adecuado, las pérdidas brasileñas con el moho blanco son de aproximadamente 1,47 mil millones de dólares, anualmente. Para llegar a esos valores, los autores asumieron un promedio de 43 % de incidencia en el 22 % del área cultivada en el país. En el mismo trabajo, estos autores estimaron una reducción de 172,4 kg/ha en la producción de soya por cada 10 % de aumento en la incidencia del moho blanco. Otra estimación absolutamente importante obtenida por los autores es que se produce aproximadamente 1 kg de esclerocios/ha por cada 10 % de aumento de la incidencia de la enfermedad.

Estas estimaciones se basan en informaciones obtenidas en seis estados brasileños (Paraná, São Paulo, Minas Gerais, Mato Grosso del Sur, Mato Grosso y Goiás), a partir de 35 trabajos en campo para establecer la relación entre la incidencia de la enfermedad y la productividad del cultivo, así como en 29 ensayos realizados para estudiar la relación entre la incidencia de la enfermedad y la producción de esclerocios. De acuerdo con Lehner et al. (2016), estos resultados destacan el impacto potencial que el moho blanco puede llegar causar en la agricultura brasileña si no se maneja adecuadamente. Así, Lehner et al. (2016) sugieren la combinación de otras estrategias, además del uso de fungicidas, como las variedades resistentes, el control biológico y las prácticas culturales que ayuden a evitar o reducir los daños causados por la enfermedad en el cultivo de la soya.

La integración de las técnicas disponibles es fundamental para el manejo de la enfermedad. De esta forma, se recomienda el uso de semillas sanas, el uso de cobertura de paja originaria de gramíneas, la rotación de cultivos con especies no hospederas, el uso de fungicidas en el periodo de mayor vulnerabilidad de la planta (estadios R1 a R4), el uso de variedades precoces, el uso de densidades de siembra adecuadas a las cultivares y la limpieza de las máquinas para evitar la diseminación de esclerocios, entre otras. Finalmente, una de las recomendaciones que se vienen realizando en los últimos años es la introducción de antagonistas con

capacidad para controlar las estructuras del patógeno (Meyer et al., 2016). De esta forma, la recomendación de control biológico de la enfermedad se convirtió en un aspecto fundamental para el éxito del manejo del moho blanco en el cultivo de soya.

Entre los agentes de control biológico registrados por el Ministerio de Agricultura, Pecuaria y Abastecimiento de Brasil (tabla 2.4) para el control del moho blanco de la soya, están *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma asperellum*, *Bacillus subtilis* y *Bacillus amyloliquefaciens* (Agrofit, 2017). Sin embargo, existen otros organismos que están disponibles en el mercado, pero aún no debidamente registrados. Gorgen et al. (2010) estudiaron el control del moho blanco en soya con paja y *Trichoderma harzianum*, en cultivos comerciales en el estado de Goiás, entre 2006 y 2008. En este trabajo, los autores afirmaron que la formación de cobertura puede tornarse primordial para la utilización de control biológico, pues la actividad biocontroladora fue mayor en el ambiente formado por la paja. Con la aplicación de *Trichoderma* en dosis de 0,5 L/ha y 1 L/ha de un producto que contenía $2x10^9$ esporas viables/mL, en ambiente con paja en el suelo, Gorgen et al. (2010) verificaron el aumento del número de esclerocios de *Sclerotinia sclerotiorum* parasitados por *Trichoderma*,

Tabla 2.4. Bioplaguicidas registrados en Brasil en junio de 2017 y biofungicidas recomendados para el control de *Sclerotinia sclerotiorum*

Agente de control biológico	Número de productos registrados	Área tratada (hectárea)	Característica
Control biológico de enfermedades de plantas			
Aspergillus flavus NRRL21882	1		Biofungicida
Bacillus amyloliquefaciens	2		Bionematicida
Bacillus amyloliquefaciens	1		Biofungicida
Bacillus firmus	3		Bionematicida
Bacillus licheniformis + *Bacillus subtilis*	2		Bionematicida
Bacillus methylotrophicus	1		Bionematicida
Bacillus pumilus	1		Biofungicida
Bacillus subtilis	3		Biofungicida
Paecilomyces lilacinus	1		Bionematicida
Pochonia chlamydosporia	1		Bionematicida
Trichoderma asperellum	3	5.500.000	Biofungicida
Trichoderma harzianum	5		Biofungicida
Trichoderma stromaticum	1		Biofungicida
Para el control de *Sclerotinia sclerotiorum*			
Bacillus amyloliquefaciens	1	Cerca de 6.000.000 ha	
Bacillus subtilis	1		
Trichoderma harzianum	5		
Trichoderma asperellum	2		

Fuente: Elaboración propia

la reducción del número de apotecios formados/m^2, el aumento del rendimiento de la soya y la reducción de la incidencia del moho blanco.

Debido a la importancia del moho blanco de la soya y de la demanda de información para establecer las estrategias de control, un grupo de investigadores brasileños organizaron los "Ensayos cooperativos de control biológico de moho blanco en el cultivo de soya" (Meyer et al., 2016; Meyer et al., 2017; Meyer et al., 2014). De esta forma, de acuerdo con Meyer et al. (2016), se realizaron estudios en las cosechas de 2011/2012, 2012/2013, 2013/2014 y 2014/2015 en diversas localidades y con la participación de 14 instituciones brasileñas de investigación agropecuaria, 10 empresas y 17 investigadores. Se reportan, a continuación, algunos de los principales resultados presentados por Meyer et al. (2016) para las cosechas 2011/2012 y 2014/2015 y por Meyer et al. (2017) para la cosecha 2015/2016.

En la cosecha 2011/2012, se realizaron experimentos en ocho localidades brasileñas: Chapadão do Sul, MS; Goianira, GO; Capão Bonito, SP; Palmera, PR; San Miguel do Passa Quadro, GO; Montividiu, GO; Uberlândia, MG, y São Desidério, BA, en un sistema de siembra directa sobre paja de gramíneas. Las variedades de soya fueron las adecuadas para cada región y en los experimentos se aplicaron dos productos a base de *Trichoderma asperellum*, uno a base de *Trichoderma harzianum* (1 a 2 x 10^9 ufc/mL o g de producto) y un producto a base de lignosulfonato en los estadios V2 y V4. También se incluyó un tratamiento con dos aplicaciones de fungicida (fluazinam + tiofanato de metilo) en los estadios R1 y 10 días después. En este ciclo de cultivo no hubo aplicación de fungicida en la floración conforme a la recomendación.

Se midió la incidencia del moho blanco, la densidad de esclerocios producidos y la productividad de la soya. El análisis conjunto de los datos evidenció los siguientes resultados: 1) incidencia del moho blanco del 31,4 % en el tratamiento control; 2) todos los tratamientos con los biofungicidas diferían del tratamiento control en relación con la incidencia de la enfermedad, presentando una reducción en la incidencia entre 20,4 % y 37,4 %; 3) la eficacia del lignosulfonato a base de extracto vegetal fue del 39,4 % y, con fungicidas, del 71,3 %; 4) el aumento de la productividad estuvo entre 4,7 % y 10,4 % en los tratamientos con los biofungicidas, y 16,4 % con los fungicidas (Meyer et al., 2016).

En la cosecha 2014/2015, se realizaron experimentos en diez localidades brasileñas: Silvânia, GO; Montividiu, GO; Chapadão do Sul, MS; Ponta Grossa, PR; Palmeira, PR; Goianira, GO; Rio Verde, GO; Jataí, GO; Uberlândia, MG, e Luiz Eduardo Magalhães, BA, también en sistema de siembra directa sobre paja de gramíneas. En este ciclo de cultivo, los productos biológicos (*Trichoderma asperellum*, *Trichoderma harzianum*, *Bacillus pumilus* y *Bacillus amyloliquefaciens*) se aplicaron en los estadios de desarrollo V2 y V4, y el fungicida fluazinam, en el estadio R1. También se evaluaron los tratamientos con y sin el fungicida en el estadio R1. Se midió la viabilidad de los esclerocios de *S. sclerotiorum*, la incidencia del moho blanco y la productividad de la soya. Para estudiar la viabilidad de los esclerocios, estos fueron colocados en bolsas de tela de nailon, distribuidos entre la superficie del suelo y la paja.

La recolección de los esclerocios se llevó a cabo después de la primera y la segunda aplicación de los microorganismos biocontroladores, justamente para evaluar el efecto de esos antagonistas sobre la germinación miceliogénica y carpogénica. En relación con la germinación carpogénica de los esclerocios de *Sclerotinia*, se observó que todos los tratamientos con los agentes de control biológico redujeron el porcentaje de apotecios formados en comparación con el testigo, cuya reducción fue del 49 % al 75 % con una aplicación de los bioagentes, y del 55 % al 89 % con dos aplicaciones de los biocontroladores.

Como resultado importante, también se evidenció que una aplicación de biofungicidas proporcionó aumento en la mortalidad de esclerocios (entre 32 % y 51 %) en relación con el testigo. En este ciclo, Meyer et al. (2016) observaron baja incidencia del moho blanco, pues ocurrió una escasez de lluvias en el periodo comprendido entre el preflorecimiento y el inicio de la formación de granos. Así, los autores no encontraron diferencias estadísticamente significativas de productividad entre los tratamientos. Con base en estos resultados, los autores consideraron que la eficiencia del control biológico de moho blanco en soya depende de las condiciones de ambiente favorables a la colonización e infección de los esclerocios del patógeno, y que es prerrequisito la cobertura del suelo con paja.

Meyer et al. (2017) realizaron experimentos en la cosecha 2015/2016 en trece localidades brasileñas: Silvânia, GO; Montividiu, GO; Chapadão do Sul, MS; Ponta Grossa, PR; Palmeira, PR; Goianira, GO; Rio Verde, GO (3 locais); Jataí, GO; Uberlândia, MG; Campo Verde, MT, e Luiz Eduardo Magalhães, BA, en el sistema de siembra directa de la soya sobre paja de gramíneas, para evaluar los efectos de cuatro productos biológicos a base de *Trichoderma asperellum* (dos a base de *Trichoderma harzianum*, uno a base de *Bacillus pumilus* y uno a base de *Bacillus subtilis*), todos aplicados en los estadios de desarrollo V2 y V4.

Con dos aplicaciones de los bioagentes, se observó una reducción en la germinación carpogénica en relación con el testigo (entre el 67 % y el 100 %); el 100 % se obtuvo con la aplicación de *Bacillus pumilus*. La colonización de esclerocios por *Trichoderma* dependió del aislamiento, con una variación de 14 % a 37,4 %. En relación con el porcentaje de viabilidad de esclerocios, *Bacillus pumilus* y *Bacillus subtilis* presentaron valores de reducción de la viabilidad de 18,3 % y 22,6 %, respectivamente; mientras que con *Trichoderma* este valor estuvo entre el 9,1 % y el 21,1 %. Si se consideran los resultados de las trece localidades, los autores afirman que es posible reducir el potencial de inóculo de *S. sclerotiorum* en el suelo empleando los biofungicidas, aunque el desempeño de estos depende de las condiciones ambientales. Los autores también afirman que los biofungicidas inhibieron significativamente la capacidad de formación de apotecios, lo que es importante para la reducción de la incidencia de moho blanco en las plantaciones de soya.

El potencial de *Bacillus* spp. en inhibición de la germinación de ascosporas y la formación de esclerocios de *S. sclerotiorum* (Monteiro et al., 2013; Rahman et al., 2016; Vinodkumar et al., 2017) indica que sería importante el desarrollo de estudios en campo, en los cuales se integren los agentes de biocontrol que presentan diferentes mecanismos de acción, como *Trichoderma* spp. y *Bacillus* spp. De esta forma, podría ocurrir el parasitismo de los esclerocios por *Trichoderma* y una potencial reducción en la viabilidad de las ascosporas por *Bacillus*. Si se tienen en cuenta los resultados obtenidos por Meyer et al. (2016), Meyer et al. (2017) y Lehner et al. (2016), se debería implementar la sugerencia de la integración de todas las estrategias disponibles —entre ellas, el biocontrol— para el manejo del moho blanco de la soya, con el fin de evitar o reducir los daños causados por la enfermedad en este cultivo en Brasil.

Uso de *Trichoderma koningiopsis* Th003 en esquemas de manejo integrado del moho blanco de la lechuga y del marchitamiento vascular del tomate (Colombia)

El cultivo de lechuga en Colombia representa una actividad importante económicamente, porque genera empleo en varias zonas rurales del país. Sin embargo, los rendimientos de 22 t/ha^{-1} están por debajo del promedio de los principales países productores. Esta pérdida en los rendimientos se debe principalmente a la incidencia de la enfermedad del moho blanco, que, como se conoce en Colombia y en muchos otros países, es causada por las especies de hongos *Sclerotinia sclerotiorum* y *S. minor* (Moreno et al., 2010; Subbarao, 1998), presentes en todas las regiones del mundo donde se produce lechuga. En California —la principal zona productora de lechuga de los Estados Unidos—, por ejemplo, se han registrado pérdidas del 60 %, y se estima que debido a esta enfermedad se pierden anualmente cerca de 150 millones de dólares en el mundo (Davis, 2001).

En los municipios de la Sabana de Occidente, en el departamento de Cundinamarca, Colombia, se encontró que la incidencia de la enfermedad varía entre el 12 % y el 33 % para el caso de *S. sclerotiorum*, mientras que para *S. minor* puede variar entre el 25 % y el 51 %. Cuando los dos patógenos se presentan en una misma área, la enfermedad puede alcanzar un promedio de incidencia del 45 %. A pesar del uso de los fungicidas recomendados para el control de *Sclerotinia* spp., en ningún caso se aprecia una estabilidad de la curva de progreso de la epidemia (figura 2.14). En la mayoría de los casos, los agricultores aplican los fungicidas Iprodione y Procimidona; en otros casos, emplean Captan y Validamicina, con 10 aplicaciones por ciclo de cultivo, lo cual representa en promedio el 17 % de los costos totales de producción en una hectárea, incluyendo la mano de obra para realizar las aplicaciones (Moreno et al., 2010).

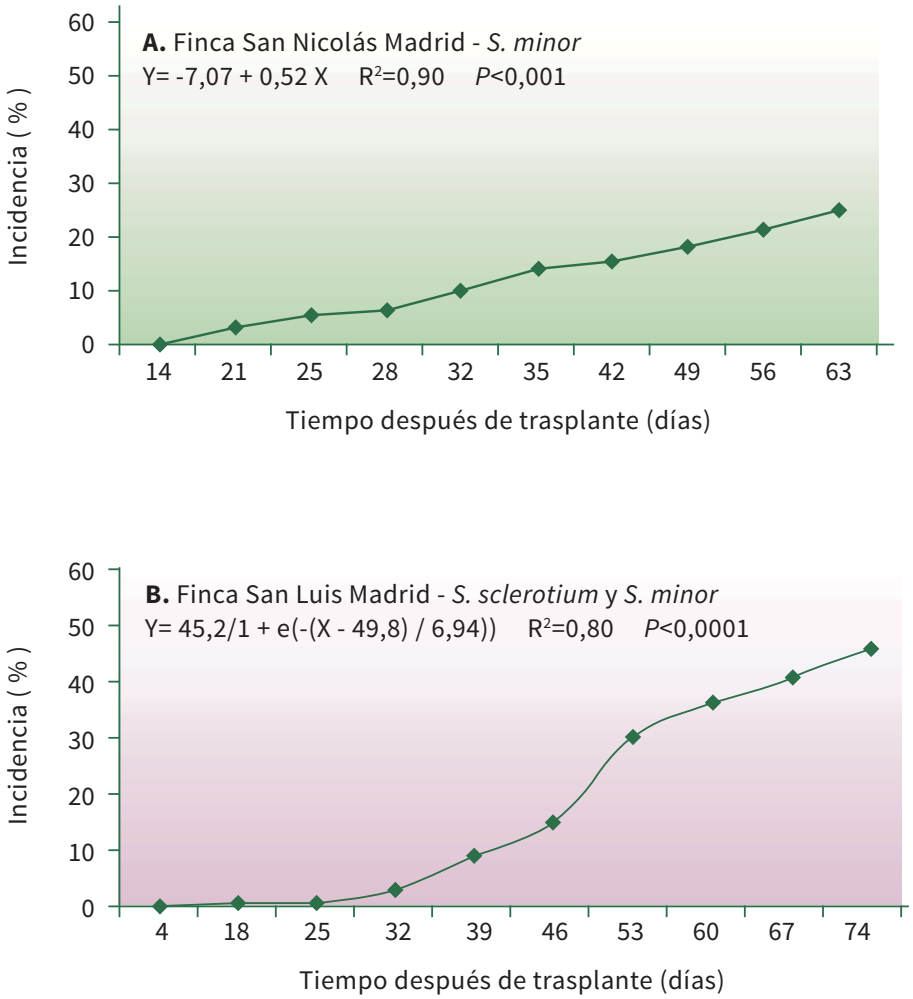


Figura 2.14. Curvas de progreso de la incidencia de la enfermedad del moho blanco de la lechuga en cultivos comerciales del municipio de Madrid, Cundinamarca. Durante el ciclo de cultivo, el agricultor aplicó fungicidas y realizó sus prácticas agronómicas de rutina; no obstante, los métodos de control convencionales no fueron satisfactorios, ya que el progreso de la enfermedad fue continuo durante el ciclo de cultivo.

Fuente: Moreno et al (2010)

Por sus excelentes atributos como agente de control biológico contra fitopatógenos, el hongo *Trichoderma koningiopsis* Th003 fue uno de los principales temas de investigación del grupo de investigación Control Biológico de Plagas Agrícolas de Corpoica entre 1994 y 2018. Esta cepa es el principio activo del bioplaguicida Tricotec® WP, desarrollado por Corpoica y registrado en el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) para el control de los fitopatógenos *Fusarium oxysporum, Rhizoctonia solani* y *Sclerotinia sclerotiorum* en cultivos de tomate, lechuga y arroz. En condiciones controladas, Tricotec® redujo la severidad de la enfermedad tizón de la vaina del arroz entre 40 % y 60 % y, en condiciones de campo, redujo la incidencia y la severidad de la enfermedad en 35 % y 29 %, respectivamente. La severidad del marchitamiento vascular del tomate (causado por *F. oxysporum*) fue reducida por Tricotec WP (1 g/L) en un 34 %. La incidencia de la muerte de plántulas de tomate causada por *R. solani* fue reducida por Tricotec en 31 %, y la incidencia del moho blanco de las plantas de lechuga fue reducida por Tricotec® en 34 % en condiciones de campo.

S. sclerotiorum

Sclerotinia sp. es un hongo fitopatógeno que ocasiona la enfermedad del moho blanco en un amplio rango de huéspedes, lo que incluye cultivos de lechuga, tomate, fríjol, girasol, soya y canola, entre otros (Ávila de Moreno & Velandia, 1992; Purdy, 1979; Ren et al., 2007). Es una de las enfermedades más destructivas a nivel mundial, que genera pérdidas por encima del 70 % en los cultivos (Davis, 2001). En Colombia, esta enfermedad es de gran importancia en el cultivo de lechuga, pues ha causado altas pérdidas económicas, que disminuyen entre el 30 % y el 50 % de la población de las plantas (Pérez et al., 2011).

Las especies *Sclerotinia minor* Jagger y *S. sclerotiorum* (Lib.) de Bary son los agentes causales de la enfermedad moho blanco. Estas especies se caracterizan por infectar principalmente las plantas cercanas a la madurez del cultivo (Abawi & Grogan, 1979; Davis, 2001). Las dos especies de *Sclerotinia* sp. producen formas de resistencia denominadas esclerocios o cuerpos latentes; estas estructuras mantienen inactivo al hongo por extensos periodos de tiempo en el suelo, incluso bajo condiciones desfavorables para su crecimiento (Adams & Ayers, 1979; Chet & Henis, 1975) (figura 2.15). Los esclerocios pueden germinar formando hifas vegetativas que se agrupan para conformar un micelio blanco algodonoso e infectar la corona y la raíz de la lechuga, produciendo lesiones de color café y ocasionando el marchitamiento de las hojas, las cuales luego caen planas sobre el suelo. Posteriormente, ocurre la colonización de los tejidos y su pudrición blanda acuosa hasta ocasionar la muerte de la planta (Adams & Tate, 1976; Marcum et al., 1977).

En el caso de *S. sclerotiorum*, a partir de la germinación carpogénica de los esclerocios se forma micelio y, a partir de este, se desarrollan apotecios (figura 2.15f) (solo bajo óptimas condiciones de humedad y temperatura), lo cual da lugar a otro tipo de infección por diseminación de las ascosporas contenidas dentro de estas estructuras. Las ascosporas se esparcen por el aire hasta llegar a plantas sanas lejanas u otro tipo de cultivos, para dar inicio nuevamente al ciclo de vida y ocasionar la enfermedad (Davis, 2001; Subbarao, 1998).

La tendencia con respecto al manejo de la enfermedad del moho blanco ha sido utilizar fungicidas de síntesis química. Benomil fue uno de los fungicidas más utilizados para el control de moho blanco (Torkewitz, 2008) en girasol, repollo, fríjol (Ferreira & Boley, 1992) y lechuga. Otros ingredientes activos como el Iprodione y la Procimidona modificaron el manejo de la enfermedad, empleando otros tipos de moléculas que demostraron un aumento significativo en el control de la infección por *Sclerotinia* spp. (Subbarao, 1998).

Otro manejo que se ha implementado en el tratamiento de la enfermedad del moho blanco ha sido el control biológico. Varios estudios han demostrado el gran potencial que tiene el hongo *Coniothyrium minitans* como micoparásito de los esclerocios de *Sclerotinia minor* y *S. sclerotiorum*, mediante la producción de enzimas extracelulares y otros metabolitos, lo que lo hace óptimo para el control de las enfermedades ocasionadas por *Sclerotinia* (McQuilken et al., 2003).

Fotos: Carlos Andres Moreno y Maurício Meyer

Figura 2.15. *S. sclerotiorum* y *S. minor* como patógenos de lechuga y soya. a. Residuos de cosecha y plantas de lechuga no cosechadas debido a la infección con *S. sclerotiorum*. Generalmente estos residuos no se retiran del suelo, sino que se incorporan cuando se hace la labranza del siguiente cultivo, quedando en el suelo un banco de esclerocios y micelios en los residuos vegetales y en el suelo; b. Colonias de *S. minor* en medio de cultivo PDA (potato dextrose agar); c. Colonias de S. *sclerotiorum* en medio de cultivo PDA; d. Esclerocios de *S. sclerotiorum* formados en la cabeza de la planta de lechuga; e. Esclerocios de *S. minor* formados en la cabeza de la planta de lechuga; f. Apotecios formados desde esclerocios de *S. sclerotiorum* inoculados artificialmente en suelo; g. Plantas de soya infectadas por *S. sclerotiorum*. Nótese el micelio algodonoso de color blanco y los esclerocios formados sobre las ramas de la planta; h. Estado avanzado de la enfermedad causada por *S. sclerotiorum* en plantas de soya.

F. oxysporum

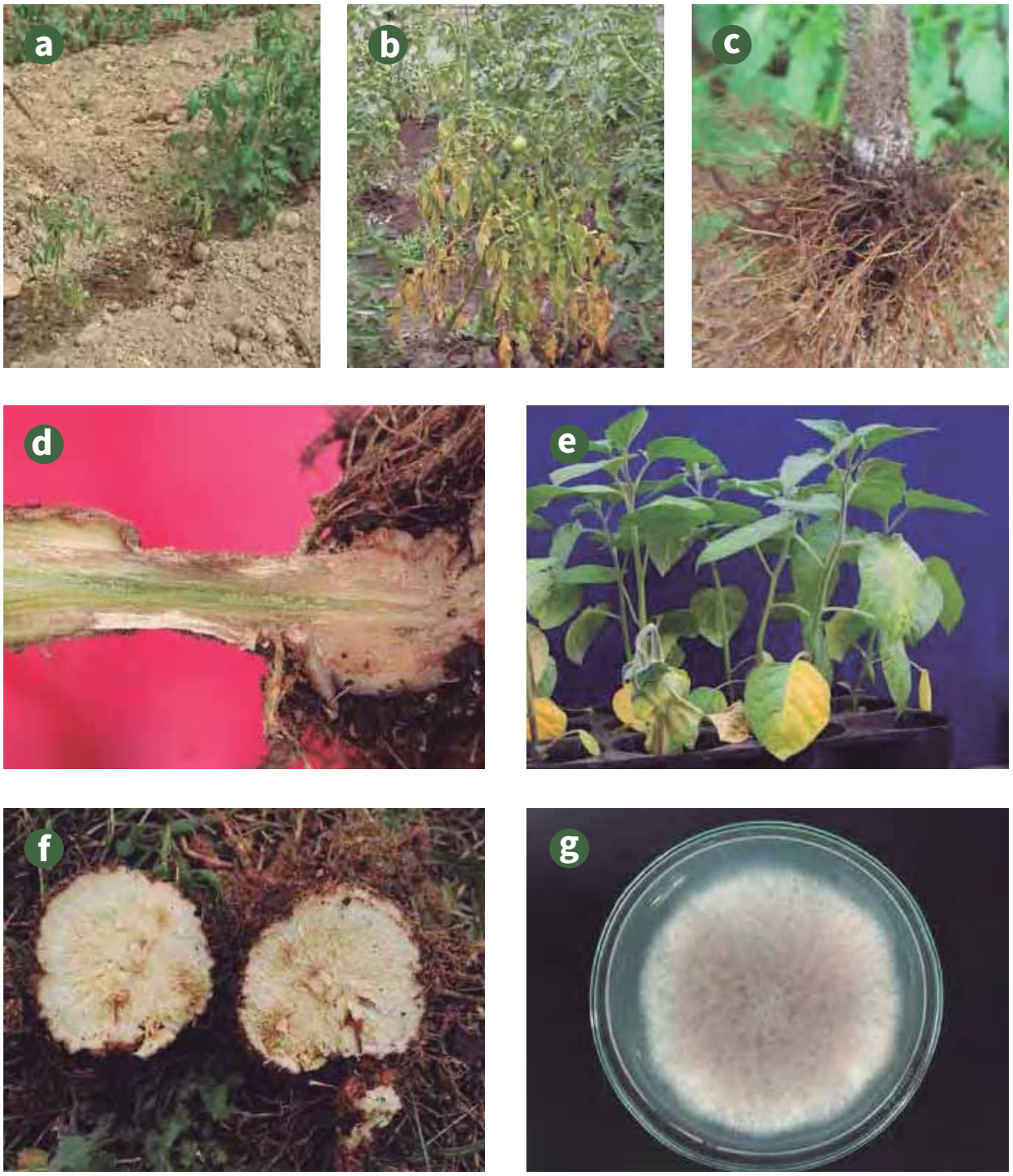
Dada su importancia, *F. oxysporum* ha merecido gran atención de la comunidad científica, y se ha generado un volumen importante de conocimiento sobre este, que ha permitido entender su relación con los hospederos de mayor importancia económica o en plantas modelo, como *Arabidopsis thaliana* y *Solanum lycopersicum*. No obstante, debido a su alta variabilidad genética y a la relación particular que puede llegar a tener con cada hospedero, cada patosistema merece ser estudiado con el ánimo de manejar eficientemente la enfermedad. *F. oxysporum* es un patógeno de raíz hemibiótrofo, esto significa que actúa típicamente como biótrofo en estadios tempranos de su ciclo de vida, se alimenta de células vivas del hospedero y establece la infección antes de cambiar a una fase necrótrofa para completar su ciclo de vida (Brown & Ogle, 1997). Infecta alrededor de 100 especies de plantas cultivadas (Beckman, 1987) y, como habitante del suelo, puede sobrevivir por largos periodos de tiempo en ausencia del hospedero, en forma de clamidosporas principalmente (Agrios, 2015).

Los exudados de la raíz estimulan la germinación de las clamidosporas y el crecimiento hacia el hospedero por quimiotaxis (Steinkellner et al., 2005). Después de la germinación, el proceso de infección se divide en adherencia, penetración y colonización. La hifa infectiva se adhiere a la superficie de la raíz y penetra directamente (Mendgen et al., 1996), luego, el micelio avanza por la corteza intercelularmente hasta llegar a los vasos del xilema en donde ingresa. *F. oxysporum* f. sp. *niveum* tarda cinco días en llegar a los vasos del xilema, desde la adherencia a la epidermis de la raíz de la sandía (*Citrullus lanatus*) (Zhang et al., 2015). A través de estos vasos de conducción, el hongo coloniza el hospedero. Una vez allí, puede generar microconidios, los cuales pueden ser transportados hacia arriba a través del flujo de savia. Los microconidios transportados pueden germinar y colonizar el xilema en las partes superiores la planta. En estados severos de colonización, el hongo invade el parénquima y llega a esporular en la superficie del hospedero (Pietro et al., 2003).

F. oxysporum infecta a sus plantas hospederas estrictamente a través de las raíces (Pietro et al., 2003). Durante la penetración y colonización de la raíz, secreta una combinación de enzimas degradadoras de la pared celular, tales como poligalacturonasas, pectato liasas, xilanasas, cutinasas y lipasas, las cuales ayudan a obtener fuentes de carbono, a adherirse a la superficie de la raíz y a penetrar los tejidos del hospedero; estas enzimas también constituyen factores de virulencia (Bravo-Ruiz et al., 2013). La actividad de la proteína MAP quinasa es esencial para la patogenicidad de algunas cepas de *F. oxysporum*; así mismo, el ácido fusárico es un determinante parcial de su patogenicidad (Ding et al., 2015; Leslie & Summerell, 2008).

Como resultado del severo estrés por agua —debido principalmente a la obstrucción de los vasos del xilema por acumulación de micelio del hongo, por la producción de micotoxinas y por las respuestas de defensa del hospedero—, aparecen los síntomas típicos de marchitez en la planta (Pietro et al., 2003). Es típico observar el desarrollo de los síntomas externos de forma unilateral, desde la base del tallo hacia arriba. Los síntomas causados por *F. oxysporum* en las plantas comprenden enanismo, marchitamiento (pérdida de turgencia, amarillamiento, abscisión foliar) y finalmente la muerte de la planta. En cortes transversales del tallo, cerca de la base de la planta infectada, generalmente se presenta un anillo marrón en la zona de los haces vasculares (Nogués et al., 2002). Entre las respuestas de la planta ante la infección del patógeno, que obstruye los vasos colonizados, se encuentran la producción de gomas, geles y tilosas y la proliferación de células adyacentes del parénquima (Beckman, 1987).

Los daños fitosanitarios que causa *F. oxysporum* generalmente repercuten en el ámbito social, debido a las migraciones de cultivadores a nuevas áreas; en el económico, debido a los riesgos de la inversión; y en el ambiental, debido al elevado uso de plaguicidas. Por su naturaleza, *Fusarium* está entre los patógenos más difíciles de controlar (figura 2.16), y la ausencia de medidas de control alternativas hace más grave esta problemática. *F. oxysporum* ha desarrollado resistencia a muchos de los fungicidas utilizados para su control (Gordon & Martyn, 1997).



Fotos: Carlos Andres Moreno-Velandia

Figura 2.16. *Fusarium oxysporum* como patógeno de solanáceas. a. Cultivo de tomate bajo invernadero en estado vegetativo afectado por *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. Nótese el foco de plantas enfermas, con menor tamaño que las plantas cercanas sin síntomas; b. Plantas de tomate en estado reproductivo afectadas por *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*; c. *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* esporulando en la superficie de la base del tallo de tomate; d. Corte transversal del tallo de una planta de tomate donde se observa la coloración parda de los haces vasculares causada por *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*; e. Síntomas de marchitamiento vascular de plantas jóvenes de uchuva causado por *F. oxysporum* posible f. sp. *physali*. Nótese la marchitez, el doblamiento de la planta y la clorosis lateral de las hojas; f. Daños en el tallo de plantas adultas de uchuva causados por *F. oxysporum*; g. Colonia de *F. oxysporum* posible f. sp. *physali* aislado en medio de cultivo PDA.

Desarrollo del bioplaguicida Tricotec® para el control de fitopatógenos de suelo

El aislamiento nativo Th003 identificado como *Trichoderma koningiopsis* (antes *T. koningii*) (Cotes, 1993) se seleccionó por su alta actividad biocontroladora contra *Pythium splendens* en fríjol, en comparación con 12 aislamientos de *Trichoderma* spp. también nativos de Colombia (codificados de 1 a 12), con un aislamiento de referencia (codificado como 13) y con uno que constituye el principio activo de un producto registrado en el mercado internacional (codificado como 14). El efecto de este biocontrolador contra varios patógenos es atribuido a varios mecanismos, los cuales se ilustran a continuación. Cuando se aplicó *T. koningiopsis* (cepa Th003) en el suelo, se observó una correlación positiva entre la actividad de las enzimas exo-B-1,3-glucanasa y exoquitinasas producidas por Th003 y el control de *R. solani* en fríjol, lo que sugiere que las enzimas producidas por *T. koningiopsis* en el suelo juegan un rol importante en la degradación de las paredes celulares de los patógenos (Cotes et al., 1994).

En otros experimentos también se presentó una correlación positiva (coeficiente de correlación 0,7) entre el tiempo de pregerminación de las semillas en presencia del antagonista, la actividad de enzimas de origen vegetal de tipo endo-β-1,3-glucanansas y endoquitinasas y la protección conferida a las plantas de fríjol. Esto evidenció que *T. koningiopsis* puede estimular la producción de estas enzimas en el tejido vegetal, las cuales también podrían estar relacionadas con la degradación de las paredes celulares de los patógenos (Cotes et al., 1996). El efecto de las enzimas líticas de origen vegetal contra el patógeno fue posteriormente demostrado con esta misma cepa de *T. koningiopsis* en la interacción tomate-*F. oxysporum* (Clavijo & Cotes, 1998). Por otra parte, de las investigaciones llevadas a cabo sobre las interacciones pepino cohombro-*P. splendens* (Jacqmin et al., 1993), fríjol-*R. solani* (Mezui et al., 1994) y tomate-*R. solani*, la interacción tomate-*F. oxysporum* (Cotes et al., 2001) con esta cepa de *T. koningiopsis*, fue la que presentó, además de un control biológico efectivo ejercido contra dichos patógenos, el mejor fenómeno de inducción de crecimiento vegetal (figura 2.17).

La alta actividad biocontroladora que ha mostrado la cepa Th003 de *T. koningiopsis* frente a diferentes patógenos en diferentes especies vegetales ha estimulado el desarrollo de nuevas investigaciones para encontrar otros mecanismos de acción. Es así como al estudiar la interacción *T. koningiopsis*-fríjol-*P. splendens*, Cotes et al. (1996) demostraron que el control superior al 95 % ejercido contra el fitopatógeno —al fitoinvigorizar semillas mediante pregerminación controlada de semillas en matriz sólida durante 24 horas en presencia del biocontrolador— estuvo relacionado con varios fenómenos como la colonización de los tegumentos por parte de *T. koningiopsis*. En tal caso, la colonización estuvo mediada por la capacidad celulolítica de esta cepa, el consumo de los exudados de la semilla y la producción de enzimas líticas de origen microbiano del tipo celulasas, exoquitinasas y exo-β-1,3 glucanasas. Estas últimas demostraron su habilidad para degradar la pared celular del patógeno e inducir en el hospedero proteínas relacionadas gracias a la patogénesis del tipo endoquitinasas y endo-β-1,3 glucanasas que también demostraron su habilidad para degradar la pared celular del patógeno, lo que sugiere un fenómeno de inducción de resistencia (figura 2.18).

Con el propósito de comprobar el efecto de inducción de resistencia sistémica de *T. koningiopsis* Th003, en el patosistema tomate-*F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*, Jaimes et al. (2009) utilizaron el modelo de plantas de tomate (*Solanum lycopersicum*) con el sistema radical separado en dos porciones establecidas en vasos diferentes con sustrato para enraizamiento. En una de las porciones de la raíz se inoculó Th003, 96 h antes de inocular el fitopatógeno en la otra porción. Estos autores describieron un retraso significativo de la colonización de *F. oxysporum* en el interior del tallo de la planta, en comparación con las plantas control. Si se tiene en cuenta que el agente de control biológico y el fitopatógeno estuvieron separados físicamente, el trabajo de Jaimes et al. (2009) sugiere que *T. koningiopsis* Th003 estimuló respuestas sistémicas de defensa en la planta.

Las observaciones descritas por Jaimes et al. (2009) fueron comprobadas a nivel molecular por Moreno et al. (2009). En el trabajo de estos últimos, se demostró la habilidad de *T. koningiopsis* para promover el crecimiento vegetal. Mediante la metodología de microarreglos de tomate TOM1, se demostró que *T.*

Fotos: Alba Marina Cotes

Figura 2.17. Efecto promotor de crecimiento vegetal por *T. koningiopsis* Th003 en tomate. a. Semillas pregerminadas en ausencia del biocontrolador en semillero; b. Semillas pregerminadas en presencia del biocontrolador en semillero; c. Plántulas provenientes de semillas pregerminadas en ausencia del biocontrolador; d. Plántulas provenientes de semillas pregerminadas en presencia de *T. koningiopsis* Th003.

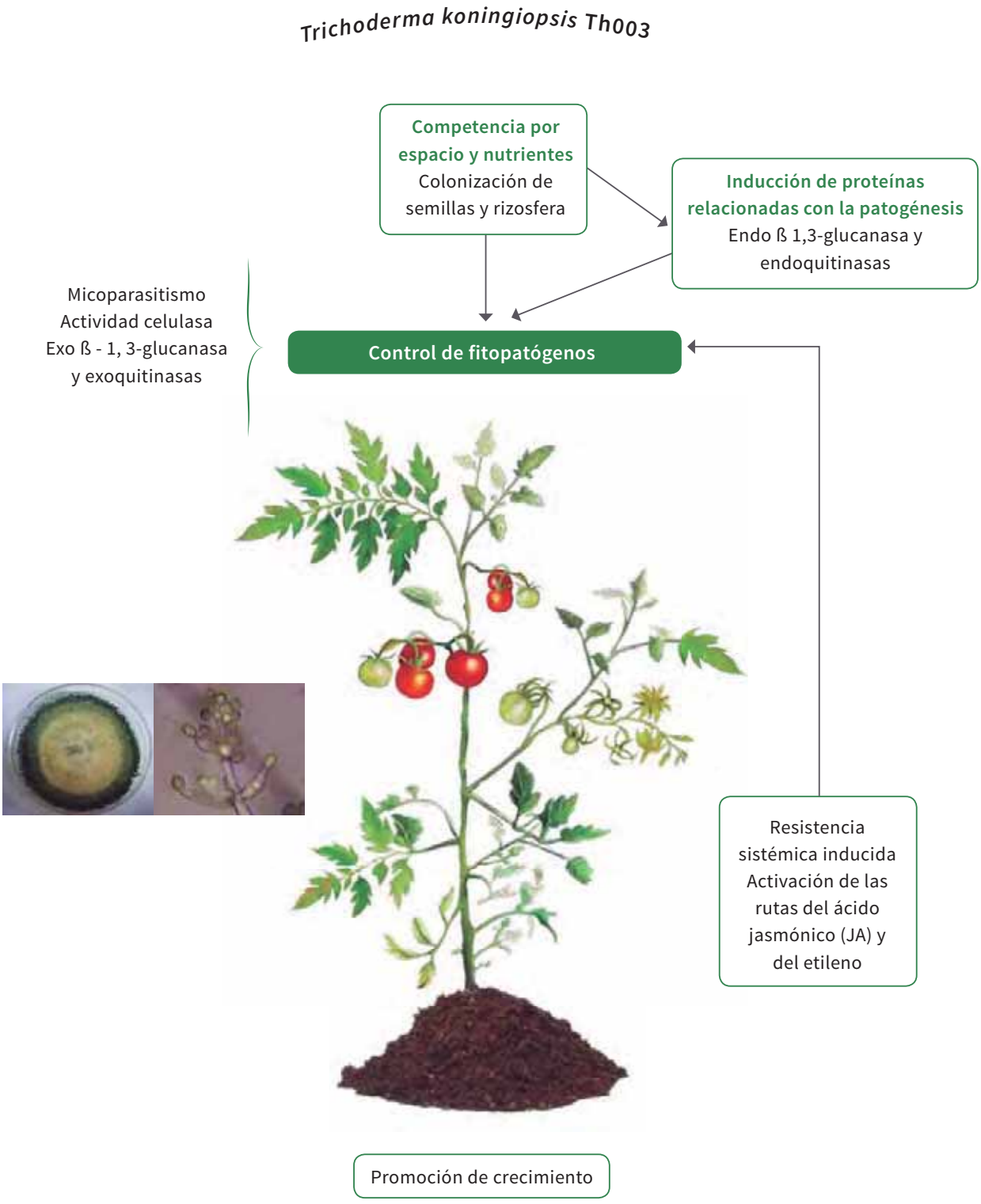


Figura 2.18. Modos de acción de *Trichoderma koningiopsis* Th003 definidos para la interacción fríjol-*Pythium splendens*. La expresión génica mencionada en el esquema fue demostrada en la interacción *T. koningiopsis*-tomate-*F. oxysporum*.

Fuente: Elaboración propia

koningiopsis afectó los niveles de mRNA de 45 genes: 41 en raíces y 4 en hojas; aquí resulta de particular interés la inducción de genes involucrados en las rutas del ácido jasmónico y del etileno. La expresión de los genes seleccionados fue validada utilizando PCR en tiempo real, lo cual evidencia la correlación entre los dos métodos (Moreno et al., 2009). Todos los mecanismos definidos para Th003 se resumen en la figura 2.18.

El bioplaguicida Tricotec®, formulado a base del hongo biocontrolador *Trichoderma koningiopsis* (cepa Th003), se registró en Colombia en el año 2015 para el control de las enfermedades de volcamiento o adelgazamiento del cuello de las plantas (*R. solani*), marchitamiento vascular (*F. oxysporum*) y moho blanco (*S. sclerotiorum*), conocidas a nivel mundial por el severo impacto negativo que generan en los cultivos (figura 2.19). Tricotec® WP es una alternativa de control de estas enfermedades en los cultivos manejados convencionalmente y actúa como complemento de otros métodos. Es ideal para implementarse en cultivos orgánicos y en esquemas de manejo integrado de las enfermedades del suelo mencionadas. Tricotec® WP también promueve el crecimiento de las plantas y logra reducir hasta cinco días el periodo de las plántulas en semillero, lo cual representa un costo de oportunidad para los plantuladores.

Pruebas *in vivo* mostraron que cuando los conidios del principio activo de Tricotec® permanecen en contacto con plaguicidas en la superficie de las plantas, este biocontrolador es medianamente compatible con los fungicidas Carbendazim (63-500 ppm), Benomil (88-350 ppm), Difenoconazol (31-125 ppm), Oxicloruro de cobre (3.150-12.600 ppm), Clorotalonil (180-720 ppm), Metil-tiofanato (175-700 ppm) y Azúfre (360-2.520 ppm); compatible con los fungicidas Validacin (45 ppm), Tebuconazol (187 ppm) e Hidróxido cúprico (860 ppm); compatible con los insecticidas Lamda-cihalotrina (1 ppm), Imidacloprid (70 ppm), Avermectina (5 ppm) y Thiametoxam (141 ppm); y compatible con los fertilizantes líquidos Engru-S, Basfoliar, Nutrimins, Fertigro y Power-plex (García et al., 2010). En efecto, un esquema adecuado de rotaciones de estos productos con Th003 se podría considerar.

Limitantes del control biológico de fitopatógenos del suelo

La eficacia del control biológico sigue siendo baja, ya que en muchos casos no supera el 50 %, y para el mercado resultan de interés solo aquellos productos con un 60 % de eficacia, para bioplaguicidas, y un 85 %, para fungicidas de síntesis química. Sin embargo, si se tiene en cuenta que aun con el control químico hoy en día se tienen pérdidas de entre el 20 % y el 40 % de los rendimientos de los cultivos por enfermedades (Lazarovits et al., 2014), el control biológico es una alternativa ideal para ser implementada contra un gran número de patosistemas, aunque este debe reconocerse y utilizarse como un componente de sistemas de manejo integrado de enfermedades. Algunas empresas productoras de flores de corte para exportación en Colombia realizan aplicaciones de bioplaguicidas a base de *Trichoderma* spp. y de *Bacillus* spp. para el control de patógenos del suelo, dentro de sus rotaciones habituales de productos fitosanitarios. Para estas empresas es importante contar con la eficacia que ofrecen los bioplaguicidas con el fin de sumar los aportes de estos a la eficiencia de las demás alternativas de control; pero también ha sido importante para reducir la selección de poblaciones de fitopatógenos resistentes a los fungicidas de síntesis.

En la mayoría de los casos no se conoce la ecología y las interacciones específicas entre biocontrolador-hospedero-patógeno y ambiente; y dado que las interacciones pueden llegar a ser específicas, todavía hay un camino largo por recorrer. Se deben estudiar las interacciones en cada patosistema y en diferentes ambientes para conocer el rango de acción de los agentes de control biológico, y así generar indicaciones de uso más precisas, con el fin de diseñar estrategias que favorezcan su establecimiento y la expresión de sus modos de acción *in situ*.

Algunos aspectos que podrían generar una débil actividad biocontroladora o escepticismo por el uso del control biológico son la especificidad por el hospedero que se presenta en algunos casos —tanto en hongos

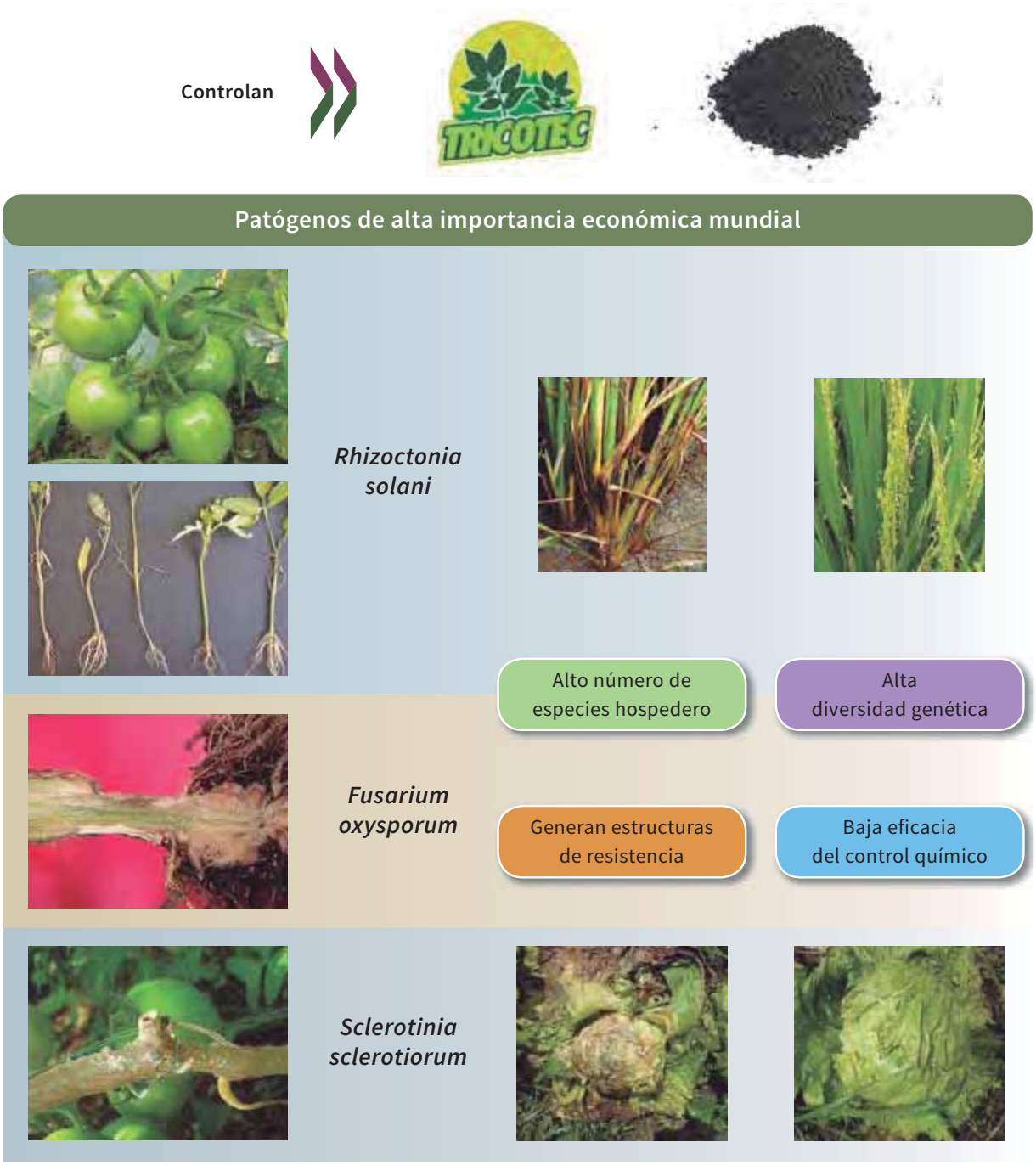


Figura 2.19. Patógenos objetivos para los cuales se encuentra registrado Tricotec® hasta marzo de 2018.

como en bacterias—, el uso de cepas con un solo modo de acción, la susceptibilidad a las condiciones ambientales (temperatura, pH, humedad y nutrientes) —tanto en el proceso de formulación como en sitio blanco—, los mecanismos de defensa de los fitopatógenos ante el ataque de los agentes de control biológico y la incompatibilidad con agroquímicos aplicados al suelo. No obstante, las empresas que manufacturan bioplaguicidas están llamadas a desarrollar formulaciones de alta calidad. Esto significa, entre otras características, que cuenten con un principio activo altamente eficaz; que el producto tenga larga vida útil; que sea estable en sus propiedades físicas, fisicoquímicas y biológicas; que tenga alta pureza; que sea fácil de aplicar; y que sea compatible con las demás alternativas de control de enfermedades y prácticas agronómicas.

Consideraciones finales y perspectivas

Un agente de control biológico ideal debería tener actividad contra un amplio rango de fitopatógenos, en distintas condiciones ambientales y durante el tiempo en el cual los fitopatógenos tienen potencial para causar enfermedad. El agente de control biológico necesita, por tanto, tener características potenciales como las siguientes:

- Los modos de acción que el agente de biocontrol utilice contra un fitopatógeno blanco deben efectuarse lo suficientemente rápido para evitar que el patógeno cause daños en la raíz.
- Debe presentar resistencia inducida (un modo de actividad biocontroladora interesante contra varios fitopatógenos).
- El rápido aprovechamiento de los nutrientes de la raíz por parte del biocontrolador debería afectar a los patógenos que requieran nutrientes de la rizosfera para causar infección o a los patógenos para los cuales la nutrición constituye un factor limitante para su crecimiento.
- Una vez seleccionado un agente de control biológico eficiente, el estudio de los mecanismos empleados por esta cepa microbiana es esencial no solo para ayudar a entender el fenómeno, sino para poderlo aplicar a la producción, a la formulación del biocontrolador y al manejo de las enfermedades en campo. Este conocimiento ayudaría a comprender las limitaciones del ACB y a plantear estrategias para favorecer su establecimiento y la expresión de sus rasgos de biocontrol de forma eficiente. Las tecnologías implementadas para optimizar el proceso de producción de un bioplaguicida (producción masiva, formulación y almacenamiento) no resultarán en vano si los mecanismos de acción del agente de control biológico logran potencializarse en condiciones de su aplicación práctica.
- Como las condiciones físicas tienden a cambiar durante el día y durante el periodo de susceptibilidad a la enfermedad, el ACB ideal debería poseer condiciones de tolerancia a los cambios de temperatura, niveles de humedad, niveles de sequía y la presencia de varios tipos de iones y químicos.
- Un ACB necesita sobrevivir a condiciones adversas cuando su periodo de actividad es largo. Por ejemplo, necesita estar activo durante los periodos de sobrevivencia y actividad de un fitopatógeno, así como en los periodos de susceptibilidad de los tejidos vegetales.

- Un ACB también puede tener antagonistas en el suelo, entre los miembros de la microflora nativa. Por esto, un ACB ideal también necesita ser resistente a la actividad antagónica de estos microorganismos en el suelo, incluyendo las respuestas de defensa de los fitopatógenos a su ataque.
- La formulación de un agente de biocontrol en un producto comercial puede ayudar a hacer más larga la vida útil de este y a favorecer su actividad durante mucho tiempo en condiciones ambientales variables.
- Para que el desarrollo comercial de un agente de biocontrol sea atractivo para una empresa, el tamaño del mercado y el precio del bioproducto deben ser razonables para obtener beneficios económicos.

Finalmente, se debe tener presente que el encadenamiento entre las instituciones de investigación y desarrollo de tecnología con las compañías que escalan la producción de los bioproductos y los distribuidores hasta llegar a los agricultores es clave para manejar los mismos conceptos técnicos. Se debe entender que los bioproductos contienen organismos vivos, que su eficacia está sujeta a su actividad biológica, que son totalmente diferentes de los plaguicidas de síntesis química y que constituyen una herramienta de control fitosanitario.

Agradecimientos

Los autores agradecen a AGROSAVIA en Colombia, a Embrapa en Brasil y al Volcani Center de Israel, así como a las agencias que han financiado las investigaciones desarrolladas en el tema. Asimismo, agradecen a sus grupos de trabajo por haber contribuido significativamente al logro de muchos de los resultados y estrategias de trabajo aquí planteados.

Referencias

Abawi, G. S., & Grogan, R. G. (1979). Epidemiology of diseases caused by *Sclerotinia* species. *Phytopathology*, *69*(8), 899-904.

Abawi, G. S., & Widmer, T. L. (2000). Impact of soil health management practices on soilborne pathogens, nematodes and root diseases of vegetable crops. *Applied Soil Ecology*, *15*(1), 37-47. doi:10.1016/S0929-1393(00)00070-6.

Adams, P., & Ayers, W. (1979). Ecology of *Sclerotinia* species. *Phytopathology*, *69*(8), 896-899.

Adams, P. B., & Tate, C. J. (1976). Mycelial germination of sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum* on soil. *Plant Disease Reporter, 60*, 515-518.

Agrios, G. N. (2015). *Plant pathology* (5.ª ed.). Londres, Reino Unido: Elsevier.

Agrofit. (2017). *Sistema de agrotóxicos fitossanitários*. Recuperado de http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons.

Ahmad, J. S., & Baker, R. (1987). Rhizosphere competence of *Trichoderma harzianum*. *Phytopathology*, *77*(2), 182-189. doi:10.1094/Phyto-77-182.

Akpa, E., Jacques, P., Wathelet, B., Paquot, M., Fuchs, R., Budzikiewicz, H., & Thonart, P. (2001). Influence of culture conditions on lipopeptide production by *Bacillus subtilis*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, *91*(1-9), 551-561. doi:10.1385/abab:91-93:1-9:551.

Al-Rawahi, A. K. & Hancock, J. G. (1998). Parasitism and biological control of *Verticillium dahliae* by *Pythium oligandrum*. *Plant Disease*, *82*(10), 1100-1106. doi:10.1094/PDIS.1998.82.10.1100.

Alabouvette, C. (1986). Fusarium-wilt suppressive soils from the Châteaurenard region: review of a 10-year study. *Agronomie*, *6*(3), 273-284. doi:10.1051/agro:19860307.

Alabouvette, C., Olivain, C., Migheli, Q., & Steinberg, C. (2009). Microbiological control of soil-borne phytopathogenic fungi with special emphasis on wilt-inducing *Fusarium oxysporum*. *New Phytologist*, *184*(3), 529-544. doi:10.1111/j.1469-8137.2009.03014.x.

Alabouvette, C., Schippers, B., Lemanceau, P., & Bakker, P. (1998). Biological control of Fusarium wilts toward development of commercial products. En G. J. Boalnd & L. D. Kuykendall (Eds.), *Plant microbe interactions and biological control* (pp. 15-36). Nueva York, EE. UU.: Marcel Dekker Inc.

Aliferis, K. A., & Jabaji, S. (2010). Metabolite composition and bioactivity of *Rhizoctonia solani* sclerotial exudates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *58*(13), 7604-7615. doi:10.1021/jf101029a.

Aluko, M. O., & Hering, T. F. (1970). The mechanisms associated with the antagonistic relationship between *Corticium solani* and *Gliocladium virens*. *Transactions of the British Mycological Society*, *55*(2), 173-179. doi:10.1016/S0007-1536(70)80001-8.

Amellal, N., Burtin, G., Bartoli, F., & Heulin, T. (1998). Colonization of wheat roots by an exopolysaccharide-producing *Pantoea agglomerans* strain and its effect on rhizosphere soil aggregation. *Applied and Environmental Microbiology*, *64*(10), 3740-3747.

Anderson, J. A., Staley, J., Challender, M., & Heuton, J. (2018). Safety of *Pseudomonas chlororaphis* as a gene source for genetically modified crops. *Transgenic Research*, *27*(1), 103-113. doi:10.1007/s11248-018-0061-6.

Atanasova, L., Druzhinina, I., & Jaklitsch, W. M. (2013). Two hundred *Trichoderma* species recognized on the basis of molecular phylogeny. En P. K. Mukherjee, B. A. Horwitz, U. S. Singh, M. Mukherjee, & M. Schmoll (Eds.), *Trichoderma: biology and applications* (pp. 10-42). Oxfordshire, Reino Unido: CAB International.

Ávila, C., & Velandia, J. (1992). Enfermedades de algunas especies hortícolas y su manejo. En *Primer curso nacional de hortalizas de clima frío* (Vol. 18) [Conferencias]. Mosquera, Colombia: Instituto Colombiana Agropecuario (ICA).

Bae, H., Roberts, D. P., Lim, H.-S., Strem, M. D., Park, S.-C., Ryu, C.-M., ... Bailey, B. A. (2010). Endophytic *Trichoderma* isolates from tropical environments delay disease onset and induce resistance against *Phytophthora capsici* in hot pepper using multiple mechanisms. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, *24*(3), 336-351. doi:10.1094/MPMI-09-10-0221.

Bais, H. P., Fall, R., & Vivanco, J. M. (2004). Biocontrol of *Bacillus subtilis* against Infection of arabidopsis roots by *Pseudomonas syringae* is facilitated by biofilm formation and surfactin production. *Plant Physiology*, *134*(1), 307-319. doi:10.1104/pp.103.028712.

Bais, H. P., Weir, T. L., Perry, L. G., Gilroy, S., & Vivanco, J. M. (2006). The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annual Review of Plant Biology*, *57*, 233-266. doi:10.1146/annurev.arplant.57.032905.105159.

Baker, K. F. (1987). Evolving concepts of biological control of plant pathogens. *Annual Review Phytopathology*, *25*(1), 67-85. doi:10.1146/annurev.py.25.090187.000435.

Banat, I. M., Makkar, R. S., & Cameotra, S. S. (2000). Potential commercial applications of microbial surfactants. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *53*(5), 495-508. doi:10.1007/s002530051648.

Banville, G. J. (1989). Yield losses and damage to potato plants caused by *Rhizoctonia solani* Kuhn. *American Potato Journal*, *66*(12), 821-834. doi:10.1007/BF02853963.

Bautista, G., Mendoza, H., & Uribe, D. (2007). Biocontrol of *Rhizoctonia solani* in native potato (*Solanum phureja*) plants using native *Pseudomonas fluorescens*. *Acta Biológica Colombiana*, *12*(1), 19-32.

BccResearch. (2017). *Global markets for biopesticides*. Recuperado de https://www.bccresearch.com/market-research/chemicals/biopesticides-global-markets-report-chm029f.html.

Beckerich, A., & Hauduroy, P. (1922). Le bactériophage dans le traitement de la fièvre typhoïde. *Comptes Rendus Biologies*, *86*, 168-170.

Beckman, C. H. (1987). *The nature of wilt diseases of plants*. Saint Paul, EE. UU.: APS Press.

Beltrán-Acosta, C. R. (2004). *Selección de aislamientos de Trichoderma spp. con potencial biocontrolador de Rhizoctonia solani Kühn en papa bajo condiciones de casa de malla* (trabajo de pregrado). Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.

Beltrán-Acosta, C. R., Moreno-Velandia, C. A., Blanco, P., Villamizar, L., & Cotes, A. M. (2010). Biological control of *Rhizoctonia solani* and growth promotion activity of *Trichoderma koningiopsis* Th003 and *Trichoderma asperellum* Th034 formulations in potato (*Solanum tuberosum*). *IOBC/WPRS Bulletin*, *78*, 223-227.

Beltrán Acosta, C., Cotes, A. M., & Becerra, A. P. (2007). Selection of isolates of *Trichoderma* spp. with biocontrol activity over *Rhizoctonia solani* in potato. *IOBC WPRS Bulletin*, *30*, 55-58.

Benhamou, N., Le Floch, G., Vallance, J., Gerbore, J., Grizard, D., & Rey, P. (2012). *Pythium oligandrum*: an example of opportunistic success. *Microbiology*, *158*(Pt. 11), 2679-2694. doi:10.1099/mic.0.061457-0.

Benhamou, N., Rey, P., Chérif, M., Hockenhull, J., & Tirilly, Y. (1997). Treatment with the mycoparasite *Pythium oligandrum* triggers induction of defense-related reactions in tomato roots when challenged with *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. *Phytopathology*, *87*(1), 108-122. doi:10.1094/PHYTO.1997.87.1.108.

Benhamou, N., Rey, P., Picard, K., & Tirilly, Y. (1999). Ultrastructural and cytochemical aspects of the interaction between the mycoparasite *Pythium oligandrum* and soilborne plant pathogens. *Phytopathology*, *89*(6), 506-517. doi:10.1094/PHYTO.1999.89.6.506.

Benítez, T., Rincón, A. M., Limón, M. C., & Codón, A. C. (2004). Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *International Microbiology*, *7*(4), 249-260.

Benizri, E., Baudoin, E., & Guckert, A. (2001). Root colonization by inoculated plant growth-promoting rhizobacteria. *Biocontrol Science and Technology*, *11*(5), 557-574. doi:10.1080/09583150120076120.

Berg, G., Opelt, K., Zachow, C., Lottmann, J., Götz, M., Costa, R., & Smalla, K. (2006). The rhizosphere effect on bacteria antagonistic towards the pathogenic fungus *Verticillium* differs depending on plant species and site. *FEMS Microbiology Ecology*, *56*(2), 250-261. doi:10.1111/j.1574-6941.2005.00025.x.

Berg, G., & Smalla, K. (2009). Plant species and soil type cooperatively shape the structure and function of microbial communities in the rhizosphere. *FEMS Microbiology Ecology*, *68*(1), 1-13. doi:10.1111/j.1574-6941.2009.00654.x.

Berg, G., Zachow, C., Lottmann, J., Götz, M., Costa, R., & Smalla, K. (2005). Impact of plant species and site on rhizosphere-associated fungi antagonistic to *Verticillium dahliae* Kleb. *Applied Environmental Microbiology*, *71*(8), 4203-4213. doi:10.1128/aem.71.8.4203-4213.2005.

Bertin, C., Yang, X., & Weston, L. A. (2003). The role of root exudates and allelochemicals in the rhizosphere. *Plant Soil*, *256*(1), 67-83. doi:10.1023/a:1026290508166.

Biraghi, A. (1951). Caratteri di resistenza in *Castanea sativa* nei confronti di *Endothia parasitica*. *Bolletino della Staz Patologia Vegetale*, *8*, 167-171.

Bliss, D. E. (1951). The destruction of *Armillaria mellea* in citrus soils. *Phytopathology*, *41*, 665-683.

Blum, B., Nicot, P. C., Köhl, J., & Ruocco, M. (2011). Chapter 7: Identified difficulties and conditions for field success of biocontrol. 3. Economic aspects: cost analysis. En P. C. Nicot (Ed.), *Classical and augmentative biological control against diseases and pests: critical status analysis and review of factors influencing their success* (pp. 58-61). Zürich, Suiza: International Organisation for Biological anda Integrated Control (IOBC)/West Palaearctic Regional Section (WPRS).

Bonmatin, J.-M., Laprevote, O., & Peypoux, F. (2003). Diversity among microbial cyclic lipopeptides: Iturins

and surfactins. Activity-structure relationships to design new bioactive agents. *Combinatorial Chemistry and High Throughput Screening, 6*(6), 541-556. doi:10.2174/138620703106298716.

Borráez, A. (2011, octubre 7). Detectan exceso de químicos en cultivos de papa. *Unperiodico*. Recuperado de http://agenciadenoticias.unal.edu.co/detalle/article/detectan-exceso-de-quimicos-en-cultivos-de-papa.html.

Borriss, R. (2011). Use of plant-associated *Bacillus* strains as biofertilizers and biocontrol agents in agriculture. En D. K. Maheshwari (Ed.), *Bacteria in agrobiology: Plant growth responses* (pp. 41-76). Berlín, Alemania: Springer Berlin. doi:10.1007/978-3-642-20332-9_3.

Borriss, R. (2015). *Bacillus*, a plant-beneficial bacterium. En B. Lugtenberg (Ed.), *Principles of plant-microbe interactions: Microbes for sustainable agriculture* (pp. 379-391). Nueva York, EE. UU.: Springer International Publishing. doi:10.1007/978-3-319-08575-3_40.

Bradshaw-Smith, R. P., Whalley, W. M., & Craig, G. D. (1991). Interactions between *Pythium oligandrum* and the fungal footrot pathogens of peas. *Mycological Research, 95*(7), 861-865. doi:10.1016/S0953-7562(09)80050-6.

Bravo-Ruiz, G., Ruiz-Roldán, C., & Roncero, M. I. G. (2013). Lipolytic system of the tomato pathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Molecular Plant-Microbe Interactions, 26*(9), 1054-1067. doi:10.1094/MPMI-03-13-0082-R.

Brewer, M. T., & Larkin, R. P. (2005). Efficacy of several potential biocontrol organisms against *Rhizoctonia solani* on potato. *Crop Protection, 24*(11), 939-950. doi:10.1016/j.cropro.2005.01.012.

Broadbent, P., & Baker, K. (1974). Behaviour of *Phytophthora cinnamomi* in soils suppressive and conducive to root rot. *Australian Journal of Agricultural Research, 25*(1), 121-137. doi:10.1071/AR9740121.

Brown, J. F., & Ogle, H. J. (Eds.). (1997). *Plant pathogens and plant diseases*. Armidale, Autralia: Rockvale Publications.

Brunner, K., Omann, M., Pucher, M. E., Delic, M., Lehner, S. M., Domnanich, P., ... Zeilinger, S. (2008). *Trichoderma* G protein-coupled receptors: functional characterisation of a cAMP receptor-like protein from *Trichoderma atroviride*. *Current Genetics, 54*(6), 283-299. doi:10.1007/s00294-008-0217-7.

Brunoghe, R., & Maisin, J. (1921). Essais de therapeutique au moyen du bacteriophage du staphylocoque. *Comptes Rendus des Seances de la Societe de Biologie, 85*, 1029-1121.

Burke, D. (1965). Fusarium root rot of beans and behavior of the pathogen in different soils. *Phytopathology, 55*(10), 122-121.

Campion, C., Chatot, C., Perraton, B., & Andrivon, D. (2003). Anastomosis groups, pathogenicity and sensitivity to fungicides of *Rhizoctonia solani* isolates collected on potato crops in France. *European Journal of Plant Pathology, 109*(9), 983-992. doi:10.1023/B:EJPP.0000003829.83671.8f.

Carling, D. E., Baird, R. E., Gitaitis, R. D., Brainard, K. A., & Kuninaga, S. (2002). Characterization of AG-13, a newly reported anastomosis group of *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology, 92*(8), 893-899. doi:10.1094/PHYTO.2002.92.8.893.

Carrillo, C., Teruel, J. A., Aranda, F. J., & Ortiz, A. (2003). Molecular mechanism of membrane permeabilization by the peptide antibiotic surfactin. *Biochimica et Biophysica Acta* (BBA) *- Biomembranes, 1611*(1-2), 91-97. doi:10.1016/S0005-2736(03)00029-4.

Cawoy, H., Bettiol, W., Fickers, P., & Ongena, M. (2011). *Bacillus*-based biological control of plant diseases. En InTech (Ed.), *Pesticides in the modern world-pesticides use and management* (pp. 273-302). doi:10.5772/17184.

Cawoy, H., Debois, D., Franzil, L., De Pauw, E., Thonart, P., & Ongena, M. (2015). Lipopeptides as main ingredients for inhibition of fungal phytopathogens by *Bacillus subtilis/amyloliquefaciens*. *Microbial biotechnology, 8*(2), 281-295. doi:10.1111/1751-7915.12238.

Cawoy, H., Mariutto, M., Henry, G., Fisher, C., Vasilyeva, N., Thonart, P., ... Ongena, M. (2013). Plant defense stimulation by natural isolates of *Bacillus* depends on efficient surfactin production. *Molecular Plant-Microbe Interactions, 27*(2), 87-100. doi:10.1094/MPMI-09-13-0262-R.

Centro Internacional de la Papá (CIP). (1996). *Principales enfermedades, nematodos e insectos de la papa*. Lima, Perú: CIP.

Ceresini, P. C., Shew, H. D., Vilgalys, R. J., & Cubeta, M. A. (2002). Genetic diversity of *Rhizoctonia solani* AG-3 from potato and tobacco in North Carolina. *Mycologia, 94*(3), 437-449. doi:10.1080/15572536.2003.11833209.

Chandler, D., Bailey, A. S., Tatchell, G. M., Davidson, G., Greaves, J., & Grant, W. P. (2011). The development, regulation and use of biopesticides for integrated pest management. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, 366*(1573), 1987-1998.

Chavarro, E., & Ángel, J. E. (2011). Caracterización molecular y análisis de la variabilidad genética de *R. solani*. En C. R. Beltrán Acosta, C. A. Moreno Velandia, & A. M. Cotes Prado (Eds.), *Trichoderma koningiopsis Th003, alternativa biológica para el control de Rhizoctonia solani en el cultivo de papa* (pp. 16-31). Mosquera, Colombia: Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica).

Chaverri, P., & Samuels Gary, J. (2013). Evolution of habitat preference and nutrition mode in a cosmopolitan fungal genus with evidence of interkingdom host jumps and major shifts in ecology. *Evolution, 67*(10), 2823-2837. doi:10.1111/evo.12169.

Chet, I. (1987). *Trichoderma*: application, mode of action, and potential as a biocontrol agent of soilborne plant

pathogenic fungi. En I. Chet (Ed.), *Innovative approaches to plant disease control* (pp. 137-160). Nueva York, EE. UU: John Wiley and Sons Press.

Chet, I., & Baker, R. (1981). Isolation and biocontrol potential of *Trichoderma hamatum* from soil naturally suppressive to *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology*, *71*(3), 286-290. doi:10.1094/Phyto-71-286.

Chet, I., & Henis, Y. (1975). Sclerotial morphogenesis in fungi. *Annual Review of Phytopathology*, *13*(1), 169-192. doi:10.1146/annurev.py.13.090175.001125.

Chin-A-Woeng, T. F. C., Bloemberg, G. V., Mulders, I. H. M., Dekkers, L. C., & Lugtenberg, B. J. J. (2000). Root colonization by phenazine-1-carboxamide-producing bacterium *Pseudomonas chlororaphis* PCL1391 Is essential for biocontrol of tomato foot and root rot. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, *13*(12), 1340-1345. doi:10.1094/MPMI.2000.13.12.1340.

Chitarra, G. S., Breeuwer, P., Nout, M. J. R., Van Aelst, A. C., Rombouts, F. M., & Abee, T. (2003). An antifungal compound produced by *Bacillus subtilis* YM 10–20 inhibits germination of *Penicillium roqueforti* conidiospores. *Journal of Applied Microbiology*, *94*(2), 159-166. doi:10.1046/j.1365-2672.2003.01819.x.

Chowdhury, S. P., Hartmann, A., Gao, X. W., & Borriss, R. (2015). Biocontrol mechanism by root-associated *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 – a review. *Frontiers in Microbiology*, *6*, 780. doi: 10.3389/fmicb.2015.00780.

Clavijo, A., & Cotes, A. (1998). Evaluación de la actividad quitinasa en procesos de control biológico de *Rhizoctonia solani* y *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en tomate, mediante fitoinvigorización de semillas en presencia de *Trichoderma koningii*. *Revista Colombiana de Biotecnología*, *1*(2), 58-66. doi:10.15446/rev.colomb.biote.

Cochrane, S. A., & Vederas, J. C. (2016). Lipopeptides from *Bacillus* and *Paenibacillus* spp.: A gold mine of antibiotic candidates. *Medicinal Research Reviews*, *36*(1), 4-31. doi:10.1002/med.21321.

Companhia Nacional de Abastecimento (Conab). (2016). *Acompanhamento da safra brasileira: safra* (Vol. 3). Recuperado de https://goo.gl/zDqvos.

Compant, S., Clément, C., & Sessitsch, A. (2010). Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: Their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. *Soil Biology and Biochemistry*, *42*(5), 669-678. doi:10.1016/j.soilbio.2009.11.024.

Compant, S., Duffy, B., Nowak, J., Clément, C., & Barka, E. A. (2005). Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: Principles, mechanisms of action, and future prospects. *Applied Environmental Microbiology*, *71*(9), 4951-4959. doi:10.1128/aem.71.9.4951-4959.2005.

Cook, J. R. (1993). Making greater use of introduced microorganisms for biological control of plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, *31*, 53-80. doi:10.1146/annurev.py.31.090193.000413.

Coons, G. H., & Kotila, J. E. (1925). The transmissible lytic principle (bacteriophage) in relation to plant pathogens. *Phytopathology*, *15*, 357-370.

Cotes, A., Cárdenas, A., & Pinzón, H. (2001). Effect of seed priming in the presence of *Trichoderma koningii* on seed and seedling disease induced in tomato by *Rhizoctonia solani* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *IOBC WPRS Bulletin*, *24*, 259-264.

Cotes, A. M. (1993). *Study of common bean protection against damping- off by treatment of seeds with Trichoderma koningii Oudemans* (tesis de grado). Universidad de Gembloux, Gembloux, Bélgica.

Cotes, A. M. (2011). Registry and regulation of biocontrol agents on food commodities in South America. *Acta Horticulurae*, *905*, 301-306. doi:10.17660/ActaHortic.2011.905.33.

Cotes, A. M., Lepoivre, P., & Semal, J. (1996). Correlation between hydrolytic enzyme activities measured in bean seedlings after *Trichoderma koningii* treatment combined with pregermination and the protective effect against *Pythium splendens*. *European Journal of Plant Pathology*, *102*(5), 497-506. doi:10.1007/BF01877144.

Cotes, A. M., Thonart, P., & Lepoivre, P. (1994). Relationship between the protective activities of several strains of *Trichoderma* against damping-off agents and their ability to produce hydrolytic enzymes activities in soil or in synthetic media. *Mededelingen van de Faculteit landbouwwetenschappen - Rijksuniversiteit Gent*, *59*, 931-941.

Couillerot, O., Prigent-Combaret, C., Caballero-Mellado, J., & Moënne-Loccoz, Y. (2009). *Pseudomonas fluorescens* and closely-related fluorescent pseudomonads as biocontrol agents of soil-borne phytopathogens. *Letters in Applied Microbiology*, *48*(5), 505-512. doi:10.1111/j.1472-765X.2009.02566.x.

Czarnes, S., Hallett, P. D., Bengough, A. G., & Young, I. M. (2000). Root- and microbial-derived mucilages affect soil structure and water transport. *European Journal of Soil Science*, *51*(3), 435-443. doi:10.1046/j.1365-2389.2000.00327.x.

Darrah, P. R. (1993). The rhizosphere and plant nutrition: a quantitative approach. *Plant and Soil*, *155*(1), 1-20. doi:10.1007/bf00024980.

Davis, R. M. (2001). *Plagas y enfermedades de la lechuga*. Madrid, España: Mundi-Prensa.

De Weger, L. A., Van der Bij, A. J., Dekkers, L. C., Simons, M., Wijffelman, C. A., & Lugtenberg, B. J. J. (1995). Colonization of the rhizosphere of crop plants by plant-beneficial pseudomonads. *FEMS Microbiology Ecology*, *17*(4), 221-227. doi:10.1111/j.1574-6941.1995.tb00146.x.

Debois, D., Fernandez, O., Franzil, L., Jourdan, E., de Brogniez, A., Willems, L., ... Ongena, M. (2015). Plant polysaccharides initiate underground crosstalk with bacilli by inducing synthesis of the immunogenic lipopeptide surfactin. *Environmental Microbiology Reports, 7*(3), 570-582. doi:10.1111/1758-2229.12286.

Debois, D., Jourdan, E., Smargiasso, N., Thonart, P., De Pauw, E., & Ongena, M. (2014). Spatiotemporal monitoring of the antibiome secreted by *Bacillus* biofilms on plant roots using MALDI mass spectrometry imaging. *Analytical Chemistry, 86*(9), 4431-4438. doi:10.1021/ac500290s.

Degenkolb, T., Fog Nielsen, K., Dieckmann, R., Branco-Rocha, F., Chaverri, P., Samuels Gary, J., ... Brückner, H. (2015). Peptaibol, secondary-metabolite, and hydrophobin pattern of commercial biocontrol agents formulated with species of the *Trichoderma harzianum* complex. *Chemistry and Biodiversity, 12*(4), 662-684. doi:10.1002/cbdv.201400300.

Delgado-Sánchez, P., Ortega-Amaro, M. A., Jiménez-Bremont, J. F., & Flores, J. (2010). Are fungi important for breaking seed dormancy in desert species? Experimental evidence in *Opuntia streptacantha* (Cactaceae). *Plant Biology, 13*(1), 154-159. doi:10.1111/j.1438-8677.2010.00333.x.

DeZwaan, T. M., Carroll, A. M., Valent, B., & Sweigard, J. A. (1999). *Magnaporthe grisea* Pth11p is a novel plasma membrane protein that mediates appressorium differentiation in response to inductive substrate cues. *The Plant Cell, 11*(10), 2013-2030. doi:10.1105/tpc.11.10.2013.

Di Pietro, A., Lorito, M., Hayes, C., Broadway, R., & Harman, G. (1993). Endochitinase from *Gliocladium virens*: isolation, characterization, and synergistic antifungal activity in combination with gliotoxin. *Phytopathology, 83*(3), 308-313.

Dijksterhuis, J., Veenhuis, M., Harder, W., & Nordbring-Hertz, B. (1994). *Nematophagous fungi*: Physiological aspects and structure–function relationships. *Advances in Microbial Physiology, 36*, 111-143. doi:10.1016/S0065-2911(08)60178-2.

Ding, Z., Li, M., Sun, F., Xi, P., Sun, L., Zhang, L., & Jiang, Z. (2015). Mitogen-activated protein kinases are associated with the regulation of physiological traits and virulence in *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. *PLoS One, 10*(4), e0122634. doi:10.1371/journal.pone.0122634.

Domsch, K. H., Gams, W., & Anderson, T. H. (1980). *Compendium of soil fungi* (Vol. 1). Londres, Reino Unido: Academic Press.

Druzhinina, I. S., & Kubicek, C. P. (2014). Ecological genomics of *Trichoderma*. En F. Martin (Ed.), *The ecological genomics of fungi* (pp. 89-116). Hoboken, EE. UU.: Wiley Blackwell. doi:10.1002/9781118735893.ch5.

Druzhinina, I. S., Seidl-Seiboth, V., Herrera-Estrella, A., Horwitz, B. A., Kenerley, C. M., Monte, E., ... Kubicek, C. P. (2011). *Trichoderma*: the genomics of opportunistic success. *Nature Reviews Microbiology, 9*(10), 749. doi:10.1038/nrmicro2637.

Egamberdieva, D. (2016). *Bacillus* spp.: A potential plant growth stimulator and biocontrol agent under hostile environmental conditions. En M. T. Islam, M. Rahman, P. Pandey, C. K. Jha, & A. Aeron (Eds.), *Bacilli and agrobiotechnology* (pp. 91-111). Cham, Suiza: Springer International Publishing. doi:10.1007/978-3-319-44409-3_5.

Elad, Y., Chet, I., & Henis, Y. (1982a). Degradation of plant pathogenic fungi by *Trichoderma harzianum*. *Canadian journal of microbiology, 28*(7), 719-725. doi:10.1139/m82-110.

Elad, Y., Kalfon, A., & Chet, I. (1982b). Control of *Rhizoctonia solani* in cotton by seed-coating with *Trichoderma* spp. spores. *Plant Soil, 66*(2), 279-281. doi:10.1007/bf02183987.

Emmert, E. A. B. & Handelsman, J. (2006). Biocontrol of plant disease: a (Gram-) positive perspective. *FEMS Microbiology Letters, 171*(1), 1-9. doi:10.1111/j.1574-6968.1999.tb13405.x.

Environmental Protection Agency (EPA). (1999a). *Bacillus subtilis GBO3 (129068) Fact Sheet*. Recuperado de https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/registration/fs_PC-129068_01-Nov-99.pdf.

Environmental Protection Agency (EPA). (1999b). *Bacillus subtilis MBI 600 (129082) Fact Sheet*. Recuperado de https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/registration/fs_PC-129082_01-Nov-99.pdf.

Environmental Protection Agency (EPA). (2000). *Bacillus subtilis var. amyloliquefaciens strain FZB24 (006480) Fact Sheet*. Recuperado de https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/registration/fs_PC-006480_01-May-00.pdf.

Environmental Protection Agency (EPA). (2001a). *Pseudomonas chlororaphis strain 63-28 (006478) Fact sheet*. Recuperado de https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/registration/fs_PC-006478_01-Apr-01.pdf.

Environmental Protection Agency (EPA). (2001b). *Bacillus licheniformis strain SB3086 (PC Code 006492)*. Recuperado de https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/registration/decision_PC-006492_1-Feb-01.pdf.

Environmental Protection Agency (EPA). (2002). *Gliocladium catenulatum strain J1446 (PC Code 021009)*. Recuperado de https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/registration/decision_PC-021009_12-Nov-02.pdf.

Environmental Protection Agency (EPA). (2004). *Bacillus pumilus strain QST 2808 (PC Code 006485)*. Recuperado de https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/registration/decision_PC-006485_16-Nov-04.pdf.

Environmental Protection Agency (EPA). (2005). *Streptomyces lydicus strain WYEC108 (PC Code 006327)*. Recuperado de https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/registration/decision_PC-006327_15-Feb-05.pdf.

Environmental Protection Agency (EPA). (2006). *Bacillus subtilis strain QST 713 (PC Code 006479)*. Recuperado de https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/registration/decision_PC-006479_9-Aug-06.pdf.

Environmental Protection Agency (EPA). (2010a). *Trichoderma asperellum strain ICC 012 PC Code: 119208*. Recuperado de https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/registration/decision_PC-119208_4-Mar-10.pdf.

Environmental Protection Agency (EPA). (2010b). *Trichoderma gamsii strain ICC 080 PC Code: 119207*. Recuperado de https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/registration/decision_PC-119207_4-Mar-10.pdf.

Environmental Protection Agency (EPA). (2010c). *Trichoderma hamatum isolate 382*. Recuperado de https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/registration/fs_PC-119205_13-Jul-10.pdf.

Environmental Protection Agency (EPA). (2010d). *Streptomyces Strain K61 proposed registration review decision*. Recuperado de https://www.regulations.gov/document?D=EPA-HQ-OPP-2009-0509-0005.

Environmental Protection Agency (EPA). (2011a). *Trichoderma asperellum strain T34 PC Code: 119209*. Recuperado de https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/registration/decision_PC-119209_14-Oct-11.pdf.

Environmental Protection Agency (EPA). (2011b). *Bacillus amyloliquefaciens strain D747 Pesticide chemical (PC) Code: 016482*. Recuperado de https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/registration/decision_PC-016482_08-Dec-11.pdf.

Environmental Protection Agency (EPA). (2016). *Pesticide product registration; receipt of applications for new active ingredients*. Recuperado de https://www.federalregister.gov/documents/2016/05/25/2016-12359/pesticide-product-registration-receipt-of-applications-for-new-active-ingredients.

Environmental Protection Agency (EPA). (2017). *Pesticides*. Recuperado de https://www.epa.gov/pesticides.

Environmental Protection Agency (EPA). (2018). *Biopesticide active ingredients and products containing them*. Recuperado de http://www.epa.gov/pesticides/biopesticides/product_lists.

Errampalli, D., Peters, R. D., MacIsaac, K., Darrach, D., & Boswall, P. (2006). Effect of a combination of chlorine dioxide and thiophanate-methyl pre-planting seed tuber treatment on the control of black scurf of potatoes. *Crop Protection, 25*(12), 1231-1237. doi:10.1016/j.cropro.2006.03.002.

European Commission (EU). (2017). *Healt and food safety*. Recuperado de http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=activesubstance.selection&language=EN.

European Food Safety Authority (EFSA). (2012a). Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance *Pseudomonas* sp. strain DSMZ 13134. *EFSA Journal, 10*(12), 2954. doi:10.2903/j.efsa.2012.2954.

European Food Safety Authority (EFSA). (2012b). Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance *Trichoderma asperellum* strain T34. *EFSA Journal, 10*(5), 2666. doi:10.2903/j.efsa.2017.4668.

European Food Safety Authority (EFSA). (2013a). Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance *Streptomyces lydicus* WYEC 108. *EFSA Journal, 11*(11), 3425. doi:10.2903/j.efsa.2013.3425.

European Food Safety Authority (EFSA). (2013b). Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance *Streptomyces* K61 (formerly *Streptomyces griseoviridis*). *EFSA Journal, 11*(1), 3061. doi:10.2903/j.efsa.2013.3061.

European Food Safety Authority (EFSA). (2013c). Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance *Trichoderma asperellum* strains ICC012, T25 and TV1. *EFSA Journal, 11*(1), 3036. doi:10.2903/j.efsa.2013.3036.

European Food Safety Authority (EFSA). (2013d). Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance *Trichoderma gamsii* ICC080. *EFSA Journal, 11*(1), 3062. doi:10.2903/j.efsa.2013.3062.

European Food Safety Authority (EFSA). (2013e). Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance *Trichoderma harzianum* Rifai strains T-22 and ITEM-908. *EFSA Journal, 11*(10), 3055. doi:10.2903/j.efsa.2013.3055.

European Food Safety Authority (EFSA). (2014a). *Streptomyces lydicus strain WYEC 108 SANCO/11427/2014*. Recuperado de http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=activesubstance.detail&language=EN&selectedID=2256.

European Food Safety Authority (EFSA). (2014b). *Trichoderma asperellum (formerly T. harzianum) ICC012 SANCO/1842/08*. Recuperado de http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=activesubstance.detail&language=EN&selectedID=1979.

European Food Safety Authority (EFSA). (2016). *Bacillus amyloliquefaciens strain MBI 600 SANTE/10008/2016*.

Recuperado de http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=activesubstance.detail&language=EN&selectedID=2325.

European Food Safety Authority (EFSA). (2017a). *Bacillus amyloliquefaciens strain FZB24 SANTE/12037/2016*. Recuperado de http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=activesubstance.detail&language=EN&selectedID=2324.

European Food Safety Authority (EFSA). (2017b). Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance *Clonostachys rosea* strain J1446 (approved in Regulation (EU) No 540/2011 as *Gliocladium catenulatum* strain J1446). *EFSA Journal, 15*(7), 4905. doi:10.2903/j.efsa.2017.4905.

European Food Safety Authority (EFSA). (2017c). Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance Pseudomonas chlororaphis strain MA 342. *EFSA Journal, 15*(1), 4668. doi:10.2903/j.efsa.2017.4668.

Faure, D., Vereecke, D., & Leveau, J. H. J. (2009). Molecular communication in the rhizosphere. *Plant and Soil, 321*(1-2), 279-303. doi:10.1007/s11104-008-9839-2.

Ferreira, S. A., & Boley, R. A. (1992). *Sclerotinia sclerotiorum*. Recuperado de http://www.extento.hawaii.edu/KBASE/crop/type/s_scler.htm.

Ferrucho, R. L., Cifuentes, J. M., Ceresini, P., & García-Domínguez, C. (2012). *Rhizoctonia solani* AG-3PT is the major pathogen associated with potato stem canker and black scurf in Colombia. *Agronomía Colombiana, 30*(2), 204-213.

Flores, A., Chet, I., & Herrera-Estrella, A. (1997). Improved biocontrol activity of *Trichoderma harzianum* by over-expression of the proteinase-encoding gene prb1. *Current Genetics, 31*(1), 30-37. doi:10.1007/s002940050173.

Foley, M. F., & Deacon, J. W. (1985). Isolation of *Pythium oligandrum* and other necrotrophic mycoparasites from soil. *Transactions of the British Mycological Society, 85*(4), 631-639. doi:10.1016/S0007-1536(85)80257-6.

Fravel, D. (1999). *Commercial biocontrol products for use against soilborne crop diseases*. Recuperado de http://www.barc.usda.gov/psi/bpdl/bpdlprod/bioprod.html.

Fravel, D. R. (2005). Commercialization and implementation of biocontrol. *Annual Review of Phytopathology, 43*, 337-359. doi:10.1146/annurev.phyto.43.032904.092924.

Frey, P., Prior, P., Marie, C., Kotoujansky, A., Trigalet-Demery, D., & Trigalet, A. (1994). Hrp- Mutants of *Pseudomonas solanacearum* as potential biocontrol agents of tomato bacterial wilt. *Applied and Environmental Microbiology, 60*(9), 3175-3181.

Friedl, M. A., & Druzhinina, I. S. (2012). Taxon-specific metagenomics of *Trichoderma* reveals a narrow communityof opportunistic species that regulate each other's development. *Microbiology, 158*(Pt. 1), 69-83. doi:10.1099/mic.0.052555-0.

García, A. M. (2017). *Inicia investigación oficial sobre Dumping en importaciones de papa congelada*. Recuperado de http://fedepapa.com/inicia-investigacion-oficial-sobre-dumping-en-importaciones-de-papa-congelada-2-2/.

García, M., Santos, A., García, A., Villamizar, L., & Cotes, A. M. (2010). Compatibilidad de *Trichoderma koningiopsis* Th003 con plaguicidas químicos. En C. A. Moreno-Velandia, & A. M. Cotes (Eds.), *Desarrollo de un bioplaguicida a base de Trichoderma koningiopsis Th003 y uso en el cultivo de lechuga para el control del moho blanco (Sclerotinia sclerotiorum y Sclerotinia minor)* (pp. 55-60). Bogotá, Colombia: Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica).

Gerbore, J., Benhamou, N., Vallance, J., Le Floch, G., Grizard, D., Regnault-Roger, C., & Rey, P. (2014). Biological control of plant pathogens: advantages and limitations seen through the case study of *Pythium oligandrum*. *Environmental Science and Pollution Research, 21*(7), 4847-4860. doi:10.1007/s11356-013-1807-6.

Giczey, G., Kerényi, Z., Fülöp, L., & Hornok, L. (2001). Expression of cmg1, an exo-β-1,3-glucanase gene from *Coniothyrium minitans*, increases during sclerotial parasitism. *Applied and Environmental Microbiology, 67*(2), 865-871. doi:10.1128/aem.67.2.865-871.2001.

Gong, X., Fu, Y., Jiang, D., Li, G., Yi, X., & Peng, Y. (2007). l-Arginine is essential for conidiation in the filamentous fungus *Coniothyrium minitans*. *Fungal Genetics and Biology, 44*(12), 1368-1379. doi:10.1016/j.fgb.2007.07.007.

Gordon, T. R., & Martyn, R. D. (1997). The evolutionary biology of *Fusarium oxysporum*. *Annual Review of Phytopathology, 35*, 111-128. doi:10.1146/annurev.phyto.35.1.111.

Gorgen, C. A., Da Silveira Neto, A. N., Carneiro, L. C., Ragagnin, V., & Junior, M. L. (2010). Controle do mofo-branco com palhada e *Trichoderma harzianum* 1306 em soja. *Pesquisa Agropecuária Brasileira, 44*(12), 1583-1590. doi:10.1590/S0100-204X2009001200004.

Government Publishing Office (GPO). (2016). *Federal register*. Recuperado de https://www.federalregister.gov/agencies/government-publishing-office.

Grady, E. N., MacDonald, J., Liu, L., Richman, A., & Yuan, Z.-C. (2016). Current knowledge and perspectives of *Paenibacillus*: a review. *Microbial Cell Factories, 15*(1), 203. doi:10.1186/s12934-016-0603-7.

Grayston, S. J., & Campbell, C. D. (1996). Functional biodiversity of microbial communities in the rhizospheres of hybrid larch (*Larix eurolepis*) and Sitka spruce (*Picea sitchensis*). *Tree physiology, 16*(11-12), 1031-1038. doi:10.1093/treephys/16.11-12.1031.

Grossbard, E. (1945). Control of plant diseases by microbial antagonism. *Rep. exp. Res. Sta. Cheshunt, 31*, 55.

Grossbard, E. (1946). The control of plant diseases by microbial antagonism. *Rep. exp. Res. Sta. Cheshunt, 32*, 41.

Grossbard, E. (1947). The control of plant diseases by microbial antagonism. *Rep. exp. Res. Sta. Cheshunt*, 33, 29.

Grossbard, E. (1948a). Investigations on microbial antagonism and antibiotic substances. *Rep. exp. Res. Sta. Cheshunt, 34*, 37.

Grossbard, E. (1948b). Production of an antibiotic substance on wheat straw and other organic materials and in soil. *Nature, 161*(4094), 614. doi:10.1038/161614a0.

Grossbard, E. (1949). Investigations on microbial antagonism and antibiotic substances. *Rep. exp. Res. Sta. Cheshunt, 35*, 38.

Grossbard, E. (1952). Antibiotic production by fungi on organic manures and in soil. *Journal of General Microbiology, 6*(3-4), 295-310. doi:10.1099/00221287-6-3-4-295.

Haas, D., & Défago, G. (2005). Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent Pseudomonads. *Nature Reviews. Microbiology, 3*(4), 307. doi:10.1038/nrmicro1129.

Hadar, Y., Harman, G., & Taylor, A. (1984). Evaluation of *Trichoderma koningii* and *T. harzianum* from New York soils for biological control of seed rot caused by *Pythium* spp. *Phytopathology, 74*(1), 106-110. doi:10.1094/Phyto-74-106.

Haichar, F. Z., Marol, C., Berge, O., Rangel-Castro, J. I., Prosser, J. I., Balesdent, J., ... Achouak, W. (2008). Plant host habitat and root exudates shape soil bacterial community structure. *The Isme Journal, 2*(12), 1221. doi:10.1038/ismej.2008.80.

Han, Q., Wu, F., Wang, X., Qi, H., Shi, L., Ren, A., ... Tang, C. (2015). The bacterial lipopeptide iturins induce *Verticillium dahliae* cell death by affecting fungal signalling pathways and mediate plant defence responses involved in pathogen-associated molecular pattern-triggered immunity. *Environmental Microbiology, 17*(4), 1166-1188. doi:10.1111/1462-2920.12538.

Hanson, L. E., & Howell, C. R. (2004). Elicitors of plant defense responses from biocontrol strains of *Trichoderma virens*. *Phytopathology, 94*(2), 171-176. doi:10.1094/PHYTO.2004.94.2.171.

Harman, G., Chet, I., & Baker, R. (1980). *Trichoderma hamatum* effects on seed and seedling disease induced in radish and pea by *Pythium* spp. or *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology, 70*(12), 1167-1172. doi:10.1094/Phyto-70-1167.

Harman, G. E. (2000). Myths and dogmas of biocontrol changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzinum* T-22. *Plant Disease, 84*(4), 377-393. doi:10.1094/PDIS.2000.84.4.377.

Harman, G. E., Chet, I., & Baker, R. (1981). Factors affecting *Trichoderma hamatum* applied to seeds as a biocontrol agent. *Phytopathology, 71*(6), 569-572. doi:10.1094/Phyto-71-569.

Harman, G. E., Howell, C. R., Viterbo, A., Chet, I., & Lorito, M. (2004). *Trichoderma* species — opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews. Microbiology, 2*(1), 43. doi:10.1038/nrmicro797.

Hartley, C. (1921). *Damping-off in forest nurseries* (Vol. 934). Washington, EE. UU.: US Department of Agriculture.

Hartmann, A., Rothballer, M., & Schmid, M. (2008). Lorenz Hiltner, a pioneer in rhizosphere microbial ecology and soil bacteriology research. *Plant and Soil, 312*(1), 7-14. doi:10.1007/s11104-007-9514-z.

Henry, A. W. (1931). The natural microflora of the soil in relation to the foot-rot problem of wheat. *Canadian Journal of Research, 4*(1), 69-77. doi:10.1139/cjr31-006.

Henry, G., Deleu, M., Jourdan, E., Thonart, P., & Ongena, M. (2011). The bacterial lipopeptide surfactin targets the lipid fraction of the plant plasma membrane to trigger immune-related defence responses. *Cellular Microbiology, 13*(11), 1824-1837. doi:10.1111/j.1462-5822.2011.01664.x.

Hermosa, R., Cardoza, R. E., Rubio, M. B., Gutiérrez, S., & Monte, E. (2014). Chapter 10 - Secondary metabolism and antimicrobial metabolites of *Trichoderma*. En M. S. Herrera- Estrella, R. S. U. Druzhinina, & M. G. Tuohy (Eds.), *Biotechnology and biology of Trichoderma* (pp. 125-137). Amsterdam, Holanda: Elsevier. doi:10.1016/B978-0-444-59576-8.00010-2.

Hiltner, L. (1904). Über neuere Erfahrungen und Probleme auf dem Gebiet der Bodenbakteriologie und unter besonderer Berücksichtigung der Gründüngung und Brache. *Arbeiten der Deutschen Landwirtschafts Gesellschaft, 98*, 59-78.

Hinsinger, P. (1998). How do plant roots acquire mineral nutrients? Chemical processes involved in the rhizosphere. *Advances in Agronomy, 64*, 225-265.

Hinsinger, P. (2001). Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root-induced chemical changes: a review. *Plant and Soil, 237*(2), 173-195. doi:10.1023/a:1013351617532.

Hinsinger, P., Gobran, G. R., Gregory, P. J., & Wenzel, W. W. (2005). Rhizosphere geometry and heterogeneity arising from root-mediated physical and chemical processes. *The New Phytologist, 168*(2), 293-303. doi:10.1111/j.1469-8137.2005.01512.x.

Hinsinger, P., Plassard, C., & Jaillard, B. (2006). Rhizosphere: A new frontier for soil biogeochemistry. *Journal of Geochemical Exploration, 88*(1-3), 210-213. doi:10.1016/j.gexplo.2005.08.041.

Hinsinger, P., Plassard, C., Tang, C., & Jaillard, B. (2003). Origins of root-mediated pH changes in the rhizosphere and their responses to environmental constraints: A review. *Plant and Soil, 248*(1), 43-59. doi:10.1023/a:1022371130939.

Hoitink, H., & Boehm, M. (1999). Biocontrol within the context of soil microbial communities: a substrate-dependent phenomenon. *Annual Review of Phytopathology, 37*, 427-446. doi:10.1146/annurev.phyto.37.1.427.

Hoitink, H. A. J., Madden, L. V., & Dorrance, A. E. (2006). Systemic resistance induced by *Trichoderma* spp.: Interactions between the host, the pathogen, the biocontrol agent, and soil organic matter quality. *Phytopathology, 96*(2), 186-189. doi:10.1094/PHYTO-96-0186.

Hornby, D. (1983). Suppressive soils. *Annual Review of Phytopatholgy*, *21*(1), 65-85. doi:10.1146/annurev.py.21.090183.000433.

Howell, C. (1982). Effect of *Gliocladium virens* on *Pythium ultimum*, *Rhizoctonia solani*, and damping-off of cotton seedlings. *Phytopathology*, *72*(5), 496-498. doi:10.1094/Phyto-72-496.

Howell, C. R. (2003). Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts. *Plant Disease*, *87*(1), 4-10. doi:10.1094/PDIS.2003.87.1.4.

Howell, C. R. (2006). Understanding the mechanisms employed by *Trichoderma virens* to effect biological control of cotton diseases. *Phytopathology*, *96*(2), 178-180. doi:10.1094/PHYTO-96-0178.

Howell, C. R., & Puckhaber, L. S. (2005). A study of the characteristics of "P" and "Q" strains of *Trichoderma virens* to account for differences in biological control efficacy against cotton seedling diseases. *Biological Control*, *33*(2), 217-222. doi:10.1016/j.biocontrol.2005.02.003.

Hoyos, L., Galvis, F., & Rodríguez, D. (2012). Aislamientos nativos y foráneos de *Trichoderma* para el control de Rizoctoniasis en papa criolla. *Revista de Ciencias Agrícolas*, *29*(1), 5-15.

Humphris, S. N., Bengough, A. G., Griffiths, B. S., Kilham, K., Rodger, S., Stubbs, V., ... Young, I. M. (2005). Root cap influences root colonisation by *Pseudomonas fluorescens* SBW25 on maize. *FEMS Microbiology Ecology*, *54*(1), 123-130. doi:10.1016/j.femsec.2005.03.005.

Hutchinson, C. M. (1999). *Trichoderma virens*-Inoculated composted chicken manure for biological weed control. *Biological Control*, *16*(2), 217-222. doi:10.1006/bcon.1999.0759.

Ihrmark, K., Asmail, N., Ubhayasekera, W., Melin, P., Stenlid, J., & Karlsson, M. (2010). Comparative molecular evolution of *Trichoderma* chitinases in response to mycoparasitic interactions. *Evolutionary Bioinformatics*, *6*, EBO.S4198. doi:10.4137/EBO.S4198.

Ikeda, S., Shimizu, A., Shimizu, M., Takahashi, H., & Takenaka, S. (2012). Biocontrol of black scurf on potato by seed tuber treatment with *Pythium oligandrum*. *Biological Control*, *60*(3), 297-304. doi:10.1016/j.biocontrol.2011.10.016.

Inbar, J., & Chet, I. (1996). The role of lectins in recognition and adhesion of the mycoparasitic fungus *Trichoderma* spp. To its host. En I. Kahane, & I. Ofek (Eds.), *Toward anti-adhesion therapy for microbial diseases* (pp. 229-231). Boston, EE. UU.: Springer us. doi:10.1007/978-1-4613-0415-9_27.

Inderbitzin, P., Bostock, R. M., Davis, R. M., Usami, T., Platt, H. W., & Subbarao, K. V. (2011). Phylogenetics and taxonomy of the fungal vascular wilt pathogen *Verticillium*, with the descriptions of five new species. *PLoS One*, *6*(12), e28341. doi:10.1371/journal.pone.0028341.

Inès, M., & Dhouha, G. (2015). Lipopeptide surfactants: Production, recovery and pore forming capacity. *Peptides*, *71*, 100-112. doi:10.1016/j.peptides.2015.07.006.

Instituto Brasileiro de Geografía e Estatística (IBGE). (2016). *Levantamento sistemático da produção agrícola - LSPA*. Recuperado de https://www.ibge.gov.br/estatisticas-novoportal/economicas/agricultura-e-pecuaria/9201-levantamento-sistematico-da-producao-agricola.html?=&t=o-que-e.

Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). (2018a). *Productos registrados bioinsumos abril de 2018*. Recuperado de http://www.ica.gov.co/getdoc/2ad9e987-8f69-4358-b8a9-e6ee6dcc8132/PRODUCTOSBIOINSUMOS-MAYO-13-DE-2008.aspx.

Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). (2018b). *Empresas registradas bioinsumos - abril de 2018*. Recuperado de http://www.ica.gov.co/Areas/Agricola/Servicios/Fertilizantes-y-Bio-insumos-Agricolas/Listado-de-Bioinsumos/2009/EMPRESAS-REGISTRADAS-BIOINSUMOS-JULIO-8-DE-2008.aspx.

Iriarte, F. B., Obradović, A., Wernsing, M. H., Jackson, L. E., Balogh, B., Hong, J. A., ... Vallad, G. E. (2012). Soil-based systemic delivery and phyllosphere *in vivo* propagation of bacteriophages. *Bacteriophage*, *2*(4) 215–224. doi:10.4161/bact.23530.

Jacqmin, B., Cotes, A., Lepoivre, P., & Semal, J. (1993). Effect of the combination of seed priming and *Trichoderma* treatment on incidence of damping-off agents. *Mededelingen van de Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen (Rijksuniversiteit te Gent)*, *58*(3b), 1321-1328.

Jagnow, G., Höflich, G., & Hoffmann, K.-H. (1991). Inoculation of non-symbiotic rhizosphere bacteria: possibilities of increasing and stabilizing yields. *Journal of applied botany = Angewandte Botanik*, *65*(26), 97-126.

Jaklitsch, W. M. (2011). European species of Hypocrea part II: species with hyaline ascospores. *Fungal Diversity*, *48*(1), 1-250. doi:10.1007/s13225-011-0088-y.

Javaid, A., & Ali, S. (2011). Herbicidal activity of culture filtrates of *Trichoderma* spp. against two problematic weeds of wheat. *Natural Product Research*, *25*(7), 730-740. doi:10.1080/14786419.2010.528757.

Ji, P., Campbell, H. L., Kloepper, J. W., Jones, J. B., Suslow, T. V., & Wilson, M. (2006). Integrated biological control of bacterial speck and spot of tomato under field conditions using foliar biological control agents and plant growth-promoting rhizobacteria. *Biological Control*, *36*(3), 358-367. doi:10.1016/j.biocontrol.2005.09.003.

Jones, D. L., Hodge, A., & Kuzyakov, Y. (2004). Plant and mycorrhizal regulation of rhizodeposition. *New Phytologist*, *163*(3), 459-480. doi:10.1111/j.1469-8137.2004.01130.x.

Jones, R. W., & Hancock, J. G. (1987). Conversion of viridin to viridiol by viridin-producing fungi. *Canadian Journal of Microbiology*, *33*(11), 963-966. doi:10.1139/m87-169.

Jourdan, E., Henry, G., Duby, F., Dommes, J., Barthélemy, J. P., Thonart, P., & Ongena, M. (2009). Insights into the defense-related events occurring in plant cells following perception of surfactin-type lipopeptide from *Bacillus subtilis*. *Molecular Plant-Microbe Interactions, 22*(4), 456-468. doi:10.1094/MPMI-22-4-0456.

Justesen, A. F., Yohalem, D., Bay, A., & Nicolaisen, M. (2004). Genetic diversity in potato field populations of *Thanatephorus cucumeris* AG-3, revealed by ITS polymorphism and RAPD markers. *Mycological Research, 107*(11), 1323-1331. doi:10.1017/S0953756203008517.

Kamilova, F., Kravchenko, L. V., Shaposhnikov, A. I., Makarova, N., & Lugtenberg, B. (2006). Effects of the tomato pathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* and of the biocontrol bacterium *Pseudomonas fluorescens* WCS365 on the composition of organic acids and sugars in tomato root exudate. *Molecular Plant-Microbe Interactions, 19*(10), 1121-1126. doi:10.1094/MPMI-19-1121.

Kao, C. W., & Ko, W. H. (1986). The role of calcium and micro-organisms in suppression of cucumber damping-off caused by *Pythium splendens* in a Hawaiian soil. *Phytopathology, 76*(2), 221-225. doi:10.1094/Phyto-76-221.

Karaca, G., Tepedelen, G., Belghouthi, A., & Paul, B. (2008). A new mycoparasite, *Pythium lycopersicum*, isolated in Isparta, Turkey: morphology, molecular characteristics, and its antagonism with phytopathogenic fungi. *FEMS Microbiology Letters, 288*(2), 163-170. doi:10.1111/j.1574-6968.2008.01334.x.

Keijer, J. (1996). The initial steps of the infection process in *Rhizoctonia solani*. En B. Sneh, S. Jabaji-Hare, S. Neate, & G. Dijst (Eds.), *Rhizoctonia species: Taxonomy, molecular biology, ecology, pathology and disease control* (pp. 149-162). Dordrecht, Holanda: Springer. doi:10.1007/978-94-017-2901-7_13.

Kembel, S. W., O'Connor, T. K., Arnold, H. K., Hubbell, S. P., Wright, S. J., & Green, J. L. (2014). Relationships between phyllosphere bacterial communities and plant functional traits in a neotropical forest. *Proceedings of the National Academy of Sciences, 111*(38), 13715-13720. doi:10.1073/pnas.1216057111.

Kerr, A. (1974). Soil microbiological studies on *Agrobacterium radiobacter* and biological control of crown gall. *Soil Science, 118*, 168-172. doi:10.1097/00010694-197409000-00006.

Kerr, A., & Htay, K. (1974). Biological control of crown gall through bacteriocin production. *Physiological Plant Pathology, 4*(1), 37-44. doi:10.1016/0048-4059(74)90042-3.

Kloepper, J. W. (1993). Plant growth promoting rhizobacteria as biological control agents. En B. F. Metting (Ed.), *Soil microbial ecology-applications in agricultural and environmental management* (pp. 255-274). Nueva York, EE. UU.: DRD Press.

Kloepper, J. W., Leong, J., Teintze, M., & Schroth, M. N. (1980). Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth-promoting rhizobacteria. *Nature, 286*, 885-886. doi:10.1038/286885a0.

Kloepper, J. W., & Schroth, M. N. (1978). Plant growth-promoting rhizobacteria on radishes. En Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) (Ed.), *Proceedings of the 4th International Conference on Plant Pathogenic Bacteria* (Vol. 2, pp. 879-882). Angers, Francia: INRA

Klosterman, S. J., Atallah, Z. K., Vallad, G. E., & Subbarao, K. V. (2009). Diversity, pathogenicity, and management of *Verticillium* species. *Annual Review of Phytopathology, 47*(1), 39-62. doi:10.1146/annurev-phyto-080508-081748.

Knudsen, I. M. B., Hockenhull, J., Jensen, D. F., Gerhardson, B., Hökeberg, M., Tahvonen, R., ... Henriksen, B. (1997). Selection of biological control agents for controlling soil and seed-borne diseases in the field. *European Journal of Plant Pathology, 103*(9), 775-784. doi:10.1023/a:1008662313042.

Kotila, J., & Coons, G. (1925). Investigations on the blackleg disease of potato. *Michigan Agricultural Experimental Station Technical Bulletin, 67*, 3-29.

Kratka, J., Bergmanova, E., & Kudelova, A. (1994). Effect of *Pythium oligandrum* and *Pythium ultimum* on biochemical changes in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Journal of Plant Diseases and Protection, 101*(4), 406-413.

Kubicek, C. P., Herrera-Estrella, A., Seidl-Seiboth, V., Martinez, D. A., Druzhinina, I. S., Thon, M., ... Grigoriev, I. V. (2011). Comparative genome sequence analysis underscores mycoparasitism as the ancestral life style of *Trichoderma*. *Genome Biology, 12*(4), R40. doi:10.1186/gb-2011-12-4-r40.

Kulkarni, R. D., Thon, M. R., Pan, H., & Dean, R. A. (2005). Novel G-protein-coupled receptor-like proteins in the plant pathogenic fungus *Magnaporthe grisea*. *Genome Biology, 6*(3), R24. doi:10.1186/gb-2005-6-3-r24.

Kumar, A., & Johri, B. N. (2012). Antimicrobial lipopeptides of *Bacillus*: Natural weapons for biocontrol of plant pathogens. En T. Satyanarayana, & B. N. Johri (Eds.), *Microorganisms in sustainable agriculture and biotechnology* (pp. 91-111). Dordrecht, Holanda: Springer. doi:10.1007/978-94-007-2214-9_6.

Kumar, A., Saini, S., Wray, V., Nimtz, M., Prakash, A., & Johri, B. N. (2012). Characterization of an antifungal compound produced by *Bacillus* sp. strain A5F that inhibits *Sclerotinia sclerotiorum*. *Journal of Basic Microbiology, 52*(6), 670-678. doi:10.1002/jobm.201100463.

Kurzawińska, H., & Mazur, S. (2008). Biological control of potato against *Rhizoctonia solani* (Kühn). *Sodininkystė ir Daržininkystė, 27*(2), 419-425.

Larkin, R., Hopkins, D., & Martin, F. (1993). Effect of successive watermelon plantings on *Fusarium oxysporum* and other microorganisms in soils suppressive and conducive. *Phytopathology, 83*(10), 1097-1105. doi:10.1094/Phyto-83-1097.

Latgé, J. P. (2007). The cell wall: a carbohydrate armour for the fungal cell. *Molecular Microbiology*, *66*(2), 279-290. doi:10.1111/j.1365-2958.2007.05872.x.

Lazarovits, G., Turnbull, A., & Johnston-Monje, D. (2014). Plant health management: Biological control of plant pathogens a2. En N. K. V. Alfen (Ed.), *Encyclopedia of Agriculture and Food Systems* (pp. 388-399). Oxford, Reino Unido: Academic Press. doi:10.1016/B978-0-444-52512-3.00177-7.

Le Floch, G., Rey, P., Benizri, E., Benhamou, N., & Tirilly, Y. (2003). Impact of auxin-compounds produced by the antagonistic fungus *Pythium oligandrum* or the minor pathogen *Pythium* group F on plant growth. *Plant and Soil*, *257*(2), 459-470. doi:10.1023/A:1027330024834.

Lehner, M. S., Pethybridge, S. J., Meyer, M. C., & Del Ponte, E. M. (2017). Meta-analytic modelling of the incidence–yield and incidence–sclerotial production relationships in soybean white mould epidemics. *Plant Pathology*, *66*(3), 460-468. doi:10.1111/ppa.12590.

Lehtonen, M. J., Somervuo, P., & Valkonen, J. P. T. (2008). Infection with *Rhizoctonia solani* induces defense genes and systemic resistance in potato sprouts grown without light. *Phytopathology*, *98*(11), 1190-1198. doi:10.1094/PHYTO-98-11-1190.

Leslie, J. F., & Summerell, B. A. (2008). *Fusarium oxysporum* Schlechtendahl emend. Snyder & Hansen. En *The Fusarium laboratory manual* (pp. 212-218). Ames, EE. UU.: Blackwell Publishing.

Li, B., Fu, Y., Jiang, D., Xie, J., Cheng, J., Li, G., ... Yi, X. (2010). Cyclic GMP as a second messenger in the nitric oxide-mediated conidiation of the mycoparasite *Coniothyrium minitans*. *Applied and Environmental Microbiology*, *76*(9), 2830-2836. doi:10.1128/aem.02214-09.

Li, L., Mo, M., Qu, Q., Luo, H., & Zhang, K. (2007). Compounds inhibitory to nematophagous fungi produced by *Bacillus* sp. strain H6 isolated from fungistatic soil. *European Journal of Plant Pathology*, *117*(4), 329-340. doi:10.1007/s10658-007-9101-4.

Lifshitz, R., Dupler, M., Elad, Y., & Baker, R. (1984a). Hyphal interactions between a mycoparasite, *Pythium nunn*, and several soil fungi. *Canadian Journal of Microbiology*, *30*(12), 1482-1487. doi:10.1139/m84-236.

Lifshitz, R., Stanghellini, M. E., & Baker, R. (1984b). A new species of *Pythium* isolated from soil in Colorado. *Mycotaxon*, *20*(2), 373-379.

Lifshitz, R., Windham, M., & Baker, R. (1986). Mechanism of biological control of preemergence damping-off of pea by seed treatment with *Trichoderma* spp. *Phytopathology*, *76*(7), 720-725.

Limón, M. C., Chacón, M. R., Mejías, R., Delgado-Jarana, J., Rincón, A. M., Codón, A. C., & Benítez, T. (2004). Increased antifungal and chitinase specific activities of *Trichoderma harzianum* CECT 2413 by addition of a cellulose binding domain. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *64*(5), 675-685. doi:10.1007/s00253-003-1538-6.

Lindberg, G. D. (1959). A transmissible disease of *Helminthosporium victoriae*. *Phytopathology*, *49*, 29-32.

Liu, S.-D., & Baker, R. (1980). Mechanism of biological control in soil suppressive to *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology*, *70*(5), 404-412.

Lochhead, A. G. (1940). Qualitative studies of soil microorganisms: III. Influence of plant growth on the character of the bacterial flora. *Canadian Journal of Research*, *18c*(2), 42-53. doi:10.1139/cjr40c-007.

Lochhead, A. G., & Chase, F. E. (1943). Qualitative studies of soil microorganisms: V. Nutritional requirements of the predominant bacterial flora. *Soil Science*, *55*(2), 185-196.

Lodha, B. C., & Webster, J. (1990). *Pythium acanthophoron*, a mycoparasite, rediscovered in India and Britain. *Mycological Research*, *94*(7), 1006-1008. doi:10.1016/S0953-7562(09)81323-3.

Lorito, M., Farkas, V., Rebuffat, S., Bodo, B., & Kubicek, C. P. (1996). Cell wall synthesis is a major target of mycoparasitic antagonism by *Trichoderma harzianum*. *Journal of Bacteriology*, *178*(21), 6382-6385. doi:10.1128/jb.178.21.6382-6385.1996.

Lorito, M., & Woo, S. L. (2015). *Trichoderma*: A multi-purpose tool for integrated pest management. En B. Lugtenberg (Ed.), *Principles of plant-microbe interactions: Microbes for sustainable agriculture* (pp. 345-353). Cham, Alemania: Springer International Publishing. doi:10.1007/978-3-319-08575-3_36.

Lorito, M., Woo, S. L., Harman, G. E., & Monte, E. (2010). Translational research on *Trichoderma*: from omics to the field. *Annual Review of Phytopathology*, *48*, 395-417. doi:10.1146/annurev-phyto-073009-114314.

Lugtenberg, B. (2015). Introduction to plant-microbe interactions. En B. Lugtenberg (Ed.), *Principles of plant-microbe interactions: Microbes for sustainable agriculture* (pp. 1-2). Cham, Alemania: Springer International Publishing. doi:10.1007/978-3-319-08575-3_1.

Lugtenberg, B., & Kamilova, F. (2009). Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Annual Review of Microbiology*, *63*, 541-556. doi:10.1146/annurev.micro.62.081307.162918.

Lugtenberg, B. J. J., Dekkers, L., & Bloemberg, G. V. (2001). Molecular determinants of rhizosphere colonization by *Pseudomonas*. *Annual Review of Phytopathology*, *39*, 461-490. doi:10.1146/annurev.phyto.39.1.461.

Lumsden, R., Locke, J., Adkins, S., Walter, J., & Ridout, C. (1992). Isolation and localization of the antibiotics gliotoxin produced by *Gliocladium virens* from alginate prill in soil and soilless media. *Phytopathology*, *82*(2), 230-235. doi:10.1094/Phyto-82-230.

Luo, Y., Zhang, D.-D., Dong, X.-W., Zhao, P.-B., Chen, L.-L., Song, X.-Y., ... Zhang, Y.-Z. (2010). Antimicrobial peptaibols induce defense responses and systemic resistance in tobacco against tobacco mosaic virus. *FEMS Microbiology Letters*, *313*(2), 120-126. doi:10.1111/j.1574-6968.2010.02135.x.

Lynch, J. M. (1990). Introduction: some consequences of microbial rhizosphere competence for plant and soil. En *The rhizosphere* (pp. 1-10). Chichester, Inglaterra: John Wiley and Sons Ltd.

Ma, Z., Hua, G. K. H., Ongena, M., & Höfte, M. (2016). Role of phenazines and cyclic lipopeptides produced by *Pseudomonas* sp. CMR12a in induced systemic resistance on rice and bean. *Environmental Microbiology Reports*, *8*(5), 896-904. doi:10.1111/1758-2229.12454.

Maget-Dana, R., & Peypoux, F. (1994). Iturins, a special class of pore-forming lipopeptides: biological and physicochemical properties. *Toxicology*, *87*(1-3), 151-174. doi:10.1016/0300-483X(94)90159-7.

Malamud, O. S. (1989). Research progress on *Verticillium* dahliae Kleb. En Centro Internacional de la Papa (CIP), *Fungal Diseases of the Potato. Report of planning conference on fungal diseases of the potato* (pp. 139-157). Lima, Perú: CIP.

Malfanova, N., Franzil, L., Lugtenberg, B., Chebotar, V., & Ongena, M. (2012). Cyclic lipopeptide profile of the plant-beneficial endophytic bacterium *Bacillus subtilis* HC8. *Archives of Microbiology*, *194*(11), 893-899. doi:10.1007/s00203-012-0823-0.

Maloy, O. C., & Lang, K. J. (2003). Carl Freiherr Von Tubeuf: Pioneer in biological control of plant diseases. *Annual Review of Phytopatholgy*, *41*(1), 41-52. doi:10.1146/annurev.phyto.41.052002.095444.

Mallmann, W., & Hemstreet, C. (1924). Isolation of an inhibitory substance from plants. *Agricultural Research*, *28*(6), 599-602.

Mandimba, G., Heulin, T., Bally, R., Guckert, A., & Balandreau, J. (1986). Chemotaxis of free-living nitrogen-fixing bacteria towards maize mucilage. *Plant and Soil*, *90*(1-3), 129-139. doi:10.1007/bf02277392.

Marcum, D. B., Grogan, R. G., & Greathead, A. S. (1977). Fungicide control of lettuce drop caused by *Sclerotinia sclerotiorum* 'minor'. *Plant Disease Reporter*, *61*, 555-559.

Marschner, H. (1995). *Mineral nutrition of higher plants* (2.ª ed.). Londres, Reino Unido: Academic Press. doi:10.1111/j.1365-3040.1988.tb01130.x.

Marshall, D. (1982). Effect of *Trichoderma harzianum* seed treatment and *Rhizoctonia solani* inoculum concentration on damping-off of snap bean in acidic soils. *Plant Disease*, *66*(9), 788-789. doi:10.1094/PD-66-788.

Martin, F., & Hancock, J. (1986). Association of chemical and biological factors in soils suppressive to *Pythium ultimum*. *Phytopathology*, *76*(11), 1221-1231. doi:10.1094/Phyto-76-1221.

Mastouri, F., Björkman, T., & Harman, G. E. (2010). Seed treatment with *Trichoderma harzianum* alleviates biotic, abiotic, and physiological stresses in germinating seeds and seedlings. *Phytopathology*, *100*(11), 1213-1221. doi:10.1094/PHYTO-03-10-0091.

Mavrodi, D. V., Parejko, J. A., Mavrodi, O. V., Kwak, Y.-S., Weller, D.M., Blankenfeldt, W., & Thomashow, L.S. (2013). Recent insights into the diversity, frequency and ecological roles of phenazines in fluorescent *Pseudomonas* spp. *Environmental Microbiology*, *15*(3), 675-686. doi:10.1111/j.1462-2920.2012.02846.x.

Mazzola, M. (1998). The potential of natural and genetically engineered fluorescent *Pseudomonas* spp. as biological control agents. En N. S. Subba & Y. R. Dommergues (Eds.), *Microbial Interactions in agriculture and forestry* (Vol. 1, pp. 193-217). Enfield, EE. UU.: Science Publishers, Inc.

McClure, T. T. (1951). *Fusarium* foot rot of sweet potato sprouts. *Phytopathology*, *41*, 72-77.

McKinney, H. H. (1929). Mosaic diseases in the Canary Islands, West Africa and Gibraltar. *Journal of Agricultural Research*, *39*(8), 577-578.

McQuilken, M. P., Gemmell, J., Hill, R. A., & Whipps, J. M. (2003). Production of macrosphelide A by the mycoparasite *Coniothyrium minitans*. *FEMS Microbiology Letters*, *219*(1), 27-31. doi:10.1016/S0378-1097(02)01180-1.

Mendes, R., Kruijt, M., de Bruijn, I., Dekkers, E., Van der Voort, M., Schneider, J. H., ... Raaijmakers, J. M. (2011). Deciphering the rhizosphere microbiome for disease-suppressive bacteria. *Science*, *332*(6033), 1097-1100. doi:10.1126/science.1203980.

Mendgen, K., Hahn, M., & Deising, H. (1996). Morphogenesis and mechanisms of penetration by plant pathogenic fungi. *Annual Review of Phytopathology*, *34*(1), 367-386. doi:10.1146/annurev.phyto.34.1.367.

Menzies, J. D. (1959). Occurrence and transfer of a biological factor in soil that suppresses potato scab. *Phytopathology*, *49*, 648-652.

Meyer, M., Campos, H., Godoy, C., & Utiamada, C. (2016). Ensaios cooperativos de controle biológico de mofo branco na cultura da soja - safras 2012 a 2015. *Documentos*, *368*, 19-46. doi:10.13140/RG.2.1.3074.9842.

Meyer, M., Campos, H., Godoy, C., Utiamada, C., Silva, L. H. C. P., Goussain, M., ... Juliatti, F. C. (2017). Ensaios cooperativos de controle biológico de *Sclerotinia sclerotiorum* na cultura da soja: resultados sumarizados da safra 2015/2016. *Circular Técnica*, *124*, 1-5.

Meyer, M. C., Campos, H. D., Godoy, C. V., & Utiamada, C. M. (2014). Ensaios cooperativos de controle químico de mofo branco na cultura da soja: safras 2009 a 2012. *Documentos*, *345*, 1-101.

Meyer, M. C., Campos, H. D., Henning, A. A., Machado, A. Q., Utiamada, C. M., Pimenta, C. B., ... Venancio,W. S. (2015). Eficiência de fungicidas para controle de mofo branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) em soja, na safra 2009/2010 – resultados sumarizados e individuais dos ensaios cooperativos. *Circular Técnica*, *109*, 1-24.

Mezui, J. C., Cotes, A. M., Lepoivre, P., & Semal, J. (1994). Evaluation of seed priming and *Trichoderma* treatment for the biological control of damping-off agents. En

Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) (Ed.), *Diseases and insects in forest nurseries* (Vol. 68, pp. 189-196). Dijon, Francia: INRA.

Millard, W. A., & Taylor, C. B. (1927). Antagonism of micro-organisms as the controlling factor in the: Inhibition of scab by green-manuring. *Annals of Applied Biology*, *14*(2), 202-216. doi:10.1111/j.1744-7348.1927.tb07076.x.

Mohamed, N., Lherminier, J., Farmer, M. J., Fromentin, J., Béno, N., Houot, V., ... Blein, J. P. (2007). Defense responses in grapevine leaves against *Botrytis cinerea* induced by application of a *Pythium oligandrum* strain or its elicitin, oligandrin, to roots. *Phytopathology*, *97*(5), 611-620. doi:10.1094/PHYTO-97-5-0611.

Monaci, L., Quintieri, L., Caputo, L., Visconti, A., & Baruzzi, F. (2016). Rapid profiling of antimicrobial compounds characterising *B. subtilis* TR50 cell-free filtrate by high-performance liquid chromatography coupled to high-resolution Orbitrap™ mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, *30*(1), 45-53. doi:10.1002/rcm.7408.

Mongkolthanaruk, W. (2012). Classification of *Bacillus* beneficial substances related to plants, humans and animals. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, *22*(12), 1597-1604.

Monteiro, F. P., Ferreira, L. C., Pacheco, L. P., & Souza, P. E. (2013). Antagonism of *Bacillus subtilis* against *Sclerotinia sclerotiorum* on *Lactuca sativa*. *Journal of Agricultural Science*, *5*(4), 214-223. doi:10.5539/jas.v5n4p214.

Montero, M., Sanz, L., Rey, M., Llobell, A., & Monte, E. (2007). Cloning and characterization of *bgn*16·3, coding for a β-1,6-glucanase expressed during *Trichoderma harzianum* mycoparasitism. *Journal of Applied Microbiology*, *103*(4), 1291-1300. doi:10.1111/j.1365-2672.2007.03371.x.

Moore, E. S. (1926). D'Herelle's bacteriophage in relation to plant parasites. *South African Journal of Science*, *23*(12), 306.

Moreno-Velandia, C. A. (2017). *Interactions between Bacillus amyloliquefaciens Bs006, Fusarium oxysporum Map5 and cape gooseberry (Physalis peruviana)* (tesis doctoral). Universidad Nacional, Bogotá, Colombia.

Moreno, C., Castillo, F., González, A., Bernal, D., Jaimes, Y., Chaparro, M., ... Cotes, A. (2009). Biological and molecular characterization of the response of tomato plants treated with *Trichoderma koningiopsis*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, *74*(2), 111-120. doi:10.1016/j.pmpp.2009.10.001.

Moreno, C. A., Cotes, A. M., Smith, A., Beltrán, C., Villamizar, L., Gómez, M., ... Santos, A. (2010). *Desarrollo de un bioplaguicida a base de Trichoderma koningiopsis Th003 y uso en el cultivo de lechuga para el control del moho blanco Sclerotinia sclerotiorum y Sclerotinia minor*. Bogotá, Colombia: Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica).

Moszczyńska, E., Pytlarz-Kozicka, M., & Grzeszczuk, J. (2015). The impact of applying biological treatment on the infection of potato tubers by the fungus *Rhizoctonia solani* and the bacterium *Streptomyces scabiei*. *Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering*, *60*(4), 46-50.

Mukherjee, M., Horwitz, B. A., Sherkhane, P. D., Hadar, R., & Mukherjee, P. K. (2006). A secondary metabolite biosynthesis cluster in *Trichoderma virens:* evidence from analysis of genes underexpressed in a mutant defective in morphogenesis and antibiotic production. *Current Genetics*, *50*(3), 193-202. doi:10.1007/s00294-006-0075-0.

Mukherjee, P. K., Horwitz, B. A., & Kenerley, C. M. (2012). Secondary metabolism in *Trichoderma* – A genomic perspective. *Microbiology*, *158*(Pt 1), 35-45. doi:10.1099/mic.0.053629-0.

Mukherjee, P. K., Horwitz, B. A., Singh, U. S., Mukherjee, M., & Schmoll, M. (2013). *Trichoderma* in agriculture, industry and medicine: an overview. En P. K. Mukherjee, B. A. Horwitz, U. Singh, M. Mukherjee, & M. Schmoll (Eds.), *Trichoderma biology and applications* (pp. 1-9). Nagpur, India: CAB International.

Mukherjee, P. K., Latha, J., Hadar, R., & Horwitz, B. A. (2003). TmkA, a mitogen-activated protein kinase of *Trichoderma virens*, is involved in biocontrol properties and repression of conidiation in the dark. *Eukaryotic Cell*, *2*(3), 446-455. doi:10.1128/ec.2.3.446-455.2003.

Nihorimbere, V., Cawoy, H., Seyer, A., Brunelle, A., Thonart, P., & Ongena, M. (2012). Impact of rhizosphere factors on cyclic lipopeptide signature from the plant beneficial strain *Bacillus amyloliquefaciens* S499. *FEMS Microbiology Ecology*, *79*(1), 176-191. doi:10.1111/j.1574-6941.2011.01208.x.

Nogués, S., Cotxarrera, L., Alegre, L., & Trillas, M. I. (2002). Limitations to photosynthesis in tomato leaves induced by *Fusarium* wilt. *New Phytologist*, *154*(2), 461-470. doi:10.1046/j.1469-8137.2002.00379.x.

Notenboom, V., Boraston, A. B., Williams, S. J., Kilburn, D. G., & Rose, D. R. (2002). High-resolution crystal structures of the lectin-like xylan binding domain from *Streptomyces lividans* xylanase 10a with bound substrates reveal a novel mode of xylan binding. *Biochemistry*, *41*(13), 4246-4254. doi:10.1021/bi015865j.

Ogoshi, A. (1987). Ecology and pathogenicity of anastomosis and intraspecific groups of *Rhizoctonia solani* Kuhn. *Annual Review of Phytopathology*, *25*(1), 125-143. doi:10.1146/annurev.py.25.090187.001013.

Omann, M., & Zeilinger, S. (2010). How a mycoparasite employs G-protein signaling: Using the example of *Trichoderma*. *Journal of Signal Transduction, 2010*, 123-126. doi:10.1155/2010/123126.

Omann, M. R., Lehner, S., Escobar Rodríguez, C., Brunner, K., & Zeilinger, S. (2012). The seven-transmembrane receptor Gpr1 governs processes relevant for the antagonistic interaction of *Trichoderma* atroviride with its host. *Microbiology*, *158*(Pt 1), 107-118. doi:10.1099/mic.0.052035-0.

Ongena, M., Henry, G., & Thonart, P. (2009). The roles of cyclic lipopeptides in the biocontrol activity of *Bacillus subtilis*. En U. Gisi, I. Chet, & M. L. Gullino (Eds.), *Recent developments in management of plant diseases* (pp. 59-69). Dordrecht, Holanda: Springer. doi:10.1007/978-1-4020-8804-9_5.

Ongena, M., & Jacques, P. (2008). *Bacillus lipopeptides:* versatile weapons for plant disease biocontrol. *Trends in Microbiology*, *16*(3), 115-125. doi:10.1016/j.tim.2007.12.009.

Pal, K. K., & Gardener, B. M. (2006). Biological control of plant pathogens. *The Plant Health Instructor, 2*, 1117-1142. doi:10.1094/PHI-A-2006-1117-02.

Papapostolou, I., & Georgiou, C. D. (2010). Superoxide radical induces sclerotial differentiation in filamentous phytopathogenic fungi: a superoxide dismutase mimetics study. *Microbiology*, *156*(Pt 3), 960-966. doi:10.1099/mic.0.034579-0.

Papavizas, G., Lewis, J., & Moity, T. (1982). Evaluation of new biotypes of *Trichoderma harzianum* for tolerance to benomyl and enhanced biocontrol capabilities. *Phytopathology*, *72*(1), 126-132.

Patel, H., Tscheka, C., Edwards, K., Karlsson, G., & Heerklotz, H. (2011). All-or-none membrane permeabilization by fengycin-type lipopeptides from *Bacillus subtilis* QST713. *Biochimica et Biophysica Acta*, *1808*(8), 2000-2008. doi:https://doi:org/10.1016/j.bbamem.2011.04.008.

Pennock, D., & McKenzie, N. (2016). *Estado mundial del recurso suelo*. Recuperado de http://www.fao.org/3/a-i5126s.pdf.

Pérez-García, A., Romero, D., & De Vicente, A. (2011). Plant protection and growth stimulation by microorganisms: biotechnological applications of Bacilli in agriculture. *Current Opinion in Biotechnology*, *22*(2), 187-193. doi:10.1016/j.copbio.2010.12.003.

Pérez, S. L., Piedrahíta, W., & Arbeláez, G. (2011). Patogénesis de la pudrición blanda de la lechuga (*Lactuca sativa* L.) en la sabana de Bogotá causada por *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary y *Sclerotinia minor* Jagger. Una revisión. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, *3*(2), 262-274. doi:10.17584/rcch.2009v3i2.1217.

Pertot, I., Puopolo, G., Hosni, T., Pedrotti, L., Jourdan, E., & Ongena, M. (2013). Limited impact of abiotic stress on surfactin production in planta and on disease resistance induced by *Bacillus amyloliquefaciens* S499 in tomato and bean. *FEMS Microbiology Ecology*, *86*(3), 505-519. doi:10.1111/1574-6941.12177.

Picard, K., Ponchet, M., Blein, J.-P., Rey, P., Tirilly, Y., & Benhamou, N. (2000). Oligandrin. A proteinaceous molecule produced by the mycoparasite *Pythium oligandrum* induces resistance to *Phytophthora parasitica* infection in tomato plants. *Plant Physiology*, *124*(1), 379-396. doi:10.1104/pp.124.1.379.

Pierson, E. A., & Weller, D. M. (1994). Use of mixtures of fluorescent *Pseudomonads* to suppress take-all and improve the growth of wheat. *Phytopathology*, *84*(9), 940-947.

Pieterse, C. M. J., Van Pelt, J. A., Verhagen, B. W., Ton, J., Van Wees, A. C. M., Léon-Kloosterziel, K. M., & Van Loon, L. C. (2003). Induced systemic resistance by plant growth-promoting rhizobacteria. *Symbiosis*, *35*(1-3), 39-54.

Pietro, A. D., Madrid, M. P., Caracuel, Z., Delgado-Jarana, J., & Roncero, M. I. G. (2003). *Fusarium oxysporum:* exploring the molecular arsenal of a vascular wilt fungus. *Molecular Plant Pathology*, *4*(5), 315-325. doi:10.1046/j.1364-3703.2003.00180.x.

Purdy, L. H. (1979). *Sclerotinia sclerotiorum*: History, diseases and symptomatology, host range, geographic distribution, and impact. *Phytopathology*, *69*(8), 875-880. doi:10.1094/Phyto-69-875.

Raaijmakers, J. M., De Bruijn, I., Nybroe, O., & Ongena, M. (2010). Natural functions of lipopeptides from *Bacillus* and *Pseudomonas*: more than surfactants and antibiotics. *FEMS Microbiology Reviews*, *34*(6), 1037-1062. doi:10.1111/j.1574-6976.2010.00221.x.

Raaijmakers, J. M., Paulitz, T. C., Steinberg, C., Alabouvette, C., & Moënne-Loccoz, Y. (2009). The rhizosphere: a playground and battlefield for soilborne pathogens and beneficial microorganisms. *Plant and Soil*, *321*(1-2), 341-361. doi:10.1007/s11104-008-9568-6.

Raaijmakers, J. M., Van der Sluis, L., Bakker, P. A. H. M., Schippers, B., Koster, M., & Weisbeek, P. J. (1995). Utilization of heterologous siderophores and rhizosphere competence of fluorescent *Pseudomonas* spp. *Canadian Journal of Microbiology*, *41*(2), 126-135. doi:10.1139/m95-017.

Raaijmakers, J. M., & Weller, D. M. (1998). Natural plant protection by 2,4-Diacetylphloroglucinol-producing *Pseudomonas* spp. in take-all decline soils. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, *11*(2), 144-152. doi:10.1094 MPMI.1998.11.2.144.

Rahman, M. M. E., Hossain, D. M., Suzuki, K., Shiiya, A., Suzuki, K., Dey, T. K., ... Harada, N. (2016). Suppressive effects of *Bacillus* spp. on mycelia, apothecia and sclerotia formation of *Sclerotinia sclerotiorum* and potential as biological control of white mold on mustard. *Australasian Plant Pathology*, *45*(1), 103-117. doi:10.1007/s13313-016-0397-4.

Ravensberg, W. J. (2015). Commercialisation of microbes: Present situation and future prospects. En: B. Lugtenberg (Ed.), *Principles of plant-microbe interactions: Microbes for sustainable agriculture* (pp. 309-317). Cham, Alemania: Springer International Publishing. doi:10.1007/978-3-319-08575-3_32.

Reinking, O. A., & Manns, M. M. (1933). Parasitic and other fusaria counted in tropical soils. *Zeitschrift für Parasitenkunde*, *6*(1), 23-75. doi:10.1007/bf02121421.

Reino, J. L., Guerrero, R. F., Hernández-Galán, R., & Collado, I. G. (2008). Secondary metabolites from species of the biocontrol agent *Trichoderma*. *Phytochemistry Reviews*, *7*(1), 89-123. doi:10.1007/s11101-006-9032-2.

Reithner, B., Ibarra-Laclette, E., Mach, R. L., & Herrera-Estrella, A. (2011). Identification of mycoparasitism-related

genes in *Trichoderma atroviride*. *Applied and Environmental Microbiology*, *77*(13), 4361-4370. doi:10.1128/aem.00129-11.

Ren, L., Li, G., Han, Y. C., Jiang, D. H., & Huang, H.-C. (2007). Degradation of oxalic acid by *Coniothyrium minitans* and its effects on production and activity of β-1,3-glucanase of this mycoparasite. *Biological Control*, *43*(1), 1-11. doi:10.1016/j.biocontrol.2007.06.006.

Rey, P., Le Floch, G., Benhamou, N., & Tirilly, Y. (2008). *Pythium oligandrum* biocontrol: its relationships with fungi and plants. En E. Ait Barka, & C. Clément (Ed.), *Plant-Microbe Interactions* (pp. 43-57). Kerala, India: Research Signpost.

Roberts, W. (1873). Studies on biogenesis. *Proceedings of the Royal Society of London*, *22*(148-155), 289-291. doi:10.1098/rspl.1873.0045.

Romão-Dumaresq, A. S., De Araújo, W. L., Talbot, N. J., & Thornton, C. R. (2012). RNA interference of endochitinases in the sugarcane endophyte *Trichoderma virens* 223 reduces its fitness as a biocontrol agent of pineapple disease. *PLoS One*, *7*(10), e47888. doi:10.1371/journal.pone.0047888.

Romero, D., De Vicente, A., Olmos, J. L., Dávila, J. C., & Pérez-García, A. (2007). Effect of lipopeptides of antagonistic strains of *Bacillus subtilis* on the morphology and ultrastructure of the cucurbit fungal pathogen *Podosphaera fusca*. *Journal of Applied Microbiology*, *103*(4), 969-976. doi:10.1111/j.1365-2672.2007.03323.x.

Rotblat, B., Enshell-Seijffers, D., Gershoni Jonathan, M., Schuster, S., & Avni, A. (2002). Identification of an essential component of the elicitation active site of the EIX protein elicitor. *The Plant Journal*, *32*(6), 1049-1055. doi:10.1046/j.1365-313X.2002.01490.x.

Rovira, A. D. (1956). Plant root excretions in relation to the rhizosphere effect. *Plant and Soil*, *7*(2), 178-194. doi:10.1007/BF01343726.

Ruocco, M., Lanzuise, S., Vinale, F., Marra, R., Turrà, D., Woo, S. L., & Lorito, M. (2009). Identification of a new biocontrol gene in *Trichoderma atroviride*: The role of an ABC transporter membrane pump in the interaction with different plant-pathogenic fungi. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, *22*(3), 291-301. doi:10.1094/MPMI-22-3-0291.

Ryan, P. R., Delhaize, E., & Jones, D. L. (2001). Function and mechanism of organic anion exudation from plant roots. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, *52*, 527-560. doi:10.1146/annurev.arplant.52.1.527.

Ryu, C.-M., Farag, M. A., Hu, C.-H., Reddy, M. S., Wei, H.-X., Paré, P. W., & Kloepper, J. W. (2003). Bacterial volatiles promote growth in *Arabidopsis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *100*(8), 4927-4932. doi:10.1073/pnas.0730845100.

Sammer, U. F., Reiher, K., Spiteller, D., Wensing, A., & Völksch, B. (2012). Assessment of the relevance of the antibiotic 2-amino-3-(oxirane-2,3-dicarboxamido)-propanoyl-valine from *Pantoea agglomerans* biological control strains against bacterial plant pathogens. *MicrobiologyOpen*, *1*(4), 438-449. doi:10.1002/mbo3.43.

Sanford, G. B., & Broadfoot, W. C. (1931). Studies of the effects of other soil-inhabiting micro-organisms on the virulence of *Ophiobolus graminis* Sacc. *Scientific Agriculture*, *11*(8): 512-528. doi:10.4141/sa-1931-0056.

Santos, A., Beltrán, C., García, M., Cotes, A. M., & Villamizar, L. (2011). Control de *Rhizoctonia solani* en semilla de papa criolla con *T. koningiopsis* (Th003) y *T. asperellum* (Th034). En C. R. Beltrán Acosta, C. A. Moreno Velandia, & A. M. Cotes (Eds.), *Trichoderma koningiopsis Th003, alternativa biológica para el control de Rhizoctonia solani en el cultivo de papa* (pp. 32-42). Mosquera, Colombia: Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica).

Schäfer, T., & Adams, T. (2015). The importance of microbiology in sustainable agriculture. En B. Lugtenberg (Ed.), *Principles of plant-microbe interactions: Microbes for sustainable agriculture* (pp. 5-6). Cham, Alemania: Springer International Publishing. doi:10.1007/978-3-319-08575-3_2.

Scher, F. M., & Baker, R. (1980). Mechanism of biological control in a *Fusarium*-suppressive soil. *Phytopathology*, *70*(5), 412-417. doi:10.1094/Phyto-70-412.

Schirmböck, M., Lorito, M., Wang, Y. L., Hayes, C. K., Arisan-Atac, I., Scala, F., ... Kubicek, C. P. (1994). Parallel formation and synergism of hydrolytic enzymes and peptaibol antibiotics, molecular mechanisms involved in the antagonistic action of *Trichoderma harzianum* against phytopathogenic fungi. *Applied and Environmental Microbiology*, *60*(12), 4364-4370.

Seidl, V. (2008). Chitinases of filamentous fungi: a large group of diverse proteins with multiple physiological functions. *Fungal Biology Reviews*, *22*(1), 36-42. doi:10.1016/j.fbr.2008.03.002.

Seidl, V., Song, L., Lindquist, E., Gruber, S., Koptchinskiy, A., Zeilinger, S., ... Kubicek, C. P. (2009). Transcriptomic response of the mycoparasitic fungus *Trichoderma atroviride* to the presence of a fungal prey. *BMC Genomics*, *10*, 567. doi:10.1186/1471-2164-10-567.

Serrano-Carreon, L., Hathout, Y., Bensoussan, M., & Belin, J.-M. (1993). Metabolism of linoleic acid or mevalonate and 6-pentyl-α-pyrone biosynthesis by *Trichoderma* species. *Applied and Environmental Microbiology*, *59*(9), 2945-2950.

Sharon, E., Bar-Eyal, M., Chet, I., Herrera-Estrella, A., Kleifeld, O., & Spiegel, Y. (2001). Biological control of the root-knot nematode meloidogyne javanica by *Trichoderma harzianum*. *Phytopathology*, *91*(7), 687-693. doi:10.1094/PHYTO.2001.91.7.687.

Sharon, M., Sneh, B., Kuninaga, S., & Hyakumachi, M. (2006). The advancing identification and classification of *Rhizoctonia* spp. using molecular and biotechnological methods compared with the classical anastomosis grouping. *Mycoscience*, *47*(6), 299-316. doi:10.1007/S10267-006-0320-X.

Shipton, P. J. (1977). Monoculture and soilborne plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, *15*(1), 387-407. doi:10.1146/annurev.py.15.090177.002131.

Shoresh, M., Harman, G. E., & Mastouri, F. (2010). Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. *Annual Review of Phytopathology*, *48*, 21-43. doi:10.1146/annurev-phyto-073009-114450.

Sindhu, S. S., Suneja, S., Goel, A. K., Parmar, N., & Dadarwal, K. R. (2002). Plant growth promoting effects of *Pseudomonas* sp. on coinoculation with *Mesorhizobium* sp. Cicer strain under sterile and "wilt sick" soil conditions. *Applied Soil Ecology*, *19*(1), 57-64. doi:10.1016/S0929-1393(01)00176-7.

Singh, P., & Cameotra, S. S. (2004). Enhancement of metal bioremediation by use of microbial surfactants. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *319*(2), 291-297. doi:10.1016/j.bbrc.2004.04.155.

Sivasithamparam, K., & Ghisalberti, E. (1998). Secondary metabolism in *Trichoderma* and *Gliocladium*. En C. P. Kubicek & G. E. Harman (Eds.), *Trichoderma and Gliocladium basic biology taxonomy and genetics* (Vol. 1, pp. 139-191). Londres, Reino Unido: Taylor and Francis Ltd.

Smalla, K., Sessitsch, A., & Hartmann, A. (2006). The Rhizosphere: 'soil compartment influenced by the root'. *FEMS Microbiology Ecology*, *56*(2), 165-165. doi:10.1111/j.1574-6941.2006.00148.x.

Srivastava, S., Sinha, V., Vaishnavi, A., Kunwar, T., & Tigga, R. S. (2012). Regulation of antibiotics production in biocontrol strains of *Pseudomonas* spp. En T. Satyanarayana & B. N. Johri (Eds.), *Microorganisms in sustainable agriculture and biotechnology* (pp. 197-225). Dordrecht, Holanda: Springer. doi:10.1007/978-94-007-2214-9_11.

Steinberg, C., Whipps, J. M., Wood, D., Fenlon, J., & Alabouvette, C. (1999). Mycelial development of *Fusarium oxysporum* in the vicinity of tomato roots. *Mycological Research*, *103*(6), 769-778. doi:10.1017/S0953756298007710.

Steinkellner, S., Mammerler, R., & Vierheilig, H. (2005). Microconidia germination of the tomato pathogen *Fusarium oxysporum* in the presence of root exudates. *Journal of Plant Interactions*, *1*(1), 23-30. doi:10.1080/17429140500134334.

Stotzky, G., & Rem, L. T. (1966). Influence of clay minerals on microorganisms: I. Montmorillonite and kaolinite on bacteria. *Canadian Journal of Microbiology*, *12*(3), 547-563. doi:10.1139/m66-078.

Stotzky, G., & Torrence Martin, R. (1963). Soil mineralogy in relation to the spread of Fusarium wilt of banana in central America. *Plant and Soil*, *18*(3), 317-337. doi:10.1007/bf01347232.

Subbarao, K. V. (1998). Progress toward integrated management of lettuce drop. *Plant Disease*, *82*(10), 1068-1078. doi:10.1094/PDIS.1998.82.10.1068.

Summers, W. C. (2005). Bacteriophage research: early history. En E. Kutter & A. Sulakvelidze (Eds.), *Bacteriophages: Biology and applications* (pp. 5-27). Boca Ratón, EE. UU.: CRC Press.

Szabó, M., Csepregi, K., Gálber, M., Virányi, F., & Fekete, C. (2012). Control plant-parasitic nematodes with *Trichoderma* species and nematode-trapping fungi: The role of chi18-5 and chi18-12 genes in nematode egg-parasitism. *Biological Control*, *63*(2), 121-128. doi:10.1016/j.biocontrol.2012.06.013.

Szekeres, A., Leitgeb, B., Kredics, L., Antal, Z., Hatvani, L., Manczinger, L., & Vágvölgyi, C. (2005). Peptaibols and related peptaibiotics of *Trichoderma*. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, *52*(2), 137-168. doi:10.1556/AMicr.52.2005.2.2.

Takenaka, S., Nakamura, Y., Kono, T., Sekiguchi, H., Masunaka, A., & Takahashi, H. (2006). Novel elicitin-like proteins isolated from the cell wall of the biocontrol agent *Pythium oligandrum* induce defence-related genes in sugar beet. *Molecular Plant Pathology*, *7*(5), 325-339. doi:10.1111/j.1364-3703.2006.00340.x.

Takenaka, S., Sekiguchi, H., Nakaho, K., Tojo, M., Masunaka, A., & Takahashi, H. (2008). Colonization of *Pythium oligandrum* in the tomato rhizosphere for biological control of bacterial wilt disease analyzed by real-time PCR and confocal laser-scanning microscopy. *Phytopathology*, *98*(2), 187-195. doi:10.1094/PHYTO-98-2-0187.

Thomas, R. C. (1935). A bacteriophage in relation to Stewart's disease of corn. *Phytopathology*, *25*(3), 371-372.

Tijerino, A., Elena Cardoza, R., Moraga, J., Malmierca, M. G., Vicente, F., Aleu, J., ... Hermosa, R. (2011). Overexpression of the trichodiene synthase gene tri5 increases trichodermin production and antimicrobial activity in *Trichoderma brevicompactum*. *Fungal Genetics and Biology*, *48*(3), 285-296. doi:10.1016/j.fgb.2010.11.012.

Tisdale, S. L., Havlin, J., Beaton, J., & Nelson, W. L. (1975). *Soil fertility and fertilizers*. Nueva York, EE. UU.: Pearson Education. doi:10.2307/1292062.

Tomprefa, N., Hill, R., Whipps, J., & McQuilken, M. (2011). Some environmental factors affect growth and antibiotic production by the mycoparasite *Coniothyrium minitans*. *Biocontrol Science and Technology*, *21*(6), 721-731. doi:10.1080/09583157.2011.575211.

Tomprefa, N., McQuilken, M. P., Hill, R. A., & Whipps, J. M. (2009). Antimicrobial activity of *Coniothyrium minitans* and its macrolide antibiotic macrosphelide A. *Journal of Applied Microbiology*, *106*(6), 2048-2056. doi:10.1111/j.1365-2672.2009.04174.x.

Torkewitz, R. (2008). *Chronology of fungicides*. Recuperado de https://www.apsnet.org/about/history/Documents/Chronology_of_Fungicides.pdf.

Torres, H. (2002). *Manual de las enfermedades mas importantes de la papa en el Perú*. Lima, Perú: Centro Internacional de la Papa (CIP).

Torres, M. J., Brandan, C. P., Petroselli, G., Erra-Balsells, R., & Audisio, M. C. (2016). Antagonistic effects of *Bacillus subtilis* subsp. *subtilis* and *B. amyloliquefaciens* against *Macrophomina phaseolina*: SEM study of fungal changes and UV-MALDI-TOF MS analysis of their bioactive compounds. *Microbiological Research, 182*, 31-39. doi:10.1016/j.micres.2015.09.005.

Tsror, L. (2010). Biology, epidemiology and management of *Rhizoctonia solani* on potato. *Journal of Phytopathology, 158*(10), 649-658. doi:10.1111/j.1439-0434.2010.01671.x.

Tsror, L., Barak, R., & Sneh, B. (2001). Biological control of black scurf on potato under organic management. *Crop Protection, 20*(2), 145-150. doi:10.1016/S0261-2194(00)00124-1.

Tsror, L., & Peretz-Alon, I. (2005). The influence of the inoculum source of *Rhizoctonia solani* on development of black scurf on potato. *Journal of Phytopathology, 153*(4), 240-244. doi:10.1111/j.1439-0434.2005.00962.x.

Twort, F. W. (1915). An investigation on the nature of ultra-microscopic viruses. *The Lancet, 186*(4814), 1241-1243. doi:10.1016/S0140-6736(01)20383-3.

Uribe, D., Ortiz, E., Portillo, M., Bautista, G., & Cerón, J. (1999). Diversidad de *Pseudomonas fluorescentes* en cultivos de papa de la region cundiboyacense y su actividad antagonista in vitro sobre *Rhizoctonia solani*. *Revista Colombiana Biotecnología, 2*(1), 50-58.

Van Breemen, N., Driscoll, C. T., & Mulder, J. (1984). Acidic deposition and internal proton sources in acidification of soils and waters. *Nature, 307*, 599-604. doi:10.1038/307599a0.

Van Elsas, J. D., & Heijnen, C. E. (1990). Methods for the introduction of bacteria into soil: A review. *Biology and Fertility of Soils, 10*(2), 127-133. doi:10.1007/BF00336248.

Van Lenteren, J. C., Bolckmans, K., Köhl, J., Ravensberg, W. J., & Urbaneja, A. (2018). Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. *BioControl, 63*(1), 39-59. doi:10.1007/s10526-017-9801-4.

Van Veen, J. A., Van Overbeek, L. S., & Van Elsas, J. D. (1997). Fate and activity of microorganisms introduced into soil. *Microbiology and Molecular Biology Reviews, 61*(2), 121-135.

Vanittanakom, N., Loeffler, W., Koch, U., & Jung, G. (1986). Fengycin-a novel antifungal lipopeptide antibiotic produced by *Bacillus subtilis* F-29-3. *The Journal of Antibiotics, 39*(7), 888-901.

Velivelli, S. L. S., De Vos, P., Kromann, P., Declerck, S., & Prestwich, B. D. (2014). Biological control agents: from field to market, problems, and challenges. *Trends in Biotechnology, 32*(10), 493-496. doi:10.1016/j.tibtech.2014.07.002.

Verma, M., Brar, S. K., Tyagi, R. D., Surampalli, R. Y., & Valéro, J. R. (2007). Antagonistic fungi, *Trichoderma* spp.: Panoply of biological control. *Biochemical Engineering Journal, 37*(1), 1-20. doi:10.1016/j.bej.2007.05.012.

Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E. L., Marra, R., Woo, S. L., & Lorito, M. (2008). *Trichoderma*–plant–pathogen interactions. *Soil Biology and Biochemistry, 40*(1), 1-10. doi:10.1016/j.soilbio.2007.07.002.

Vinodkumar, S., Nakkeeran, S., Renukadevi, P., & Malathi, V. G. (2017). Biocontrol potentials of antimicrobial peptide producing *Bacillus* species: Multifaceted antagonists for the management of stem rot of carnation caused by *Sclerotinia sclerotiorum*. *Frontiers in Microbiology, 8*, 446. doi:10.3389/fmicb.2017.00446.

Viterbo, A., & Horwitz, B. A. (2010). Mycoparasitism. En K. Borkovich & D. J. Ebbole (Eds.), *Cellular and molecular biology of filamentous fungi* (pp. 676-693). Washington, EE. UU.: American Society of Microbiology. doi:10.1128/9781555816636.ch42.

Walker, J. C., & Snyder, W. C. (1933). *Pea wilt and root rots*. Madison, EE. UU.: University of Wisconsin

Wang, M., Zhang, M., Li, L., Dong, Y., Jiang, Y., Liu, K., ... Fang, X. (2017). Role of *Trichoderma reesei* mitogen-activated protein kinases (MAPKs) in cellulase formation. *Biotechnology for Biofuels, 10*, 99. doi:10.1186/s13068-017-0789-x.

Wasson, D. L. (2017). *Virgil*. Recuperado de https://www.ancient.eu/virgil/.

Watson, R. T., Albritton, D. T., Anderson, S. O., & Lee-Bapty, S. (1992). *Methyl Bromide: Its Atmospheric Science, Technology and Economics*. Nairobi, Kenya: United Nations Environmental Program.

Wei, W., Zhu, W., Cheng, J., Xie, J., Jiang, D., Li, G., ... Fu, Y. (2016). Nox complex signal and MAPK cascade pathway are cross-linked and essential for pathogenicity and conidiation of mycoparasite *Coniothyrium minitans*. *Scientific Reports, 6*, 24325. doi:10.1038/srep24325.

Weindling, R. (1932). *Trichoderma lignorum* as a parasite of other soil fungi. *Phytopahtology, 22*, 837-845.

Weindling, R. (1934). Studies on a lethal principle effective in the parasitic action of *Trichoderma lignorum* on *Rhizoctonia solani* and other soil fungi. *Phytopathology, 24*(11), 1153-1179.

Weindling, R. (1941). Experimental consideration of the mold toxins of *Gliocladium* and *Trichoderma*. *Phytopathology, 31*(11), 991-1003.

Weindling, R., & Emerson, O. (1936). The isolation of a toxic substance from the culture filtrate of *Trichoderma*. *Phytopathology, 26*, 1068-1070.

Welbaum, G. E., Sturz, A. V., Dong, Z., & Nowak, J. (2004). Managing soil microorganisms to improve productivity of agro-ecosystems. *Critical Reviews in Plant Sciences, 23*(2), 175-193. doi:10.1080/07352680490433295.

Weller, D. M. (1988). Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Annual Review of Phytopathology, 26*(1), 379-407. doi:10.1146/annurev.py.26.090188.002115.

Weller, D. M. (2007). *Pseudomonas* biocontrol agents of soilborne pathogens: Looking back over 30 years. *Phytopathology*, *97*(2), 250-256. doi:10.1094/PHYTO-97-2-0250.

Weller, D. M. (2015). Take-All Decline and Beneficial *Pseudomonads*. En B. Lugtenberg (Ed.), *Principles of plant-microbe interactions* (pp. 363-370). Cham, Suiza: Springer. doi:10.1007/978-3-319-08575-3_38.

Weller, D. M., & Cook, R. J. (1983). Suppression of take-all of wheat by seed treatments with fluorescent *Pseudomonads*. *Phytopathology*, *73*(3), 463-469. doi:10.1094/Phyto-73-463.

Weller, D. M., Raaijmakers, J. M., Gardener, B. B., & Thomashow, L. S. (2002). Microbial populations responsible for specific soil suppressiveness to plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, *40*, 309-348. doi:10.1146/annurev.phyto.40.030402.110010.

Weller, D. M., & Thomashow, L. (2016). Contribution of biocontrol agents to sustainable agriculture: Do insights from microbiome research and BCA "omics" pay off. *IOBC Bulletin*, *117*, 2-6.

Wells, H. D., Bel, B. K., & Jaworski, C. A. (1972). Efficacy of *Trichoderma harzianun* as a biocontrol for *Sclerotium rolfsii*. *Phytopathology*, *62*, 442-447. doi:10.1094/Phyto-62-442.

Whilhite, S., Lumsden, R., & Straney, D. (1994). Mutational analysis of gliotoxin production by the biocontrol fungus *Gliocladium virens* in relation to suppression of *Pythium* damping-off. *Phytopathology*, *84*(8), 816-821.

Whipps, J. M. (2001). Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany*, *52*(Suppl. 1): 487-511. doi:10.1093/jexbot/52.suppl_1.487.

Whipps, J. M., & Gerlagh, M. (1992). Biology of *Coniothyrium minitans* and its potential for use in disease biocontrol. *Mycological Research*, *96*(11), 897-907. doi:10.1016/S0953-7562(09)80588-1.

Whipps, J. M., Hand, P., Pink, D., & Bending, G. D. (2008). Phyllosphere microbiology with special reference to diversity and plant genotype. *Journal of Applied Microbiology*, *105*(6), 1744-1755. doi:10.1111/j.1365-2672.2008.03906.x.

Wilson, P. S., Ahvenniemi, P. M., Lehtonen, M. J., Kukkonen, M., Rita, H., & Valkonen, J. P. T. (2008). Biological and chemical control and their combined use to control different stages of the *Rhizoctonia* disease complex on potato through the growing season. *Annals of Applied Biology*, *153*(3), 307-320. doi:10.1111/j.1744-7348.2008.00292.x.

Wilson, P. S., Ketola, E. O., Ahvenniemi, P. M., Lehtonen, M. J., & Valkonen, J. P. T. (2007). Dynamics of soilborne *Rhizoctonia solani* in the presence of *Trichoderma harzianum:* effects on stem canker, black scurf and progeny tubers of potato. *Plant Pathology*, *57*(1), 152-161. doi:10.1111/j.1365-3059.2007.01706.x.

Wise, C., Falardeau, J., Hagberg, I., & Avis, T. J. (2014). Cellular lipid composition affects sensitivity of plant pathogens to fengycin, an antifungal compound produced by *Bacillus subtilis* strain CU12. *Phytopathology*, *104*(10), 1036-1041. doi:10.1094/PHYTO-12-13-0336-R.

Wood, R. K. S., & Tveit, M. (1955). Control of plant diseases by use of antagonistic organisms. *Botanical Review*, *21*(8), 441-492.

Wrather, J. A., Anderson, T. R., Arsyad, D. M., Tan, Y., Ploper, L. D., Porta-Puglia, A., ... Yorinori, J. T. (2001). Soybean disease loss estimates for the top ten soybean-producing counries in 1998. *Canadian Journal of Plant Pathology*, *23*(2), 115-121. doi:10.1080/07060660109506918.

Wright, J. M. (1954). The production of antibiotics in soil. *Annals of Applied Biology*, *41*(2), 280-289. doi:10.1111/j.1744-7348.1954.tb01121.x.

Wright, J. M. (1956). The production of antibiotics in soil. *Annals of Applied Biology*, *44*(4), 461-466. doi:10.1111/j.1744-7348.1956.tb02140.x.

Yeaman, M. R., & Yount, N. Y. (2003). Mechanisms of antimicrobial peptide action and resistance. *Pharmacological Reviews*, *55*(1), 27.

Yedidia, I., Benhamou, N., & Chet, I. (1999). Induction of defense responses in cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) by the biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. *Applied and Environmental Microbiology*, *65*(3), 1061-1070.

Yedidia, I., Shoresh, M., Kerem, Z., Benhamou, N., Kapulnik, Y., & Chet, I. (2003). Concomitant induction of systemic resistance to *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* in cucumber by *Trichoderma asperellum* (T-203) and accumulation of phytoalexins. *Applied and Environmental Microbiology*, *69*(12), 7343-7353. doi:10.1128/aem.69.12.7343-7353.2003.

Zeilinger, S., Gruber, S., Bansal, R., & Mukherjee, P. K. (2016). Secondary metabolism in *Trichoderma* – chemistry meets genomics. *Fungal Biology Reviews*, *30*(2), 74-90. doi:10.1016/j.fbr.2016.05.001.

Zeng, F., Gong, X., Hamid, M. I., Fu, Y., Jiatao, X., Cheng, J., ... Jiang, D. (2012). A fungal cell wall integrity-associated MAP kinase cascade in *Coniothyrium minitans* is required for conidiation and mycoparasitism. *Fungal Genetics and Biology*, *49*(5), 347-357. doi:10.1016/j.fgb.2012.02.008.

Zeng, L. M., Zhang, J., Han, Y. C., Yang, L., Wu, M.d., Jiang, D. H., ... Li, G. Q. (2014). Degradation of oxalic acid by the mycoparasite *Coniothyrium minitans* plays an important role in interacting with *Sclerotinia sclerotiorum*. *Environmental Microbiology*, *16*(8), 2591-2610. doi:10.1111/1462-2920.12409.

Zhang, B., Dong, C., Shang, Q., Han, Y., & Li, P. (2013). New insights into membrane-active action in plasma membrane of fungal hyphae by the lipopeptide antibiotic bacillomycin L. *Biochimica et Biophysica Acta*, *1828*(9), 2230-2237. doi:10.1016/j.bbamem.2013.05.033.

Zhang, J., Howell, C. R., & Starr, J. L. (1996). Suppression of *Fusarium* colonization of cotton roots and *Fusarium* wilt by seed treatments with *Gliocladium virens* and *Bacillus subtilis*. *Biocontrol Science and Technology*, *6*(2), 175-188. doi:10.1080/09583159650039377.

Capítulo 3

Control biológico de patógenos en poscosecha

Chapter 3

Biological control of postharvest pathogens

Yimmy Zapata,[1] Alba Marina Cotes,[1] Haissam Jijakli,[2]
Michael Wisniewski[3]

[1] Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA)

[2] Gembloux Agro Bio-tech, Université de Liège

[3] USDA-ARS, Appalachian Fruit Research Station

Contenido

Introducción 226

Reseña histórica 230

Ecología en la carpósfera 230

Principales agentes de control biológico
y sus modos de acción contra los patógenos poscosecha 232

Modos de acción 237

Competencia por espacio y nutrientes 238

Producción de antibióticos 238

Parasitismo y lisis 240

Inducción de respuestas de defensa 240

Producción de otros compuestos antimicrobianos 241

Bioplaguicidas comercialmente disponibles
para el control de patógenos en poscosecha 243

Historias de éxito:
Candida oleophila para el control biológico de patógenos en poscosecha 244

Conclusiones y perspectivas 246

Agradecimientos 247

Referencias 248

Resumen

A nivel global, la producción agrícola sufre una tensión creciente entre el problema de las enfermedades causadas por hongos que afectan casi a todos los vegetales cosechados, por una parte, y la presión de las agencias reguladoras y de la sociedad que demandan productos inocuos libres de fungicidas de síntesis, por otra. Este escenario ha reactivado el interés por integrar prácticas limpias de control en el manejo de patógenos poscosecha, destacándose el uso de bacterias y levaduras antagonistas, que eran conocidas de tiempo atrás. Para realizar un manejo biológico de las enfermedades durante la poscosecha, es importante distinguir entre infecciones que se originan en campo y que permanecen latentes hasta la maduración del producto, y las infecciones poscosecha *sensu stricto*. En el primer grupo, se destacan las infecciones por *Colletotrichum* spp., que se expresan como antracnosis en mango, banano, aguacate, pimentón, entre otras frutas y hortalizas; por *Botrytis* spp., que causan el moho gris en diferentes especies vegetales, y por *Penicillium* spp., que puede causar infección en el árbol, en almacén o en puestos de mercado al detal. En el segundo grupo se encuentran hongos oportunistas como *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Mucor* spp., *Geotrichum candidum* y *Rhizopus* spp., algunos de ellos con implicaciones para la salud humana por la producción de micotoxinas como fumonisinas y aflatoxinas. Este capítulo inicia con una enumeración de las prácticas dirigidas a controlar infecciones en poscosecha, que van desde el buen manejo de los productos cosechados, pasando por tratamientos físicos erradicantes y químicos preventivos, hasta llegar a la aplicación de fungicidas como última medida. Después se hace una reseña histórica del control biológico de enfermedades de frutas en poscosecha, seguida de una descripción de los diferentes modos en que las bacterias y las levaduras ejercen su actividad biocontroladora. Posteriormente, se examina el progreso en el conocimiento de los procesos de control biológico y las limitaciones prácticas para su pleno uso comercial, para terminar con uno de los casos exitosos en su aplicación. Esta revisión pone de presente la necesidad de un enfoque sistémico, que considere la red de interacciones existentes, y que la búsqueda del manejo ideal del problema debe integrar una visión simple en cada nodo del proceso productivo con intervenciones múltiples a lo largo del mismo.

Palabras clave

Control biológico, frutas, hortalizas, patógenos en poscosecha, plaguicidas microbianos

Abstract

Postharvest diseases of harvested commodities cause significant reductions in food availability and financial profits. Additionally, regulatory agencies are increasingly restricting or banning the postharvest use of synthetic chemical fungicides. This has increased the need to develop more ecofriendly approaches to postharvest disease management, such as biological control using antagonistic microorganisms. Utilization of biocontrol agents has received considerable attention over the past three decades. However, a few yeast or bacteria-based biocontrol products are either in advanced stages of development or commercially available. The reduced success of postharvest biocontrol products has been attributed to several problems, including difficulties in mass production and formulation of the antagonists, the physiological status of the harvested commodity and its susceptibility to specific pathogens, as well as low and inconsistent efficacy under commercial conditions, low profitability, difficulties in market penetration and perception of the customers/industry, and small size companies with low available resources to maintain development and commercialization. Although many studies have been conducted on the mode of action of postharvest microbial antagonists, its understanding is still very incomplete. In this regard, a systems approach, that takes into account all the components of the biocontrol system, may represent the best approach to investigating the network of interactions that exist. This review attempts to highlight that post-harvest management technologies require a systemic approach that goes from simplicity to complexity, understanding that complex problems may require multiple interventions at different points of the process.

Keywords

Biological control, fruits, pathogens, postharvest microbial pesticides, vegetables

Introducción

Las pérdidas de alimentos, particularmente de frutas y hortalizas, alcanzan en el mundo un promedio del 33 %, según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 2015a), siendo las enfermedades poscosecha una de las principales causas.

Esta cifra aumenta en países en vía de desarrollo y de bajos ingresos, debido a las limitaciones técnicas en el manejo que se les da a los vegetales durante la cosecha y la poscosecha, particularmente en las áreas de almacenamiento, transporte, cadena de frío, empaquetamiento, mercado y consumo (FAO, 2015b).

En este sentido, de acuerdo con el Ministerio de Salud y Protección Social y la FAO (2012) (citados por Departamento Nacional de Planeación [DNP], 2016), para el año 2010 en Colombia se reportaron pérdidas por 1.426.932 toneladas de frutas y verduras en la etapa de poscosecha, cifra que corresponde aproximadamente al 40 % de su producción.

Las pérdidas producidas por enfermedades en frutas y hortalizas durante la poscosecha pueden tener su origen en etapas previas a la cosecha, durante la cosecha o en el almacenamiento, mercado y consumo. Las pérdidas que tienen su origen en campo, pero que se presentan durante la poscosecha, corresponden particularmente a aquellas relacionadas con enfermedades causadas por hongos que tienen la capacidad de producir infecciones quiescentes, cuyos signos se presentan durante su almacenamiento o preconsumo (Coates & Johnson, 1997). Una de estas enfermedades es la antracnosis, siendo a su vez una de las enfermedades más importantes por las pérdidas que produce y por la cantidad de especies que afecta, causada por diferentes especies del hongo *Colletotrichum* spp. Esta enfermedad es un factor limitante en la poscosecha de frutas como mango, banano, papaya, aguacate, fresas, entre otras (Janisiewicz & Korsten, 2002).

En campo, los conidios del patógeno infectan la superficie de los frutos inmaduros, presentando un desarrollo biotrófico que se modifica una vez se produce la maduración de la fruta (usualmente, durante la poscosecha de frutos climatéricos), pasando a una fase necrotrófica en la que se observan los primeros síntomas de la enfermedad, como exudados gomosos y pequeñas lesiones de color café, que tienden a hundirse en el borde y a coalescer extendiéndose sobre la superficie del fruto (Weir, Johnston, & Damm, 2012).

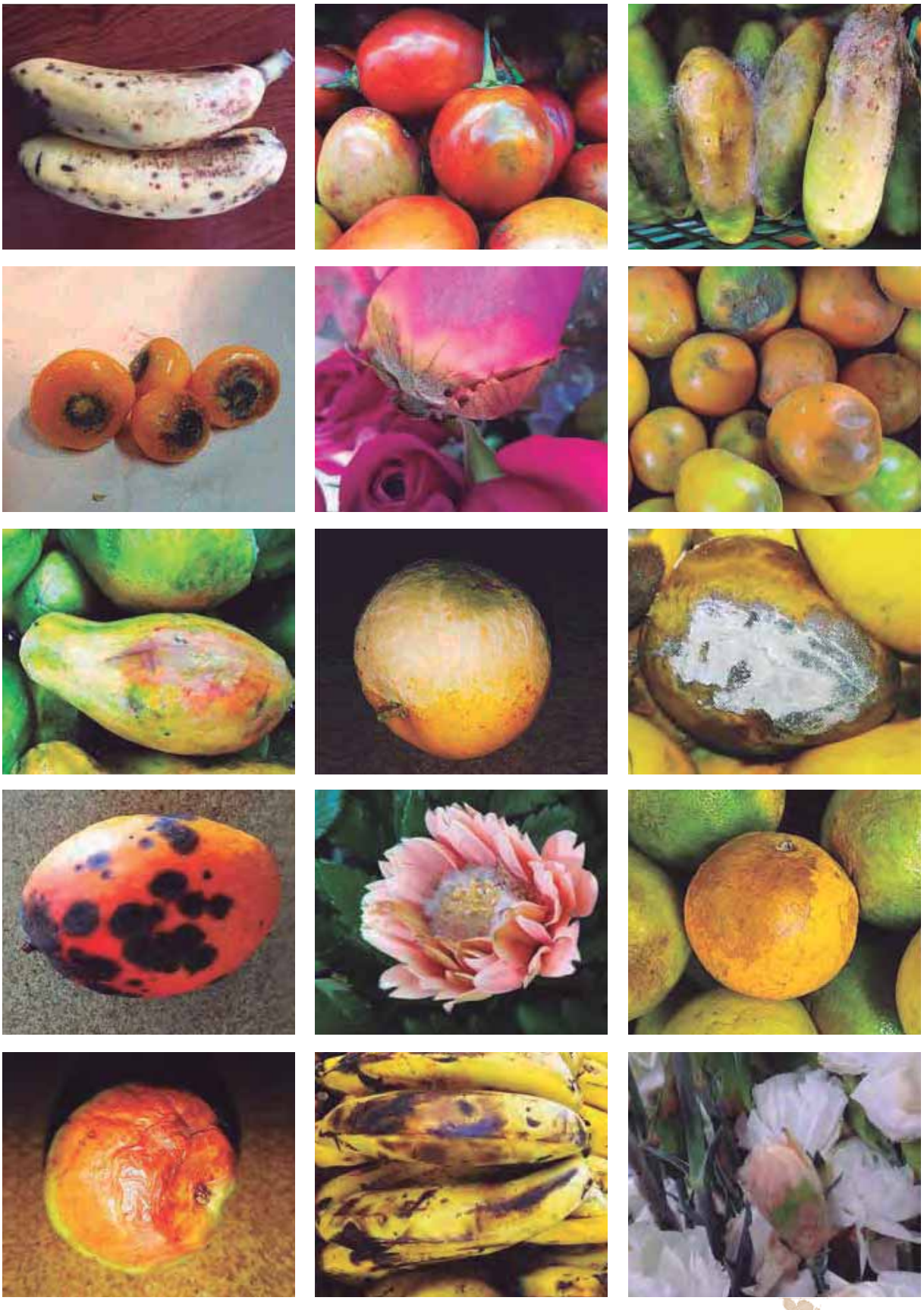
Por otra parte, *Botrytis cinerea*, agente causal del moho gris, infecta las estructuras florales en plantas como fresas, vid, moras o frambuesas, permaneciendo en un estado quiescente hasta la maduración del fruto, momento en el que se desarrolla de forma agresiva, produciendo abundantes conidios que, a su vez, infectarán a otras frutas (Carisse, 2016; Jarvis, 1991; Mason & Dennis, 1978).

En contraste, se encuentran las enfermedades poscosecha ocasionadas por patógenos que infectan la superficie vegetal durante o después de la cosecha (figura 3.1). La infección es favorecida por la presencia de heridas producidas por daños mecánicos o lesiones causadas por insectos, que no necesariamente tienen que presentar gran tamaño, así como por aberturas naturales como las lenticelas (Coates & Johnson, 1997).

Dentro de estas enfermedades, las más comunes y limitantes son los mohos verde y azul, causados por *Penicillium digitatum* y *Penicillium italicum*, respectivamente, que afectan diferentes especies de cítricos, manzanas, peras, entre otros. Estas pudriciones son causadas por *Rhizopus stolonifer*, *Geotrichum candidum*, *Mucor* sp., *Fusarium* sp. y *Aspergillus* sp. (Barkai-Golan, 2001).

El inóculo de estos patógenos puede encontrarse en el suelo, donde ocurre la contaminación por una inadecuada manipulación al cosechar los vegetales, o en las áreas de almacenamiento, empaques o vehículos de transporte, siendo además fácilmente trasportados en el ambiente por el aire.

Aparte de presentar un rápido crecimiento, algunos de estos patógenos llevan consigo un riesgo asociado: la gran variedad de micotoxinas que pueden producir



Fotos: Grupo de investigación en Control biológico de Corpoica

Figura 3.1. Efecto de diversos patógenos sobre frutas y ornamentales en poscosecha.

como las aflatoxinas asociadas a *Aspergillus flavus* o *Aspergillus parasiticus*; la patulina producida por *Penicillium expansum* y *Aspergillus giganteus*, así como por otras especies de *Penicillium* spp., y de *Aspergillus* spp.; la ocratoxina producida por *Penicillium verrucosum* y *Aspergillus ochraceus*, y las fumonisinas producidas por diferentes especies de *Fusarium* spp., bajo determinadas condiciones de temperatura y humedad relativa (Andersen, Smedsgaard, & Frisvad, 2004; Choudhary & Kumari, 2010; Magan, Medina, & Aldred, 2011). El consumo accidental y repetido de estas micotoxinas puede tener efectos perjudiciales para los sistemas nervioso, cardiovascular, respiratorio y digestivo; adicionalmente, algunas presentan propiedades como agentes cancerígenos, mutagénicos, teratogénicos e inmunosupresores, tanto en humanos como en animales (Andersen et al., 2004; Choudhary & Kumari, 2010; Wu & Khlangwiset, 2010).

Para reducir la incidencia de estos patógenos, se puede recurrir a diferentes prácticas: la mejora en el manejo o la manipulación de los vegetales cosechados, reduciendo el riesgo de producirles heridas; la limpieza y desinfección de las áreas de manipulación; el almacenamiento y el empaque que contribuyan a reducir la inoculación de los diferentes patógenos. También existen diferentes alternativas que, de acuerdo con el vegetal a preservar, pueden ser utilizadas, dentro de las que se encuentran diferentes tratamientos físicos y químicos.

Dentro de los tratamientos físicos sobresale la exposición a la radiación ultravioleta (UV-C) a una longitud de onda de 254 nm, debido a su poder germicida, empleándose como un método de desinfección superficial no invasivo (Park & Kim, 2015). La irradiación de frutas y hortalizas como alternativa de control de patógenos poscosecha ha sido aprobada por la Food and Drug Administration (FDA) en los Estados Unidos; con ella, se han obtenido resultados eficientes en el control de diferentes patógenos poscosecha como, por ejemplo, *P. expansum* en peras (Syamaladevi et al., 2014) o *A. flavus* y *Aspergillus niger* en cereales (Begum et al., 2009); sin embargo, esta alternativa puede ser eficiente frente a patógenos propios de la poscosecha que se encuentran en la superficie de las áreas, empaques o utensilios, pues sus propágulos llegan a la superficie vegetal e inician el proceso de infección y posterior desarrollo de la enfermedad, punto en el que la irradiación con UV-C actúa directamente sobre los conidios, afectando su viabilidad o el proceso de infección. Por el contrario, en el caso de patógenos como *B. cinerea* y *C. gloeosporioides*, que producen en campo infecciones quiescentes, el control es muy reducido, debido al bajo poder de penetración de la radiación UV-C (Terao, De Carvalho Campos, Benato, & Hashimoto, 2015).

Otro método físico que se emplea son los tratamientos térmicos en los que el calor se utiliza para matar o suprimir el desarrollo de los patógenos a temperaturas entre 35 y 55 °C durante diferentes rangos de tiempo. No obstante, dada su tolerancia fisiológica, no todos los vegetales resisten los tratamientos térmicos; por ejemplo, la mayoría de las frutas sufren lesiones causadas por el calor, debido a la temperatura que se requiere para lograr la inhibición de los patógenos (Nunes et al., 2007; Palou, Smilanick, & Droby, 2008).

El tratamiento con calor puede aplicarse en forma de agua caliente o aire caliente. El agua caliente es un medio más eficiente para la transferencia de calor que el aire caliente, siendo también el que probablemente causa mayor daño a los vegetales. En algunas ocasiones se utiliza agua caliente en combinación con fungicidas en el tratamiento de frutas como el mango y el limón (Janisiewicz & Conway, 2010; Palou et al., 2008). Por otra parte, el aire caliente comúnmente se emplea para el tratamiento de la mosca de la fruta y para reducir la humedad de diferentes estructuras vegetales, como por ejemplo la eliminación del capacho de la uchuva que reduce la incidencia de patógenos como *B. cinerea* durante su transporte de Colombia a los diferentes mercados europeos.

Algunos de los tratamientos químicos alternativos al uso de fungicidas de síntesis consisten en la aplicación de sustancias de origen natural como extractos vegetales, aceites esenciales, aditivos y recubrimientos comestibles antifúngicos. Dentro de los extractos vegetales se pueden encontrar aquellos con contenidos de glucosinolatos, producidos por especies de la familia de las crucíferas; también se encuentran extractos de *Aloe vera* y los provenientes de especies de los géneros *Allium* y *Capsicum*, que han mostrado actividad contra patógenos de poscosecha en cítricos (Palou et al., 2008).

Los aceites esenciales de géneros como *Citrus*, *Thymus*, *Origanum*, *Lavandula* o *Eucalyptus* han sido evaluados por su capacidad fungitóxica y se han identificado algunos compuestos terpénicos responsables de esta capacidad. En algunos casos, estas sustancias han sido clasificadas como *Generally Recognized as Safe* (GRAS) por la Food and Drug Administration (FDA) de los Estados Unidos, debido a que su utilización no genera residuos indeseables (Du Plooy, Regnier, & Combrinck, 2009; Palou et al., 2008).

En cuanto a los aditivos alimentarios, se usan ácidos y sales orgánicas o inorgánicas, dentro de los cuales se pueden encontrar el sorbato potásico, el benzoato sódico, el carbonato sódico y el bicarbonato sódico. Estos han mostrado ser eficientes contra los mohos azules y verdes durante la poscosecha de cítricos; adicionalmente, estos aditivos pueden emplearse junto con los tratamientos de termoterapia en soluciones acuosas calientes (Montesinos-Herrero, Del Río, Pastor, Brunetti, & Palou, 2009; Palou et al., 2008).

Con respecto a los recubrimientos comestibles antifúngicos, estos se prepararon mediante la suma de aditivos alimentarios y sustancias GRAS (sales de ácidos orgánicos, sales de parabenos, entre otros) a formulaciones de hidroxipropil metilcelulosa (HPMC) y lípidos (Palou et al., 2008; Valencia-Chamorro, Palou, Del Rio, & Perez-Gago, 2011).

A pesar de que existen varias alternativas, estas medidas no son suficientes para reducir la incidencia de enfermedades durante poscosecha, por lo que en muchos casos se recurre al uso de fungicidas de síntesis química para evitar el desarrollo de los patógenos. En determinadas circunstancias, estos se usan posteriormente a la cosecha para controlar infecciones ya establecidas o para proteger los vegetales contra las infecciones que pueden ocurrir durante la manipulación y el almacenamiento.

Por otra parte, para que los fungicidas sean eficaces contra las infecciones quiescentes, deben tener la capacidad de penetrar hasta el sitio de la infección, por lo que se utilizan fungicidas sistémicos aplicados en caliente, en algunos casos para incrementar su penetración (Palou et al., 2008). No obstante, no todos los vegetales son susceptibles al tratamiento con fungicidas, en parte por el período de vida poscosecha o por la fragilidad del tejido, ya que, por ejemplo, en moras es muy corta (no mayor a cinco días) y el fruto es muy frágil, en tanto que para otros vegetales es permitido. En este sentido, por ejemplo, los cítricos, peras y manzanas cuentan con mayor número de autorizaciones para el uso de fungicidas (Palou, 2011), en tanto que para mangos, aguacates, melones o kiwis hay menor número de autorizaciones.

Los fungicidas más empleados en poscosecha de frutas y hortalizas son azoxistrobin, fludioxonil, imazalil, ortofenilfenol, pirimetanil, procloraz, propiconazol, tiabendazol y trifloxistrobin, y los principales métodos de aplicación son en drench, inmersión o aplicación en línea mediante boquillas en el momento del encerado (Palou, 2011; Palou et al., 2008).

Aun así, son muy pocas las moléculas con uso permitido y, en casos particulares, se han presentado problemas de resistencia como, por ejemplo, para *P. digitatum* y *P. expansum*, con resistencia a fludioxonil y pirimetanil en cítricos y manzanas en los estados de California y Washington, en Estados Unidos, sin tener en cuenta los extensos reportes de resistencia de *B. cinerea* (Caiazzo, Kim, & Xiao, 2014; Kim, Saito, & Xiao, 2015).

Por eso, la tendencia a la reducción en uso de fungicidas durante la poscosecha ha aumentado en todo el mundo, siendo las principales razones la preocupación por la salud pública y el ambiente, el desarrollo de la resistencia a patógenos, la falta de nuevos principios activos que reemplacen los que ya no se pueden usar (ya sea por problemas de resistencia o de toxicidad) y, principalmente, la demanda de los consumidores de productos sin residuos de fungicidas y procesados bajo esquemas de producción sostenibles (Mari, Neri, & Bertolini, 2007).

En este sentido, el control biológico mediante el uso de microorganismos antagonistas y formulados como bioplaguicidas es una alternativa dentro de esquemas de manejo integrado en la poscosecha, ya que permite reducir o eliminar el número de aplicaciones de fungicidas; además, no presentan riesgos para la salud humana o ambiental y contribuyen con la inocuidad (Environmental Protection Agency [EPA], 2016).

Reseña histórica

El uso de agentes de control biológico como alternativa a la aplicación de fungicidas de síntesis química fue un tema de investigación con poca relevancia hasta mediados de la década de los ochenta (Wisniewski, Droby, Norelli, Liu, & Schena, 2016). Al final de esa década, eran muy pocas las publicaciones que investigaban el uso de antagonistas microbianos para el control de patógenos poscosecha (Tronsmo & Dennis, 1977; Wilson & Pusey, 1985). Sin embargo, debido a la preocupación sobre los posibles impactos de los fungicidas sobre la salud humana y ambiental (National Research Council [NRC], 1987), al igual que por los riesgos de aparición de cepas de patógenos resistentes a estos productos y la necesidad de contar con estrategias alternativas de control, la investigación en el control biológico de patógenos poscosecha tomó una gran relevancia.

El nacimiento del control biológico poscosecha puede ser rastreado desde 1984, cuando Pusey y Wilson (1984) inocularon melocotones con la cepa B-3 de *Bacillus subtilis* para el control de la pudrición parda causada por *Monilinia fructicola* durante la poscosecha, encontrando que este controlaba la enfermedad. A partir de este sencillo experimento, se hizo evidente que los patógenos poscosecha podían ser controlados, ofreciendo ventajas prácticas con respecto al control en campo.

Posteriormente, en 1989, Wilson y Wisniewski detallaron algunos de los primeros conceptos que definieron la investigación en el control biológico poscosecha, particularmente la hipótesis de que en la superficie de las frutas, vegetales y granos se encuentran de forma saprofítica diferentes especies de microorganismos antagónicos de los patógenos que causan su deterioro. Posteriormente, esto fue demostrado por Chalutz y Wilson (1990), quienes observaron que frutos de cítricos que habían sido cuidadosamente lavados antes de ser almacenados presentaban mayor incidencia de podredumbre que aquellos que fueron almacenados sin lavar.

Esto llevó a que en la década de los noventa se registraran ante la EPA los primeros biofungicidas en Estados Unidos: Aspire, cuyo principio activo es la levadura *Candida oleophila*, y Biosave, cuyo principio activo es la bacteria *Pseudomonas syringae*, lo que impulsó el desarrollo de este tipo de productos en el mundo. Un ejemplo de esto ocurrió posteriormente en Israel, en donde se registró Shemer a base de la levadura *Metschnikowia fructicola*, hoy en día producido por Bayer CropScience®. Actualmente, se encuentran en desarrollo o registrados bioplaguicidas para uso en poscosecha en Sudáfrica, España, Bélgica y Francia (Droby, Wisniewski, Macarisin, & Wilson, 2009).

No obstante, los diferentes desarrollos y productos, el uso de agentes de control biológico en poscosecha es muy limitado. Si bien en algunos países su uso se ha establecido para diferentes productos agrícolas básicos (*commodities*), no deja de ser una característica puntual.

Diferentes situaciones limitan el desarrollo y adopción del control biológico como alternativa de control; por ejemplo, la falta de recursos financieros para efectuar actividades de prospección y desarrollo, la ausencia de redes de comercialización establecidas y las políticas que restrinjan el uso de moléculas con reportes de resistencia o potencial de causar problemas para la salud, particularmente en los países en desarrollo.

Asimismo, aunque para comercializar y utilizar un biofungicida es necesario contar con un registro y una serie de estudios toxicológicos y ecotoxicológicos, se ha planteado la preocupación por la salud y la seguridad, al incorporar un microorganismo antagonista en nuestra dieta, a pesar de que estos microorganismos en la mayoría de desarrollos han sido aislados de las superficie de los vegetales en lo que se usan; en el mismo sentido, lo seres humanos están expuestos a estos y otros microorganismos diariamente cuando consumen frutas u otros vegetales frescos. Además, los antagonistas sobreviven y crecen solo en sitios muy restringidos de la superficie de los vegetales (heridas superficiales) (Droby et al., 2009).

Ecología en la carpósfera

La superficie de los diferentes órganos en una planta está rodeada de zonas de influencia biológica,

en las que la topografía, el microambiente y la disponibilidad de nutrientes, como los exudados vegetales o las secreciones azucaradas provocadas por algunos insectos, influyen sobre el crecimiento de diferentes poblaciones de microorganismos. De esta forma, la zona que tiene influencia en la raíz se conoce como rizosfera, mientras que en las hojas es la filósfera y en los frutos, la carpósfera.

Al igual que las demás estructuras en la filósfera, los frutos están expuestos al ambiente, al aire y al sol, así como a la ausencia de agua, ya que estas superficies tienden a estar secas, a no ser por eventos como lluvia, niebla, rocío o riego. Esto tiene un efecto para el crecimiento microbiano, que requiere de agua libre, así como de una alta humedad relativa (> 90 %) para el crecimiento (Andrews & Harris, 2000).

Es en estas zonas y en condiciones donde se presenta el crecimiento de diferentes tipos de microorganismos, estos interactúan de diferentes formas en la carpósfera, ya sea como epífitos, saprófitos o parásitos; en estos últimos, particularmente los microorganismos normalmente presentan crecimiento epifítico antes de infectar el tejido vegetal (Abdelfattah, Li Destri-Nicosia, Cacciola, Droby, & Schena, 2015).

La dinámica de la colonización de la carpósfera por los microorganismos está determinada en muchos casos por el estado fisiológico del huésped, por su edad y por el tipo de manejo. En este sentido, uno de los cultivos en los que más se ha trabajado para comprender la dinámica microbiana en la carpósfera es la vid, en virtud de la influencia que esta tiene en la producción de vinos. Es así como, en estudios desarrollados en uvas por Kecskemeti, Berkelmann-Lohnertz y Reineke (2016), se analizó la composición estructural de la microbiota presente en la carpósfera de uvas, encontrando que, a medida que la fruta maduraba, decrecían algunas poblaciones microbianas, en tanto que otras aumentaban o permanecían constantes. Además, a mayor maduración, decrecían las poblaciones de *Cladosporium* spp., *Alternaria pullulans* y *Alternaria alternata*, mientras que las de *B. cinerea* aumentaban; en el mismo sentido, encontraron que las poblaciones de bacterianas aisladas con mayor frecuencia correspondían a miembros de los géneros *Sphingomonas*, seguidos por *Gluconobacter* (entre otras bacterias del ácido acético), *Pseudomonas*, *Erwinia* y *Massilia*. Sin embargo, *Gluconobacter* fue el único grupo que no disminuyó con la maduración del fruto.

Las levaduras son los microorganismos que mayor presencia tienen en la carpósfera de uva, y su población aumenta a medida que la fruta madura. En diferentes estudios se ha demostrado gran variedad de géneros encontrados en las uvas: *Aureobasidium*, *Candida*, *Cryptococcus*, *Debaryomyces*, *Dekkera*, *Issatchenkia*, *Kluyveromyces*, *Metschnikowia*, *Pichia*, *Rhodotorula*, *Saccharomycodes*, *Schizosaccharomyces*, *Sporidiobolus*, *Torulaspora* y *Zygosaccharomyces* (Martins et al., 2014).

Las razones por las cuales aumentan las poblaciones de levaduras pueden estar relacionadas con la cantidad y calidad de los exudados presentes en la carpósfera durante la maduración del fruto, principalmente azúcares como glucosa, sacarosa, fructosa y sorbitol (Martins et al., 2014). Sin embargo, son estos nutrientes los que también estimulan el crecimiento de hongos patógenos como *B. cinerea*. Particularmente la cantidad de estos azúcares aumenta a medida que los frutos maduran, siendo en estos momentos cuando se presenta mayor incidencia del moho gris. No obstante, de acuerdo con Fourie y Holz (1998), quienes evaluaron el efecto de los exudados de frutos de ciruela y nectarina, *B. cinerea* no consume el sorbitol y los procesos de infección se favorecen por presencia de glucosa, sacarosa y fructosa, pero no de sorbitol. A diferencia de *B. cinerea*, una gran variedad de levaduras, aparte de consumir glucosa, sacarosa y fructosa, consumen sorbitol entre otros azúcares, lo que les da una ventaja para colonizar la carpósfera y antagonizar diferentes patógenos.

Por otra parte, la cantidad limitada de fuentes de nitrógeno orgánicas a partir de aminoácidos, como glutamato o glutamina, y microelementos como hierro afectan igualmente las poblaciones microbianas en beneficio de aquellas que presentan capacidad para tomarlos con mayor rapidez; en este sentido, la producción de sideróforos por diferentes bacterias como *Pseudomonas* spp., y levaduras como *Rhodotorula glutinis*, *Metschnikowia pulcherrima* y *Metschnikowia fructicola* ofrece una ventaja competitiva (Calvente, Benuzzi, & De Tosetti, 1999; Saravanakumar, Spadaro, Garibaldi, & Gullino, 2009).

Aparte de la disponibilidad de nutrientes, los microorganismos (epífitos, endófitos y patógenos) deben

superar los mecanismos de defensa de la planta, particularmente la producción de metabolitos secundarios con propiedades antifúngicas, para colonizar la superficie de los frutos. Justamente, es en el epicarpio de los frutos en donde se encuentran concentrados estos metabolitos en los estados inmaduros, que posteriormente disminuyen con su maduración, momento en el que el fruto es más susceptible a la infección y presenta los signos de una enfermedad, ya sea en campo o durante su poscosecha (Adikaram, Karunanayake, & Abayasekara, 2010).

En mango y aguacate, estos metabolitos juegan un rol importante en la resistencia natural a diferentes enfermedades, involucrando moléculas como el resorcinol, galotaninos (taninos hidrolizables) y quitinasas que inhiben la mayoría de los patógenos poscosecha; generalmente estas moléculas se encuentran en mayor cantidad en aquellas variedades más tolerantes a determinada enfermedad con respecto a las susceptibles.

Sin embargo, patógenos como *C. gloeosporioides* y *A. alternata* pueden infectar frutos inmaduros y entrar en un estado de latencia hasta que los niveles de estos metabolitos disminuyan, para posteriormente desarrollarse, siendo en este punto cuando se evidencian los signos de la enfermedad (Adikaram et al., 2010).

Principales agentes de control biológico y sus modos de acción contra los patógenos poscosecha

La poscosecha presenta ventajas para implementar alternativas de manejo de enfermedades como el control biológico. Las heridas provocadas durante la cosecha, transporte y manipulación pueden ser protegidas con una sola aplicación de agentes de control biológico, actuando en un sitio específico bajo condiciones de ambientes más estables (Janisiewicz & Korsten, 2002; Wilson & Wisniewski, 1989).

Son muchos los estudios publicados que muestran la versatilidad de los microorganismos, particularmente levaduras y bacterias, en el control de patógenos poscosecha en diferentes especies vegetales. Sin embargo, en otros se ha demostrado la versatilidad de hongos como *Trichoderma harzianum* o *Trichoderma viride* como agentes de control poscosecha, previo encadenamiento con las labores de precosecha.

En este sentido, y de acuerdo con estudios realizados por diferentes investigadores, en la tabla 3.1 se muestra una compilación de los microorganismos más estudiados como agentes de control biológico de patógenos poscosecha.

Tabla 3.1. Microorganismos antagonistas utilizados para el control de enfermedades poscosecha en hortalizas, raíces y tubérculos

Antagonista	Enfermedad (patógeno)	Fruta	Referencia(s)
Aureobasidium pullulans	Moho gris (*B. cinerea*), moho azul (*P. expansum*), pudrición blanda (*Monilinia laxa*)	Uva, Manzana	Schena, Nigro, Pentimone, Logorio y Ippolito (2003) Bencheqroun, et al. (2007) Barkai-Golan (2001)
Bacillus subtilis	Podredumbre del tallo (*Botryodiplodia theobromae* Pat.), moho gris (*B. cinerea*), pudrición por *Alternaria* (*A. alternata*)	Fresa, melón	Zhao, Shao, Tu y Chen, (2007) Yang, Bi, Chen, Ge y Zhao (2006)
Bacillus licheniformis	Antracnosis (*C. gloeosporioides*)	Mango	Govender, Korsten y Sivakumar (2005)

(Continúa)

(Continuación tabla 3.1)

Antagonista	Enfermedad (patógeno)	Fruta	Referencia(s)
Bacillus amyloliquefaciens	*B. cinerea, P. expansum, R. stolonifer*	Melocotón	Arrebola, Sivakumar, Bacigalupo y Korsten (2010)
Brevundimonas diminuta	Antracnosis (*C. gloeosporioides*)	Mango	Kefialew y Ayalew (2008)
Candida guilliermondii	Moho gris (*B. cinerea*)	Pera, manzana	Tian, Fan, Xu y Liu (2002)
Candida membranifaciens	Antracnosis (*C. gloeosporioides*)	Mango	Koomen y Jeffrics (1993) Kefialew y Ayalew (2008)
Candida oleophila	Pudrición de la corona (*Colletotrichum musae*) Antracnosis (*C. gloeosporioides*), moho gris (*B. cinerea*), moho verde (*P. digitatum*)	Banano, papaya, melocotón, naranja	Lassois, de Bellaire y Jijakli (2008) Gamagae, Sivakumar, Wilson Wijeratnam y Wijesundra (2003) Karabulut y Baykal (2004) El-Neshawy y Wilson (1997)
Candida sake	Moho azul (*P. expansum*)	Manzana	Usall, Teixido, Torres, Ochoa de Eribe y Viñas (2001) Torres et al. (2006) Morales, Sanchis, Usall, Ramos y Marín (2008)
Cryptococcus albidus	Moho gris (*B. cinerea*), moho azul (*P. expansum*)	Manzana, fresa	Fan y Tian (2001) Helbig (2002)
Cryptococcus laurentii	Pudrición agria (*Glomerella cingulata*), pudrición marrón (*M. fructicola*), pudrición por *Alternaria* (*A. alternata*), moho azul (*P. expansum*), pudrición blanda (*R. stolonifer*), moho gris (*B. cinerea*), moho azul (*P. expansum*)	Manzana, cereza, melocotón, fresa.	Lima, Curtis, Piedimonte, Spina y De Cicco (2006) Zhang, Zheng, Fu y Xi (2003, 2005) Zhang, Wang et al. (2007) Zhang, Zheng, Wang, Li y Liu (2007) Zhang, Zheng y Yu (2007) Yao y Tian (2005)
Cryptococcus magnus	Antracnosis (*C. gloeosporioides*)	Papaya	Capdeville et al. (2007)
Epicoccum nigrum	Pudrición marrón (*Monilinia laxa*)	Melocotón	Larena et al. (2005)
Kloeckera apiculata	Moho gris (*B. cinerea*), moho verde (*P. digitatum*), moho azul (*P. italicum*)	Cerezas, cítricos	Karabulut, Arslan, Kadir y Gul (2005) Long, Deng y Deng (2006) Long, Deng y Deng (2007)
Kluyveromyces thermotolerans	*Aspergillus carbonarius, Aspergillus niger*	Uva	Bleve, Grieco, Cozzi, Logrieco y Visconti (2006)
Metschnikowia fructicola	Moho gris (*B. cinerea*)	Uva	Karabulut y Baykal (2003)
Metschnikowia pulcherrima	Moho azul (*P. expansum; P. italicum*)	Manzana, cítricos	Spadaro, Vola, Piano, y Gullino (2002) Spadero, Garibaldi, y Gullino (2004) Kinay y Yildiz (2008)

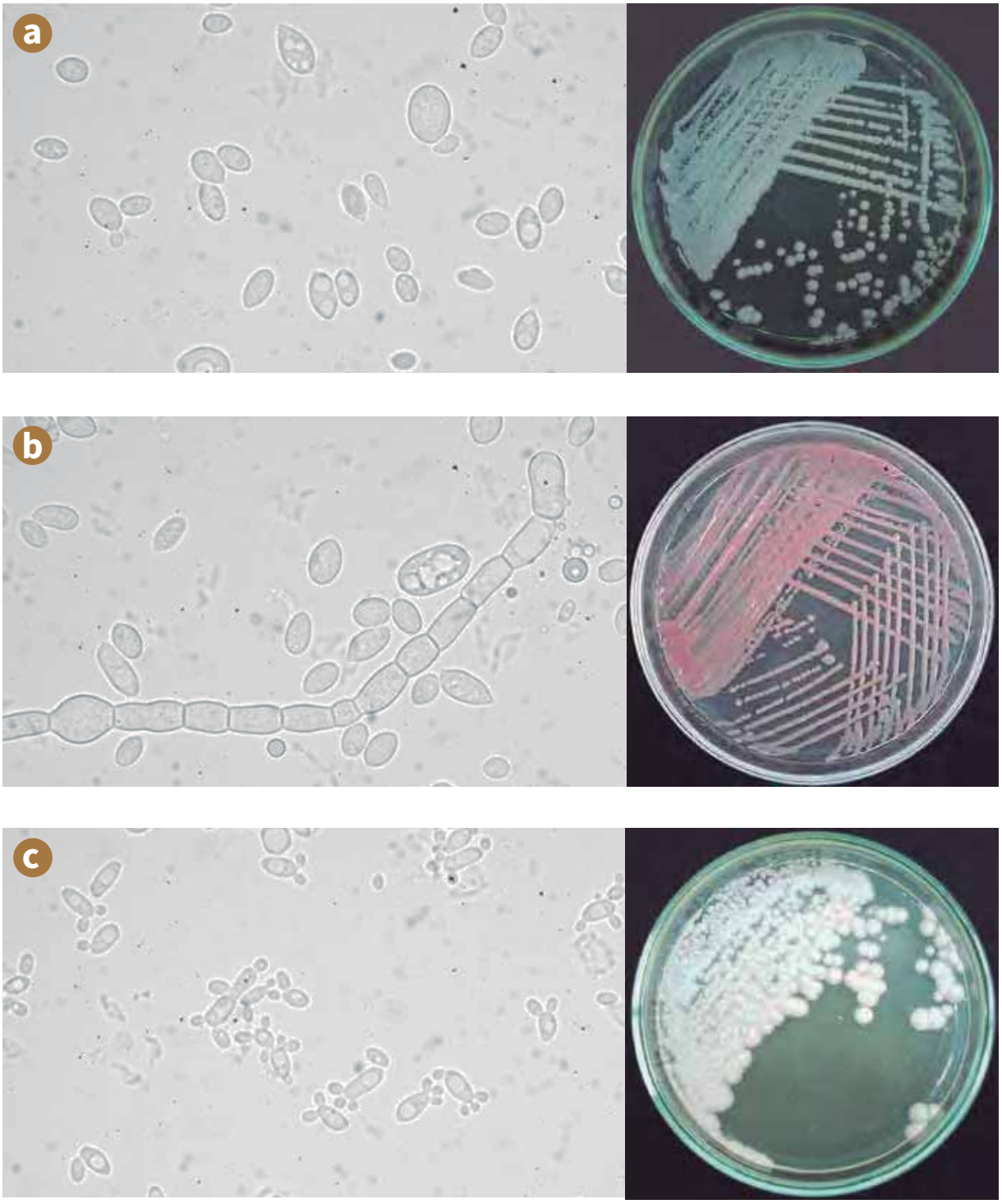
(Continúa)

(Continuación tabla 3.1)

Antagonista	Enfermedad (patógeno)	Fruta	Referencia(s)
Pantoea agglomerans	Pudriciones por *Penicillium* (*Penicillium* spp.), pudrición blanda (*R. stolonifer*), moho azul (*P. expansum*)	Cítricos, manzana, pera	Nunes, Teixido, Usall, y Viñas, (2001); Nunes, Usall, Teixido, Fons y Vinas (2002); Nunes, Usall, Teixidó, Torres y Vinas (2002) Canamas et al. (2008)
Penicillium frequentans	Pudrición marrón (*Monilinia* sp.)	Melocotón	Guijarro et al. (2007)
Pichia anomala	Pudriciones por *Penicillium* (*Penicillium* spp.), pudrición de corona (*C. musae*), antracnosis (*Colletotrichum capsici*), mancha bacteriana de la sandía (*Acidovorax avenae*)	Cítricos, banano, chile, melón	Lahlali, Serrhini y Jijakli (2004) Lassois, de Bellaire y Jijakli (2008) Chanchaichaovivat, Ruenwongsa y Panijpan (2007) Wang, Li, Jiang y Huang (2009)
Pichia guilliermondii	Moho azul (*P. italicum*)	Cítricos	Kinay y Yildiz (2008)
Pichia membranifaciens	Antracnosis (*C. acutatum*)	Níspero japonés	Cao, Zheng, Tang y Wang (2008)
Pichia onychis	Pudrición blanda (*R. stolonifer*)	Tomate	García, Jiménez, Neisa y Cotes (2001) García y Cotes (2001) Fuentes, García y Cotes (2002)
Pichia pastoris	Moho azul (*P. expansum*)	Manzana	Janisiewicz et al. (2008)
Pseudomonas fluorescens	Moho gris (*B. cinerea*)	Manzana	Mikani et al. (2008)
Pseudomonas syringae	Moho azul (*P. expansum*), moho gris (*B. cinerea*)	Manzana, melocotón	Janisiewicz (1987) Zhou, Northover y Schneider (1999)
Rahnella aquatilis	Moho gris (*B. cinerea*), moho verde (*P. digitatum*)	Manzana	Calvo, Calvente, De Orellano, Benuzzi y Sanz de Tosetti (2003) Calvo, Calvente, de Orellano, Benuzzi y Sanz de Tosetti (2007)
Rhodotorula glutinis	Moho azul (*P. expansum*), pudrición por Alternaria (*A. alternata*), moho gris (*B. cinerea*)	Manzana, pera, fresa	Zhang et al. (2009) Tian, Qin y Xu (2005) Zhang, Zheng, Wang et al. (2007) Zhang et al. (2008)
Trichoderma harzianum	Antracnosis (*C. musae*; *C. gloeosporioides*), moho gris (*B. cinerea*), mancha marrón (*Gliocephalotrichum microchlamydosporum*)	Banano, uva, kiwi, pera, rambután	Krishnamurthy. & Kushalappa (1985) Batta (2007) Sivakumar, Wilson Wijeratnam, Marikar, Abeyesekere y Wijesundera (2001) Sivakumar, Wilson Wijeratnam, Abeyesekere y Wijesundera (2002) Sivakumar, Wilson Wijeratnam, Wijesundera, Marikar y Abeyesekere (2000).
Trichoderma viride	Podredumbre del tallo (*B. theobromae* Pat.)	Mango	Kota, Kulkarni y Hegde (2006)
Trichosporon pullulans	Pudrición por *Alternaria* (*A. alternata*)	Cereza	Qin y Tian (2004)

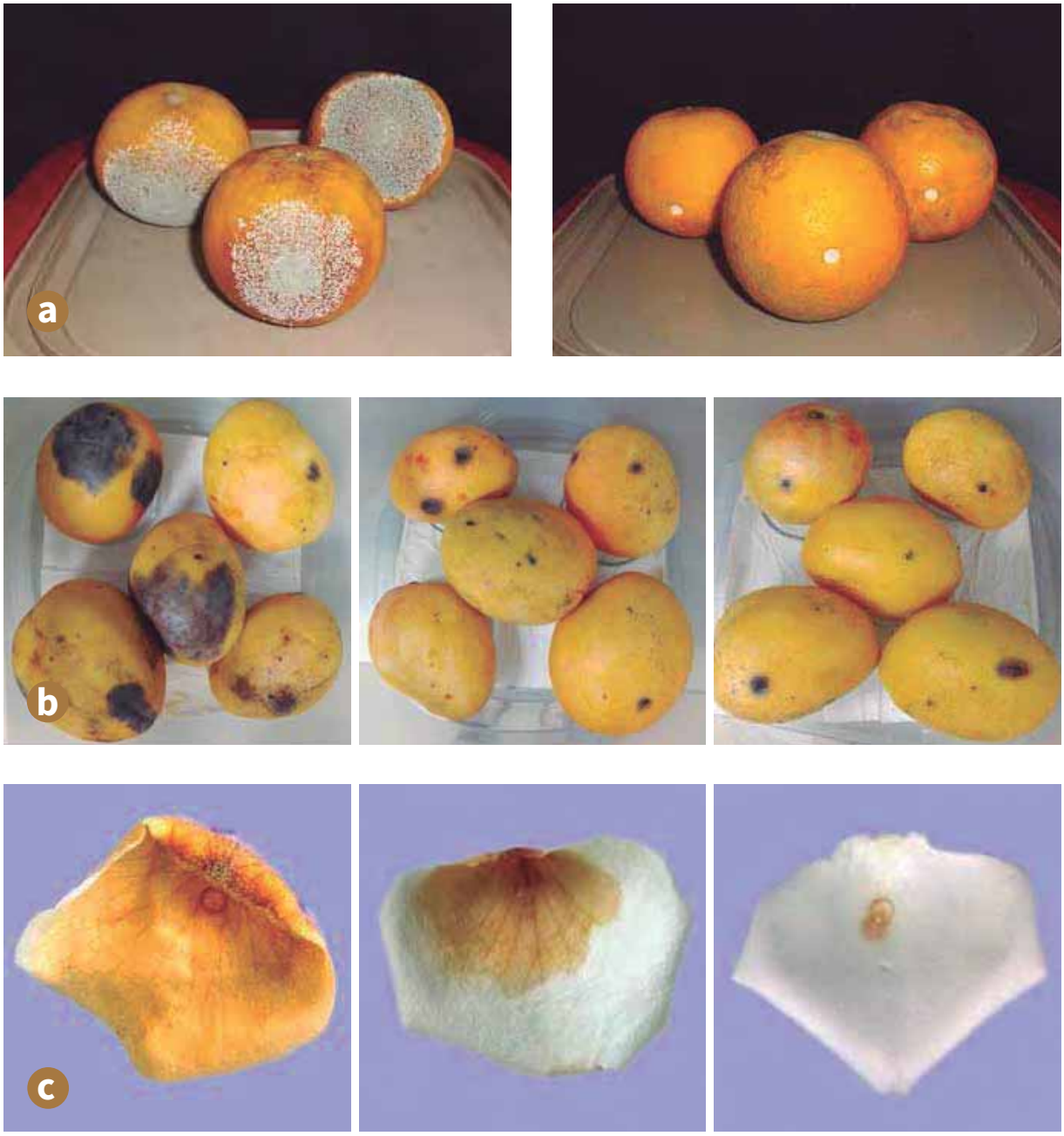
Fuente: Adaptada de Ray, Swain, Panda y Lata (2011)

A continuación, se muestran algunas levaduras utilizadas para el control de patógenos en poscosecha (figura 3.2) y el efecto de varios microorganismos biocontroladores (figura 3.3).



Fotos: Yimmy Zapata

Figura 3.2. Aspecto microscópico (izquierda) y macroscópico (derecha) de levaduras utilizadas como agentes de control en poscosecha, correspondientes a los géneros: a. *Pichia*; b. *Rhodotorula*; c. *Candida*.



Fotos: Yimmy Zapata

Figura 3.3. Actividad biocontroladora de levaduras. a. Control de *P. digitatum* (izquierda) en naranjas con la levadura *C. oleophila* (derecha) después de 7 días de incubación; b. Control de *C. gloeosporioides* (izquierda) con la levadura *Rhodotorula glutinis* (centro) y con la bacteria *Lysinibacillus xylanilyticus* (derecha) después de 12 días de inoculación; c. Control de *B. cinerea* (izquierda) en rosa con dos aislamientos de *Pichia onychis* (centro y derecha) después de 6 días de inoculación.

Modos de acción

Actualmente, se dispone de una gran cantidad de herramientas microbiológicas, microscópicas, bioquímicas y moleculares avanzadas. Estas podrían utilizarse para mejorar los conocimientos sobre los mecanismos de acción de los antagonistas microbianos (Liu, Sui, Wisniewski, Droby, & Liu, 2013), integrándose al estudio del control biológico, ya que las comunidades microbianas en las superficies de frutas y hortalizas podrían afectar el control de la enfermedad a través de su interacción con las plantas huésped, los patógenos y los agentes de control biológico. Esto ocurre debido a que en los mecanismos de acción hay interacciones tetratróficas entre el antagonista, el patógeno, el huésped y la microflora epifítica (Massart, Martinez-Medina, & Jijakli, 2015). En la mayoría de los casos, los enfoques científicos han examinado por separado estos componentes. A continuación, se presentan los modos de acción más frecuentemente atribuidos a los biocontroladores en poscosecha (figura 3.4).

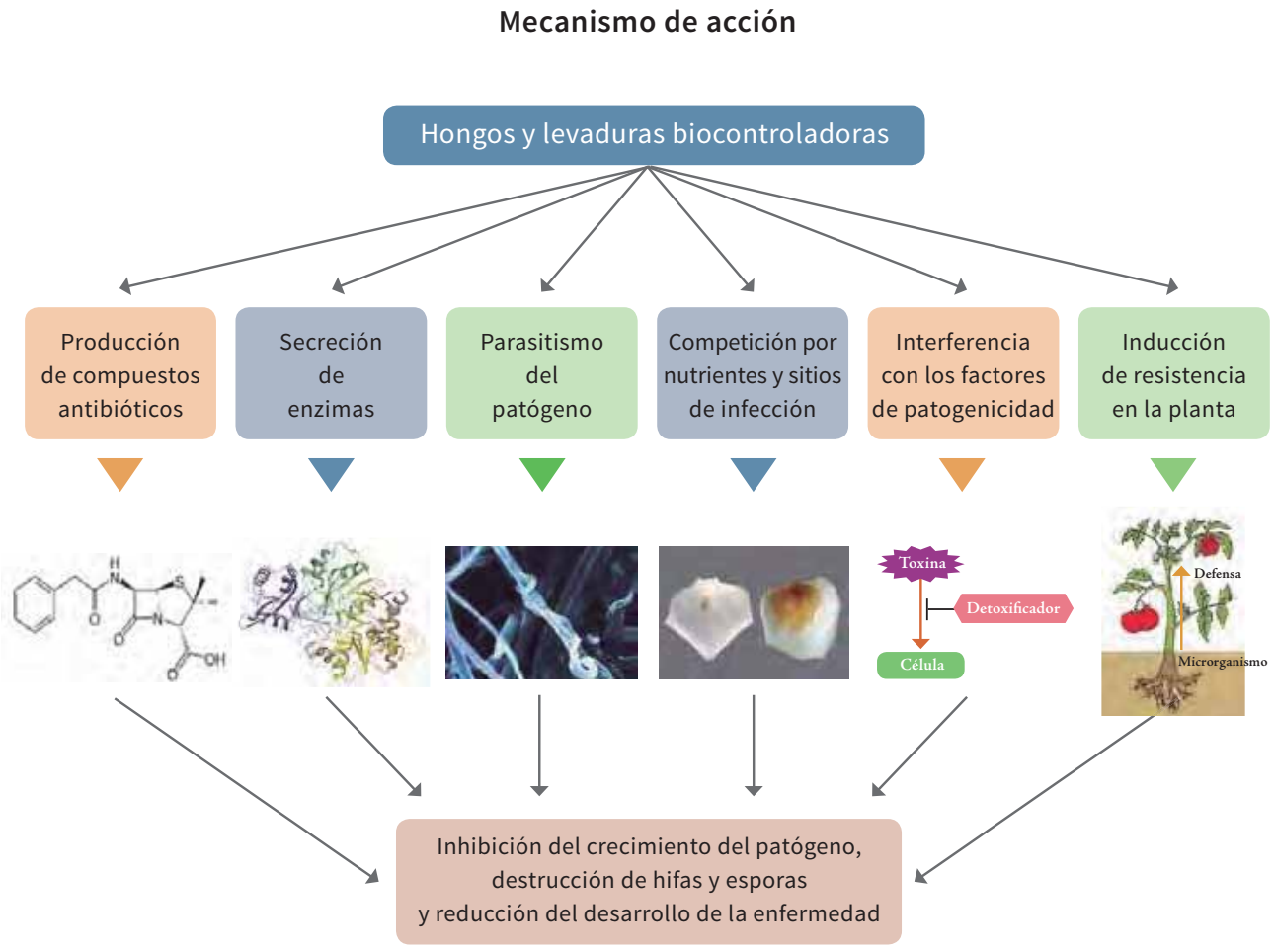


Figura 3.4. Modos de acción atribuidos a biocontroladores de patógenos en poscosecha.

Fuente: Elaboración propia

Competencia por espacio y nutrientes

Se considera que el modo de acción más importante de las levaduras y bacterias biocontroladoras es la competencia por espacio y nutrientes, debido a su rápida capacidad para colonizar la superficie de los vegetales, particularmente en las heridas que se producen durante su manipulación. En estas, las levaduras crecen rápidamente durante las primeras 24 horas agotando los nutrientes disponibles, además de ocupar físicamente el espacio de la herida, lo que limita la germinación de los conidios de los patógenos (figura 3.5). Adicionalmente, las levaduras están mejor adaptadas para tolerar diferentes condiciones nutricionales y ambientales en comparación con los propágulos de los patógenos, lo que les da ventajas competitivas (Droby, Chalutz, Wilson, & Wisniewski, 1992; El-Ghaouth, Wilson, & Wisniewski, 2004; Liu et al., 2013).

Este mecanismo se ha dilucidado en la interacción *Enterobacter cloacae-R. stolonifer* en melocotón y *P. guilliermondii-P. italicum* en cítricos (Arras, De Cicco, Arru, & Lima, 1998; Wisniewski et al., 1989). En otros estudios, se demostró que los antagonistas *Cryptococcus laurentii* y *Sporobolomyces roseus* utilizaron el acetato de butilo, compuesto volátil de la manzana, como fuente de nutrientes, y redujeron los efectos estimuladores de este compuesto sobre la germinación de los conidios de *B. cinerea in vitro* (Filonow, 2001). Además, se observó que estos dos antagonistas exhibían una mayor absorción y utilización de la fructosa a 14 °C, lo que sugiere que la competencia por nutrientes podría haber desempeñado un papel importante en su control. El mismo fenómeno también se encontró en la interacción de *E. herbicola* B66 y B90 con *B. cinerea* y *P. expansum* en jugo de manzana diluido (Bryk, 1999).

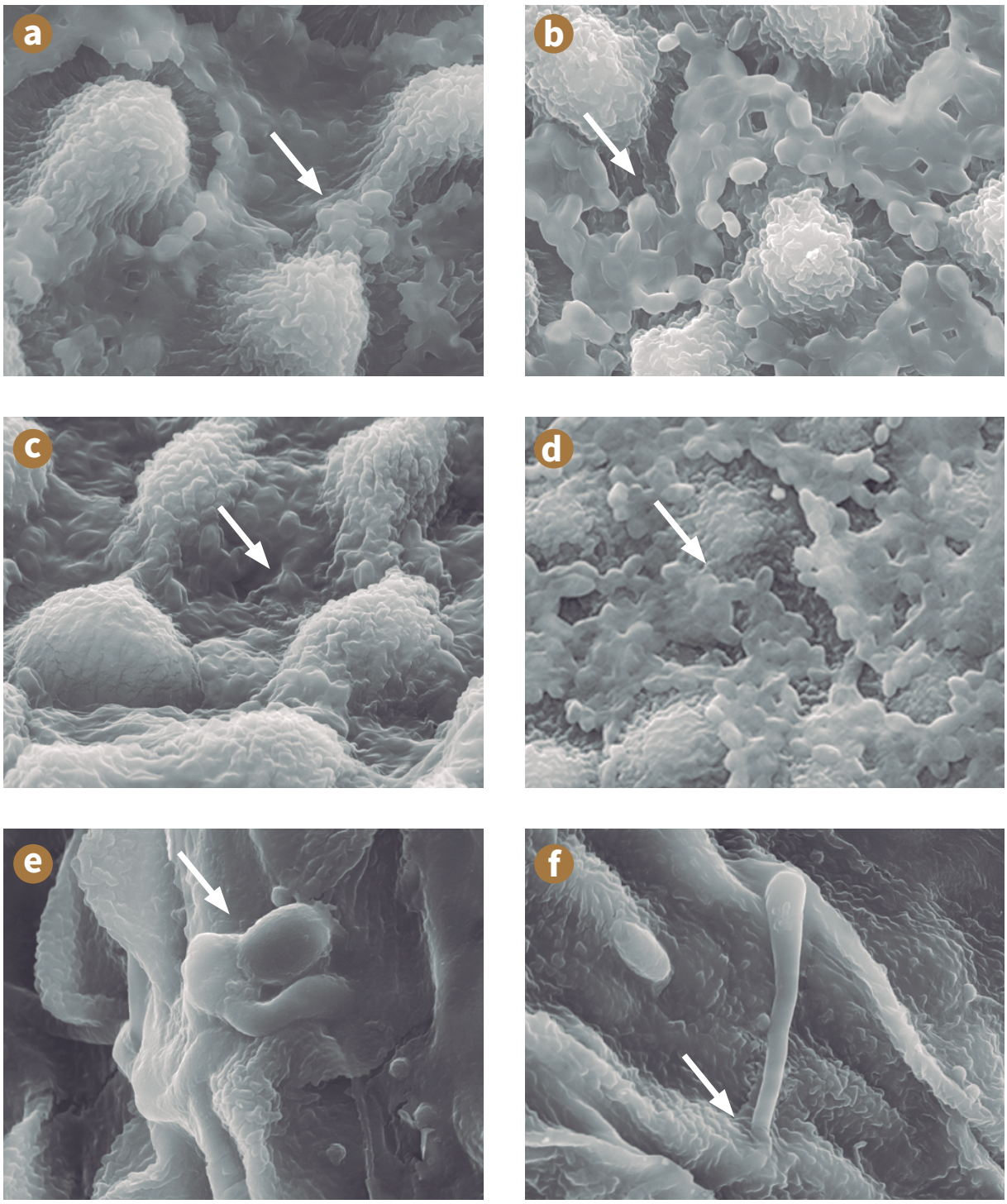
Sin embargo, diferentes estudios han demostrado que la eficiencia en el control disminuye con la maduración de los frutos. En este sentido, Arras et al. (1998) evaluaron la actividad de control de la levadura *Pichia guilliermondii* contra el moho azul en cítricos, adicionando bajas concentraciones de glucosa en las heridas donde fue inoculada; los investigadores encontraron que la incidencia de *P. italicum* aumentó significativamente en las frutas tratadas, con respecto a aquellas a las que no se les adicionó glucosa. Esta situación, también se ha observado para *Pseudomonas cepacia* y *Candida saitoana* en el control de *P. digitatum* en limones, que se redujo a medida en que el fruto cambió su coloración de verde a amarillo, parámetro fisiológico que indica un avance en la maduración (El-Ghaouth, Smilanick, & Wilson, 2000; El-Ghaouth & Wilson, 2002).

Por otra parte, la competencia por micronutrientes como el hierro en una un ambiente pobre en oxígeno, como las heridas de las frutas, es un mecanismo utilizado por los antagonistas. Tal es el caso de sideróforos de tipo ácido rodotorúlico, producido por *Rhodotorula glutinis*, que interviene en el control de *Penicillium expansum* en manzanas (Calvente et al., 1999). Lo mismo ocurrió con la producción de pulquerrimina por *Metschnikowia pulcherrima* y *Metschnikowia fructicola*, que está involucrada en el control de *B. cinerea*, *Alternaria alternata* y *P. expansum*, en manzanas almacenadas en atmósferas controladas (O_2 al 2 % y CO_2 al 3 %) (Saravanakumar et al., 2009).

Producción de antibióticos

La antibiosis es un importante modo de acción atribuido particularmente a las bacterias, debido a su capacidad para producir sustancias que inhiben el crecimiento de los patógenos o que causan su muerte. Bacterias como *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas cepacia* inhiben el crecimiento de patógenos como *P. expansum* y *B. cinerea*, mediante la producción de iturina y pirrolnitrina, respectivamente (Janisiewicz, Yourman, Roitman, & Mahoney, 1991; Pusey, 1989).

La iturina, producida por *B. subtilis* B-3, y la pirrolnitrina, producida por *Pseudomonas cepacia* LT-4-12W, redujeron el crecimiento *in vitro* y la germinación conidial del patógeno de durazno *M. fructicola*, así como de los patógenos de manzana y pera *P. expansum* y *B. cinerea*, respectivamente (Gueldner et al., 1988; Janisiewicz & Roitman, 1988). Ambos biocontroladores controlaron efectivamente las enfermedades causadas por estos patógenos (Janisiewicz & Roitman, 1988; Prusky, Alkan, Mengiste, & Fluhr , 2013), que tam-



Fotos: Gloria Patricia Barrera

Figura 3.5. Aspecto microscópico de la interacción entre la levadura *Rhodotorula glutinis* y *B. cinerea* en pétalos de rosa luego de 24 y 96 horas, respectivamente. a y b. Superficie de pétalos inoculados con la levadura; c y d. Superficie de pétalos de rosa inoculados con la levadura y con conidios de *B. cinerea*; e y f. Desarrollo de *B. cinerea* inoculado en ausencia de la levadura (Imágenes al microscopio electrónico de barrido a una magnitud de 5.000 X).

bién fueron controladas al aplicarlos sobre los frutos en ausencia de los biocontroladores (Janisiewicz et al., 1991). En ensayos desarrollados con las cepas productoras de iturina *B. amyloliquefaciens* PPCB004 y *B. subtilis* UMAF6614 y UMAF6639, y las cepas no productoras de iturina *B. amyloliquefaciens* PPCB004itu- (un mutante de la cepa PPCB004) y *B. subtilis* PPCB00, en el control de *Penicillium crustosum*, *Alternaria citri* y C. *gloeosporioides* en naranjas (Arrebola, Jacobs, & Korsten, 2010), se inocularon las bacterias 24 horas previas a la inoculación de los patógenos. Allí, se observó que había una menor incidencia de estos en aquellas naranjas tratadas con las bacterias productoras de iturina, con respecto a las tratadas con las bacterias que no producen este antibiótico, demostrando el gran potencial de uso de estas bacterias durante la poscosecha de cítricos.

Además, se demostró que *A. pullulans* produce el antibiótico aureobasidina (Takesako et al., 1991), mientras que las cepas de *P. syringae* ESC-10 y ESC-11 producen el antibiótico Siringomicina E en algunos medios de cultivo, compuestos que al purificarlos controlaron el moho verde de los limones (Bull et al., 1998).

Sin embargo, esto lleva al debate de si se debería usar un microorganismo productor de antibióticos en poscosecha, teniendo en cuenta la preocupación de introducir estos metabolitos en los alimentos o contribuir al riesgo de desarrollo de resistencia por parte de los patógenos (Nunes, 2012). Es necesario elucidar aún más este modo de acción, ya que, como lo demostraron Smilanick y Denis-Arrue (1992), un patógeno que presente resistencia a un antibiótico puede ser controlado por un microorganismo que produzca este mismo metabolito; estos autores observaron que una cepa de *P. digitatum* resistente a la pirrolnitrina fue controlado por *P. cepacia*, bacteria que lo produce, sugiriendo que la producción de antibióticos no es el único mecanismo de acción, pudiendo estar involucrado además la colonización y el consumo de nutrientes.

En este sentido, sería posible utilizar microorganismos que produzcan compuestos antimicrobianos volátiles, dado que así los alimentos no estarían en contacto con los microorganismos y sus antibióticos (Gomes, Queiroz, & Pereira, 2015; Nunes, 2012).

Parasitismo y lisis

Algunos microorganismos utilizados como agentes de control en poscosecha tienen la capacidad de parasitar a diferentes patógenos. Wisniewski et al. (1991) evidenciaron la habilidad que tienen las células de *Pichia guilliermondii* de unirse a las hifas de *B. cinerea* y de *Penicillium* sp., (mediada quizás por la acción de lectinas) y de degradarlas mediante la producción y actividad de enzimas hidrolíticas como β-1,3-glucanasa y quitinasa.

Aureobasidium pullulans cepa LS-30 ha demostrado control de patógenos poscosecha como *B. cinerea* y *P. expansum* en manzanas y de *A. niger* y *R. stolonifer* en uvas de mesa, mediante la producción de β-1,3-glucanasa y exoquitinasa (Castoria et al., 2001). Asimismo, se ha demostrado lisis en las hifas de *B. cinerea* por β-1,3-glucanasa producida por *P. guilliermondii* en manzana (Arras et al., 1998). Además, cuando se aplicó la cepa K de *P. anomala*, en presencia de la pared celular de *B. cinerea* en heridas de manzana, demostró mayor eficacia en el control del moho gris, control que se relacionó con un aumento de tres veces en la producción de exo-β-1,3-glucanasa, lo que llevó a una reducción de más del 50 % en el tamaño de la lesión, en comparación a cuando el antagonista se aplicó solo (Grevesse, Jijakli, Duterme, Colinet, & Lepoivre, 1998; Jijakli, Lepoivre, & Grevesse, 1999). También se han encontrado mayores actividades β-1,3-glucanasa y quitinasa en heridas de manzana tratadas con cepas de *A. pullulans*, relacionando esto con su actividad biocontroladora en manzanas y uvas de mesa (Conway, Sams, & Hickey, 2002; Ippolito & Nigro, 2000).

Inducción de respuestas de defensa

La respuesta de defensa en frutos está determinada principalmente por la producción de inhibidores de las enzimas que intervienen en la degradación de la pared celular de los tejidos vegetales, así como en la producción de compuestos antifúngicos como fitoalexinas y compuestos fenólicos, especies

reactivas de oxígeno y el fortalecimiento de las paredes celulares. Estas respuestas pueden ser elicitadas por diferentes microorganismos, entre los que se encuentran algunas levaduras que se utilizan en poscosecha (Arras, 1996; Ippolito, El-Ghaouth, Wilson, & Wisniewski, 2000).

Uno de los primeros reportes sobre inducción de resistencia en frutas almacenadas fue realizado por Arras (1996), quien demostró que la fitoalexina scoparona, asociada a la resistencia en cítricos, fue sintetizada en naranjas tratadas con la levadura *Candida famata* cepa FS35.

En el mismo sentido, Droby et al. (2002) demostraron que *Candida oleophila* indujo resistencia sistémica a *P. digitatum* en pomelo, 24 horas después de la aplicación de la levadura, observando que las heridas realizadas a menos de 4 cm de las heridas inoculadas con las células de las levaduras presentaban menor incidencia de la enfermedad con respecto a las que se encontraban a mayor distancia; así, atribuyeron la protección a la producción y acumulación de β-1,3-glucanasa, quitinasa y fitoalexinas.

Igualmente, El Ghaouth, Wilson y Wisniewski (2003) demostraron la inducción de respuestas de defensa en manzanas por *Candida saitoana* contra *B. cinerea*, al inocular la levadura entre 48 y 72 horas previas a la inoculación del patógeno. Estos autores observaron reducción de las lesiones producidas por *B. cinerea* en heridas, efecto de protección que fue correlacionado con la producción de β-1,3-glucanasa y quitinasa.

En otros trabajos se demostró que la levadura antagonista *P. guilliermondii* US-7 induce en cáscaras de cítricos, además de la fitoalexina scoparona, la producción de la fenilalanina amonio liasa (PAL). Esta enzima es de suma importancia, ya que es la primera en la ruta de los fenilpropanoides involucrada en mecanismos de defensa vegetal (Pusey & Wilson, 1984). Además, el tratamiento con C. *saitoana* en manzana y cítricos indujo quitinasa y causó la deposición de papilas a lo largo de las paredes de las células huésped (El-Ghaouth et al., 2000; El-Ghaouth, Wilson, & Wisniewski, 1998). La aplicación de *A. pullulans* L47 en manzanas aumentó las actividades de β-1,3-glucanasa, quitinasa y polifenol oxidasa (PO) 24 horas después del tratamiento, alcanzando niveles máximos a las 48 y 96 h después de su inoculación (Ippolito et al., 2000). Además, cuando se aplicó C. *saitoana* sobre manzanas, 48 horas a 72 horas antes de la inoculación con *B. cinerea*, redujo el diámetro de lesión en más del 50 % y 70 %, respectivamente, y aumentó las actividades de quitinasa y β-1,3-glucanasa (El-Ghaouth et al., 2003).

Por otra parte, el tratamiento en manzanas con la levadura C. *famata*, además de aumentar las actividades de quitinasa y β-1,3-glucanasa, aumentó 12 veces la concentración de las fitoalexinas scoparona y scopoletin en las heridas de la fruta, cuatro días después de inoculación. Este resultado se relacionó con la reducción del moho verde (*P. digitatum*) en las naranjas (Arras, 1996). La aplicación de *Pseudomonas fluorescens* FP7, formulada como una emulsión agua en aceite, aumentó la actividad de las enzimas relacionadas con la defensa; tal es el caso de PAL, peroxidasa, polifenol oxidasa, catalasa y β-1,3-glucanasa. Estas mismas respuestas fueron observadas cuando se aplicaron *P. fluorescens* Pf1 y *B. subtilis* EPCO16 (Faisal et al., 2013). Estas cepas, además de los compuestos mencionados anteriormente, también indujeron la superóxido dismutasa y catalasa en frutos de mango tratados contra la pudrición del tallo (Seethapathy, Gurudevan, Subramanian, & Kuppusamy, 2016).

Producción de otros compuestos antimicrobianos

Algunas cepas de las levaduras *Saccharomyces cerevisiae* y *Pichia membranifaciens* pueden producir diferentes compuestos que inhiben el desarrollo de los patógenos durante la poscosecha; entre estas, las levaduras con el factor *killer* (K) producen las denominadas toxinas o proteínas K, que son letales tanto para otras levaduras como para otros hongos. Estas toxinas le confieren a quien las produce una ventaja ecológica al momento de colonizar un sustrato, ya que son estables y activas en rangos de pH entre 3,0 y 5,5; aunque algunas son inestables a temperaturas sobre los 25 °C, esto en general no afecta su actividad, ya que a esta temperatura no se suelen realizar las operaciones poscosecha (Breinig et al., 2002; Marquina, Santos, & Peinado, 2002; Selitrennikoff, 2001).

Un ejemplo de su uso para patógenos en poscosecha se describe en el trabajo de Perez et al. (2016), quienes evaluaron 437 aislamientos de levadura, demostrando que el 8,5 % pertenecía al fenotipo κ. Estas pertenecen a los géneros *Saccharomyces*, *Wickerhamomyces*, *Kazachstania*, *Pichia*, *Candida* y *Clavispora*, que al ser enfrentadas *in vitro* con *P. digitatum* causaron la máxima inhibición, seleccionándose para la realización de bioensayos in vivo en limones. De este grupo, dos cepas de *Pichia* y una cepa de *Wickerhamomyces* presentaron una protección significativa contra el moho verde ($p < 0,05$). Otros autores también han demostrado que los caracteres κ de cepas de *Debaryomyces hansenii* les confieren potencial para el control de las enfermedades poscosecha (Çorbacı & Uçar, 2017).

Varios de los mecanismos citados se resumen en la figura 3.6, en la que además se muestran los efectos del patógeno en una fruta no tratada con el biocontrolador, en comparación con una fruta tratada con el biocontrolador.

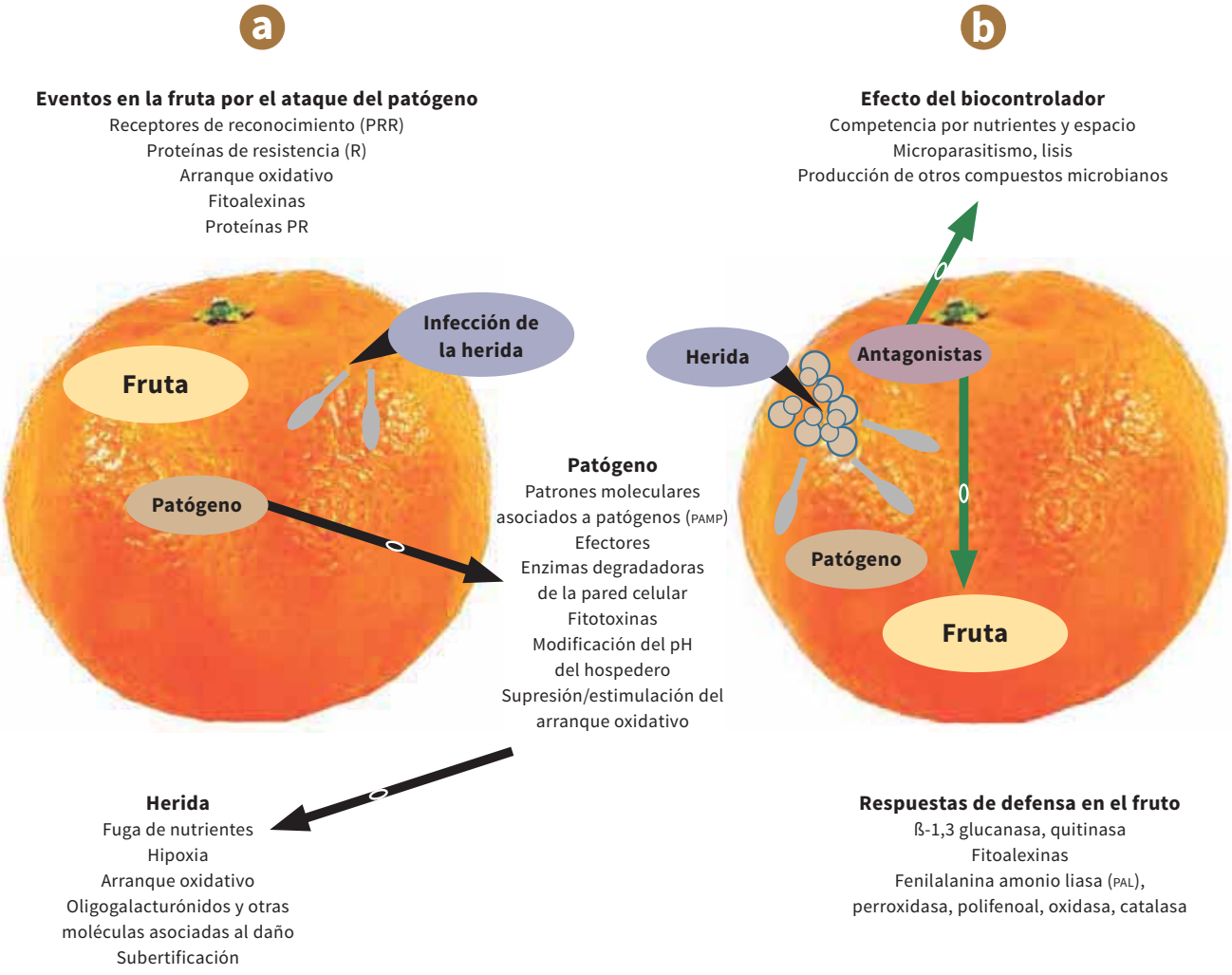


Figura 3.6. Interacciones entre Patógeno–Fruta–Biocontrolador. a. Efectos del patógeno y respuesta de una fruta no tratada con el biocontrolador; b. Efecto protector de un biocontrolador expresado por diferentes mecanismos directos sobre el patógeno, e indirectos mediante inducción de respuestas de defensa en la fruta.

Fuente: Adaptada de Spadaro y Droby (2016)

Bioplaguicidas comercialmente disponibles para el control de patógenos en poscosecha

A diferencia de la tolerancia en la efectividad que puede tener el control biológico en campo, en poscosecha se considera que la actividad debe ser superior al 90 %. Sin embargo, este nivel de control puede ser alcanzado solo cuando se complementa el uso de los bioplaguicidas con bajos niveles de fungicidas de síntesis química (Droby et al., 2009). A pesar de las numerosas investigaciones desarrolladas en el control biológico de patógenos poscosecha, en la actualidad son pocos los bioplaguicidas basados en levaduras o bacterias registrados en diferentes países para el manejo de enfermedades en la poscosecha (tabla 3.2).

Tabla 3.2. Ejemplo de biofungicidas registrados para el control de patógenos poscosecha

Biofungicida	Principio activo	Blanco	Uso en	Origen
Aspire	*Candida oleophila* cepa I-182	*Botrytis cinerea*, *Penicillium* sp.	Manzanas, cítricos	Ecogen, Estados Unidos (Wisniewski et al., 2007)
Boni Protect	*Aureobasidium pullulans* cepas DSM 14940 y 14941	*Gloeosporium album*, *P. expansum*, *B. cinerea*, *Monilia fructigena*	Manzanas	Bio-protect, Alemania (Lacroix, 2010).
Bio-Save®	*Pseudomonas syringae*	*B. cinerea*, *Penicillium* sp., *Geotrichum* sp., *Fusarium* sp., *Rhizopus* sp.	Manzanas, peras, cerezas, cítricos.	Estados Unidos (Droby et al., 2009).
Botector®	*Aureobasidium pullulans*	*B. cinerea*	Uvas	Bio-ferm GmbH Technopark, Austria (Lacroix, 2010).
Candifruit	*Candida sake* cepa CPA-1	*Penicillium* sp.	Manzanas y cítricos	Sipcam - Inaagri, SA, Valencia, España (Droby et al., 2009).
NEXY®	*Candida oleophila* cepa O	*B. cinerea*, *P. expansum*	Manzanas, banano, cítricos.	Lesaffre - Bionext, Francia (Droby et al., 2009).
ShemerTM	*Metschnikowia fructicola*	*Aspergillus* sp., *B. cinerea*, *Rhizopus* sp., *Sclerotinia* sp.	Uvas, cítricos, fresas, frutos de pepita	Bayer Crop Science, Israel (Droby et al., 2009).
Yield Plus	*Cryptococcus albidus*	*B. cinerea*, *P. expansum*, *Mucor piriformis*	Frutos de pepita	Lallemand, Canada (Droby et al., 2009).

Fuente: Elaboración propia con base en los autores citados

Dado el costo en el desarrollo de nuevas y seguras moléculas químicas para uso en poscosecha, así como las restricciones en el uso que las actuales plantea, la adopción de los biofungicidas como estrategia principal para el control de los patógenos poscosecha ofrece una importante oportunidad, siendo pocos los que se encuentran en etapas avanzadas de desarrollo o que están comercialmente disponibles. El poco éxito de los productos para el control de patógenos en poscosecha ha sido atribuido a varios problemas, incluyendo dificultades para su producción masiva y formulación, el estado fisiológico de los productos cosechados y su susceptibilidad a patógenos específicos (Droby, Wisniewski, Teixidó, Spadaro, & Jijakli, 2016), además de la baja rentabilidad de muchos de ellos (Spadaro & Droby, 2016), y debido a los resultados inconsistentes cuando son usados a nivel comercial, ya que la mayoría de ellos no afectan patógenos quiescentes.

Historias de éxito: *Candida oleophila* para el control biológico de patógenos en poscosecha

Los primeros estudios sobre control biológico de enfermedades poscosecha aparecieron hace más de 30 años, cuando investigadores del Servicio de Investigación Agrícola de Estados Unidos (USDA-ARS, por su sigla en inglés) trabajaron en el desarrollo de bioplaguicidas a base de levaduras y bacterias (Droby et al., 2009; Sharma, Singh, & Singh , 2009; Spadaro & Gullino, 2004) y, desde entonces, se han logrado progresos importantes. El primer producto de biocontrol de patógenos en poscosecha fue desarrollado por Wisniewski et al. (2007), quienes utilizaron la levadura *Candida oleophila*, producto que fue lanzado bajo el nombre comercial de Aspire® en 1995 (Ecogen Inc., Langhore, PA).

Ese primer producto dejó muchas enseñanzas y abrió el campo para el uso de levaduras biocontroladoras, ya que en el proceso de investigación Wilson Wisniewski, Droby y Chalutz (1993) desarrollaron una estrategia de selección para identificar potenciales agentes biocontroladores no productores de antibióticos. El aislamiento se realizó aplicando agua de lavado de frutas sanas sobre la superficie de los frutos que normalmente desarrollaban enfermedades en la poscosecha, para así obtener levaduras a partir de heridas que no habían desarrollado la infección por patógenos. Posteriormente, incluyeron en esta estrategia la inoculación artificial de los patógenos que se deseaba controlar. En uno u otro caso, una vez aislaban la levadura antagonista en cultivo puro, estas se identificaban utilizando técnicas morfológicas, fisiológicas y moleculares para establecer su identidad. Así, a partir de la superficie del tomate se aisló *Candida oleophila* (cepa I-182), a partir de la cual se desarrolló el primer bioplaguicida de control en poscosecha a base de levaduras. Su desarrollo estuvo fundamentado en criterios adicionales para la cepa y para el producto formulado (Wisniewski et al., 2007), tales como:

- Estabilidad genética.
- Eficacia a bajas concentraciones.
- Reducida exigencia de nutrientes.
- Capacidad para sobrevivir condiciones ambientales adversas, incluyendo baja temperatura y almacenamiento en atmósfera controlada.
- Eficacia contra una amplia gama de patógenos en variedad de frutas y hortalizas.
- Facilidad para ser producida masivamente en un medio de cultivo económico.
- Formulación con una larga vida útil.
- Facilidad de aplicación.
- No producción de metabolitos perjudiciales para la salud humana.
- Compatibilidad con plaguicidas químicos.
- Tolerancia a los procedimientos utilizados para su escalamiento comercial.
- Ausencia de crecimiento a 37 °C.
- Ausencia de patogenicidad en frutas y hortalizas.

Para su producción comercial, se estableció una alianza con Ecogen, que proporcionó el puente entre la teoría y la práctica. Esta empresa se encargó de proteger, mediante patente, el uso de la levadura y

de realizar el proceso de registro ante la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA, por su sigla en inglés). Previamente, se logró producir la levadura en un sustrato de bajo costo, utilizando subproductos industriales, y se desarrolló un bioplaguicida con una vida útil de más de un año sin refrigeración (Wilson & Wisniewski, 1994), que fue evaluado en ensayos piloto sobre manzanas y cítricos en Estados Unidos e Israel, respectivamente. Este producto a base de un único microorganismo dio inicio a la primera generación de productos para poscosecha (Wisniewski et al., 2007). Se registró en Estados Unidos para su uso en manzanas y cítricos, pero fue retirado del mercado tres años después de su introducción comercial a gran escala, en parte debido a su eficacia inconsistente bajo condiciones comerciales, si se tiene en cuenta que este y otros productos de poscosecha tienen incapacidad para controlar infecciones preestablecidas o quiescentes. Además, otras situaciones tales como la baja rentabilidad, las dificultades de penetración y percepción del mercado (clientes/industria y pequeñas empresas), la baja disponibilidad y la falta de recursos para mantener su desarrollo y comercialización llevaron a tomar esta decisión (Spadaro & Droby, 2016).

Las limitaciones de este tipo de productos para controlar infecciones prestablecidas o quiescentes dieron inicio al desarrollo de la segunda generación de bioplaguicidas, basada en la combinación de productos naturales junto con el microorganismo antagonista, lo que permitió mejorar las oportunidades de patentes y atraer nuevos socios industriales. Es así como mediante otra investigación, el grupo de Gembloux Agro-Biotech (Universidad de Lieja, Bélgica) aislaron la levadura *Candida oleophila* cepa O de la superficie de manzanas Golden Delicious, que fue seleccionada entre varias por su alta y consistente actividad biocontroladora contra *B. cinerea* y *P. expansum*, dos patógenos limitantes a nivel mundial en la poscosecha de manzanas y peras (Jijakli, Lepoivre, Tossut, & Thonard, 1993). Esta cepa también resultó ser muy eficaz para controlar *P. digitatum* y *P. italicum*, dos especies devastadoras en la poscosecha de los cítricos (Lahlali, Serrhini, & Jijakli, 2004, 2005a, 2005b).

En razón de estos resultados se desarrolló NEXY®, un formulado que, además de la cepa O de *C. oleophila*, contiene el aditivo nutricional consistente en una sal de calcio. Este producto se vende en dos bolsas separadas: NEXY® biomasa y NEXY® aditivo, que deben mezclarse justo antes de su uso. El producto fue patentado y licenciado por la compañía Agrauxine, una subsidiaria de Lesaffre International, y fue registrado ante la Unión Europea (Lahlali, Raffaele, & Jijakli, 2011). NEXY® ha demostrado además un control efectivo contra un complejo fúngico integrado por *C. musae*, *Fusarium moniliforme* y *Cephalosporium* sp., en banano (Bastiaanse, De Lapeyre de Bellaire, Lassois, Misson, & Jijakli, 2010). Recientemente, Agrauxine y Syngenta iniciaron una alianza para lanzar NEXY® como la primera solución de biocontrol contra las enfermedades en poscosecha del banano (Lavalard, 2017).

El uso de aditivos mezclados con las levaduras para incrementar su actividad biocontroladora también fue implementado por los investigadores de USDA-ARS, quienes luego del registro de Aspire desarrollaron dos nuevos productos, cuyos principales componentes fueron la levadura *Candida saitoana*, mezclada con un derivado del quitosán (Biocoat®) o con lisozima (Biocure®). Estos compuestos ya se habían ensayado en todo el mundo y habían demostrado tener actividad de control de fitopatógenos (Wisniewski et al., 2007). Además de estos aditivos, ambos productos contienen bicarbonato sódico. La eficacia de control de estos bioplaguicidas se ubicó en niveles equivalentes a los encontrados con los fungicidas químicos utilizados en la poscosecha y fueron patentados (El-Ghaouth & Wilson, 2002; Wilson & El-Ghaouth, 2002).

Gracias a los esfuerzos pioneros de varios grupos de investigación, en los últimos años ha habido una gran dinámica en el control biológico de patógenos en poscosecha. Un análisis de información desarrollada por Spadaro y Droby (2016) mostró que, al utilizar las palabras clave "biocontrol", "control biológico" y "poscosecha" en Scopus, se recuperaron 879 documentos, la mayoría de ellos (el 69 %) publicada en los últimos diez años, lo que demostró avances impresionantes en el desarrollo de este tema, en el que se incluyeron trabajos sobre registro y comercialización de productos de biocontrol y manejo de los principales patógenos poscosecha, como *P. expansum*, *P. digitatum*, *P. italicum*, *Fusarium sambucinum*, *R. stolonifer* y *B. cinerea*.

Conclusiones y perspectivas

Las primeras investigaciones para identificar potenciales agentes de biocontrol básicamente adoptaron la misma estrategia utilizada para encontrar agentes de control biológico contra enfermedades foliares y transmitidas por el suelo, en las que se diseñó un programa de aislamiento y *screening* para identificar antagonistas potentes únicos. Sin embargo, los paradigmas anteriores descuidaron el hecho de que el antagonista introducido no era el único "jugador" presente en el producto cosechado y les atribuía poca importancia a otros tratamientos poscosecha sobre la población de antagonistas y su efecto sobre otra microflora residente.

Ha habido avances significativos en la comprensión de los mecanismos de acción de los biocontroladores; además, la información disponible indica que no hay un mecanismo universal común para todos los antagonistas reportados. Aunque se piensa que la competencia por los nutrientes y espacio juega un papel importante, ahora es evidente que los diferentes mecanismos de acción que actúan en conjunto y la contribución relativa de cada uno de ellos dependen en gran medida del tipo de antagonista, del huésped, del medio ambiente y de la microflora natural residente, que es única para cada fruta o verdura.

Se ha demostrado que el estado fisiológico, las condiciones ambientales y el manejo poscosecha tienen efectos significativos, pero hay desconocimiento en gran parte sobre las interacciones fruto/hortaliza con las comunidades microbianas. A la luz de los recientes avances en las tecnologías ómicas, tecnologías de secuenciación de última generación y biología de sistemas, la ecología microbiana está teniendo un gran impacto que está llevando a un cambio de paradigma en el control biológico de patógenos en poscosecha. La comprensión de que el microbioma es un componente integral y activo de las frutas y hortalizas cosechadas, así como que está siendo influenciado por diversos factores de estrés bióticos y abióticos, exige el estudio de todos los factores involucrados en la composición y función de un microbioma específico. Se debe explorar la posibilidad de que las interacciones multitróficas estén implicadas en los sistemas de control biológico en poscosecha. La comprensión de los mecanismos por los cuales las plantas seleccionan e interactúan con sus microbiomas puede tener un efecto directo sobre la salud de las frutas y las enfermedades y puede conducir al establecimiento de estrategias de manejo de los fitopatógenos y a la modulación de la fisiología del fruto/hortaliza después de la cosecha.

Se han logrado avances significativos en el descubrimiento y desarrollo de bioplaguicidas, y en la mejora de la eficacia de una amplia variedad de antagonistas microbianos. Todo indica que la industria de bioplaguicidas seguirá creciendo y, finalmente, podrá convertirse en el componente principal para el control de enfermedades en poscosecha. Estamos definitivamente entrando en la era de la biología y nos estamos alejando de la era de los agroquímicos. En esta nueva era, las soluciones biológicas se utilizarán para resolver problemas de enfermedades y producción en la agricultura. El universo de los microorganismos inexplorados y su uso potencial ofrece un nuevo paradigma, especialmente en lo relativo al uso de consorcios microbianos. La investigación está descubriendo que los límites entre macroorganismos (plantas, animales y seres humanos) y microorganismos son ambiguos y superficialmente comprendidos. La comprensión de cómo estos dos mundos interactúan será el desafío que enfrentan los investigadores en muchos campos, incluyendo aquellos que trabajan en control biológico de enfermedades antes y después de la cosecha. Aunque esto representa grandes desafíos, habrá grandes oportunidades para la actividad comercial en control biológico.

Agradecimientos

Los autores expresan sus agradecimientos a los pares evaluadores por su importante contribución a este capítulo.

Referencias

Abdelfattah, A., Li Destri-Nicosia, M. G., Cacciola, S. O., Droby, S., & Schena, L. (2015). Metabarcoding analysis of fungal diversity in the phyllosphere and carposphere of olive (*Olea europaea*). *Plos One*, *10*(7), 1-19. doi:10.1371/journal.pone.0131069.

Adikaram, N., Karunanayake, C., & Abayasekara, C. (2010). The role of pre-formed antifungal substances in the resistance of fruits to postharvest pathogens. En D. Prusky & M. L. Gullino (Eds.), *Postharvest pathology* (pp. 1-11). Dordrecht, Holanda: Springer.

Andersen, B., Smedsgaard, J., & Frisvad, J. (2004). *Penicillium expansum*: Consistent production of patulin, chaetoglobosins, and other secondary metabolites in culture and their natural occurrence in fruit products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *52*(8), 2421-2428. doi:10.102/jf035406k.

Andrews, J. H., & Harris, R. F. (2000). The ecology and biogeography of microorganisms on plant surfaces. *Annual Review of Phytopathology*, *38*, 145-180. doi:10.1146/annurev.phyto.38.1.145.

Arras, G. (1996). Mode of action of an isolate of *Candida famata* in biological control of *Penicillium digitatum* in orange fruits. *Postharvest Biology and Technology*, *8*(3), 191-198. doi:10.1016/0925-5214(95)00071-2.

Arras, G., De Cicco, V., Arru, S., & Lima, G. (1998). Biocontrol by yeasts of blue mould of citrus fruits and the mode of action of an isolate of *Pichia guilliermondii*. *Journal of Horticultureal Science and Biotechnology*, *73*(3), 413-418. doi:10.1080/14620316.1998.11510993.

Arrebola, E., Jacobs, R., & Korsten, L. (2009). Iturin A is the principal inhibitor in the biocontrol activity of *Bacillus amyloliquefaciens* PPCB004 against postharvest fungal pathogens. *Journal of Applied Microbiology*, *108*(2), 386-395. doi:10.1111/j.1365-2672.2009.04438.x.

Arrebola, E., Sivakumar, D., Bacigalupo, R., & Korsten, L. (2010). Combined application of antagonist *Bacillus amyloliquefaciens* and essential oils for the control of peach postharvest diseases. *Crop Protection*, *29*(4), 369-377. doi:10.1016/j.cropro.2009.08.001.

Barkai-Golan, R. (2001). *Postharvest diseases of fruits and vegetables: development and control*. Amsterdam, Holanda: Elsevier.

Bastiaanse, H., De Lapeyre de Bellaire, L., Lassois, L., Misson, C., & Jijakli, M. H. (2010). Integrated control of crown rot of banana with *Candida oleophila* strain O, calcium chloride and modified atmosphere packaging. *Biological Control*, *53*(1), 100-107. doi:10.1016/j.biocontrol.2009.10.012.

Batta, Y. A. (2007). Control of postharvest diseases of fruit with an invert emulsion formulation of *Trichoderma harzianum* Rifai. *Postharvest Biology and Technology*, *43*(1), 143-150. doi:10.1016/j.postharvbio.2006.07.010.

Begum, M., Hocking, A. D., & Miskelly, D. (2009). Inactivation of food spoilage fungi by ultra violet (UVC) irradiation. *International Journal of Food Microbiology*, *129*(1), 74-77. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2008.11.020.

Bencheqroun, S. K., Bajji, M., Massart, S., Labhilili, M., Jaafari, S. E., & Jijakli M. H. (2007). *In vitro* and *in situ* study of postharvest apple blue mold biocontrol by *Aureobasidium pullulans*: Evidence for the involvement of competition for nutrients. *Postharvest Biology Technology*, *46*(2), 128-135. doi:10.1016/j.postharvbio.2007.05.005.

Bleve, G., Grieco, F., Cozzi, G., Logrieco, A., & Visconti, A. (2006). Isolation of epiphytic yeasts with potential for biocontrol of *Aspergillus carbonarius* and *A. niger* on grape. *International Journal of Food Microbiology*, *108*(2), 204-209. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2005.12.004.

Breinig, F., Tipper, D. J., & Schmitt, M. J. (2002). Kre1p, the plasma membrane receptor for the yeast K1 viral toxin. *Cell*, *108*(3), 395-405. doi:10.1016/S0092-8674(02)00634-7.

Bryk, H. (1999). The study on the infection of apple fruits by *Botrytis cinerea* Pers. after harvest. *Acta Agrobotanica*, *52*(1-2), 19-29.

Bull, C. T., Wadsworth, M. L., Sorensen, K. N., Takemoto, J. Y., Austin, R. K.,... Smilanick, J. L. (1998). Syringomycin E produced by biological control agents controls green mold on lemons. *Biological Control*, *12*(2), 89-95. doi:10.1006/bcon.1998.0622.

Caiazzo, R., Kim, Y., & Xiao, C. L. (2014). Occurrence and Phenotypes of Pyrimethanil Resistance in *Penicillium expansum* from Apple in Washington State. *Plant Disease*, *98*(7), 924-928. doi:10.1094/PDIS-07-13-0721RE.

Calvente, V., Benuzzi, D., & De Tosetti, M. I. S. (1999). Antagonistic action of siderophores from *Rhodotorula glutinis* upon the postharvest pathogen *Penicillium expansum*, *International Biodeterioration and Bioegradation*, *43*(4), 167-172. doi:10.1016/S0964-8305(99)00046-3.

Calvo, J., Calvente, V., De Orellano, M. E., Benuzzi, D., & Sanz de Tosetti M. I. (2003). Improvement in the biocontrol of postharvest diseases of apples with the use of yeast mixtures. *Biocontrol*, *48*(5), 579-593. doi:10.1023/A:1025738811204.

Calvo, J., Calvente, V., de Orellano, M. E., Benuzzi, D., & Sanz de Tosetti, M. (2007). Biological control of postharvest spoilage caused by *Penicillium expansum* and *Botrytis cinerea* in apple by using the bacterium *Rahnella aquatilis*. *International Journal of Food Microbiology*, *113*(3), 251-257. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2006.07.003.

Canamas, T. P., Viñas, I., Usall, J., Torres, R., Anguera, M., & Teixidó, N. (2008). Control of postharvest diseases on citrus fruit by preharvest applications of biocontrol agent *Pantoea agglomerans* CPA-2: Part II. Effectiveness of different cell formulations. *Postharvest Biology and Technology*, *49*(1), 96-106. doi:10.1016/j.postharvbio.2007.12.005.

Cao, S., Zheng, Y., Tang, S., & Wang, K. (2008). Improved control of anthracnose rot in loquat fruit by a combination treatment of *Pichia membranifaciens* with $CaCl_2$. *International Journal of Food Microbiology*, *126*(1-2), 216-220. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2008.05.026.

Capdeville, G., Souza, M. T., Santos, J. R. P., Miranda, S. P., Caetano A. R, & Torres, F. A. G. (2007). Selection and testing of epiphytic yeasts to control anthracnose in post-harvest of papaya fruit. *Scientia Horticulturae*, *111*(2), 179-185. doi:10.1016/j.scienta.2006.10.003.

Carisse, O. (2016). Epidemiology and aerobiology of *Botrytis* spp. En: S. Fillinger & Y. Elad, Y. (Eds.), *Botrytis – the Fungus, the pathogen and its management in agricultural systems* (pp. 127-148). Cham, Suiza: Springer International.

Castoria, R., De Curtis, F., Lima, G., Caputo, L., Pacifico, S., & De Cicco, V. (2001). *Aureobasidium pullulans* (LS-30) an antagonist of postharvest pathogens of fruits: study on its modes of action. *Postharvest Biology and Technology*, *22*(1), 7-17. doi:10.1016/S0925-5214(00)00186-1.

Coates, L. M., & Johnson, G. I. (1997). Postharvest pathology of fruit and vegetables. En J. Brown & H. Ogle, (Eds.), *Plant Pathogens and Plant Diseases* (pp. 533- 547). Armidale, Australia: Rockvale.

Conway, W. S., Sams, C. E., & Hickey, K. D. (2002). Pre- and postharvest calcium treatment of apple fruit and its effect on quality. *Acta Horticulture*, *594*, 413-419. doi:10.17660/ActaHortic.2002.594.53.

Çorbacı, C., & Uçar, F. B. (2017). Production and optimization of killer toxin in *Debaryomyces hansenii* strains. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, *60*, e17160339. doi:10.1590/1678-4324-2017160339.

Chalutz, E., & Wilson, C. (1990). Postharvest biocontrol of green and blue mold and sour rot of citrus fruit by *Debaryomyces hansenii*. *Plant Diseases*, *74*, 134-137. doi:10.1094/PD-74-0134.

Chanchaichaovivat, A., Ruenwongsa, P., & Panijpan, B. (2007). Screening and identification of yeast strains from fruit and vegetables: potential for biological control of postharvest chilli anthracnose (*Colletotrichum capsici*). *Biological Control*, *42*, 326-335. doi:10.1016/j.biocontrol.2007.05.016.

Choudhary, A. K., & Kumari, P. (2010). Management of mycotoxin contamination in preharvest and post harvest crops: present status and future prospects. *Journal of Phytology*, *2*(7), 37-52.

Departamento Nacional de Planeación (DNP). (2016). *Pérdida y desperdicio de alimentos en Colombia, estudio de la dirección de seguimiento y evaluación de políticas públicas*. Bogotá, Colombia: DNP.

Droby, S., Chalutz, E., Wilson, C. L., & Wisniewski, M. E. (1992). Biological control of postharvest diseases: a promising alternative to the use of synthetic fungicides. *Phytoparasitica*, *20*(Supl. 1), S149-S153. doi:10.1007/bf02980427.

Droby, S., Vinokur, V., Weiss, B., Cohen, L., Daus, A., Goldschmidt, E. E., & Porat, R. (2002). Induction of resistance to *Penicillium digitatum* in grapefruit by the yeast biocontrol agent *Candida oleophila*. *Phytopathology*, *92*(4), 393-399. doi:10.1094/PHYTO.2002.92.4.393.

Droby, S., Wisniewski, M., Macarisin, D., & Wilson, C. (2009). Twenty years of postharvest biocontrol research: Is it time for a new paradigm? *Postharvest Biology and Technology*, *52*(2), 137-145. doi:10.1016/j.postharvbio.2008.11.009.

Droby, S., Wisniewski, M., Teixidó, N., Spadaro, D., & Jijakli, M. H. (2016). The science, development, and commercialization of postharvest biocontrol products. *Postharvest Biology and Technology*, *122*, 22-29. doi:10.1016/j.postharvbio.2016.04.006.

Du Plooy, W., Regnier, T., & Combrinck, S. (2009). Essential oil amended coatings as alternatives to synthetic fungicides in citrus postharvest management. *Postharvest Biology and Technology*, *53*(3), 117-122. doi:10.1016/j.postharvbio.2009.04.005.

El-Ghaouth, A., Smilanick, J. L., & Wilson, C. L. (2000). Enhancement of the performance of *Candida saitoana* by the addition of glycolchitosan for the control of postharvest decay of apple and citrus fruit. *Postharvest*

citrus fruit in Morocco. *Communications in agricultural and applied biological sciences*, *69*(4), 601-609.

Larena, I., Torres, R., de Cal, A., Linan, M., Melgarejo, P., Domenichini, P., … Usall, J. (2005). Biological control of postharvest brown rot (*Monilinia* spp.) of peaches by field applications of *Epicoccum nigrum*. *Biological Control*, *32*(2), 305-310. doi:10.1016/j.biocontrol.2004.10.010.

Lassois, L., de Bellaire, L., & Jijakli, M. H. (2008). Biological control of crown rot of bananas with *Pichia anomala* strain K and *Candida oleophila* strain O. *Biological Control*, *45*(3), 410-418. doi:10.1016/j.biocontrol.2008.01.013.

Lavalard, M. (2017). *Agrauxine and Syngenta start a partnership to launch Nexy®*. Recuperado de https://www.agrauxine.com/es/2017/05/12/agrauxine-syngenta-nexy/.

Lima, G., Curtis, F. D., Piedimonte, D., Spina, A. M., & De Cicco, V. (2006). Integration of biocontrol yeast and thiabendazole protects stored apples from fungicide sensitive and resistant isolates of *Botrytis cinerea*. *Postharvest Biology and Technology*, *40*(3), 301-307. doi:10.1016/j.postharvbio.2006.01.017.

Liu, J., Sui, Y., Wisniewski, M., Droby, S., & Liu, Y. (2013). Review: Utilization of antagonistic yeasts to manage postharvest fungal diseases of fruit. *International Journal of Food Microbiology*, *167*(2), 153-160. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2013.09.004.

Long, C. A., Deng, B. X., & Deng, X. (2006). Pilot testing of *Kloeckera apiculata* for the biological control of postharvest diseases of citrus. *Annals of Microbiology*, *56*(1), 13-17. doi:10.1007/BF03174963.

Long, C. A., Deng, B. X., & Deng, X. (2007). Commercial testing of *Kloeckera apiculata*, isolate 34-9, for biological control of postharvest diseases of citrus fruit. *Annals of Microbiology*, *57*(2), 203-207. doi:10.1007/BF03175208.

Magan, N., Medina, A., & Aldred, D. (2011). Possible climate-change effects on mycotoxin contamination of food crops pre- and postharvest. *Plant Pathology*, *60*(1), 150-163. doi:10.1111/j.1365-3059.2010.02412.x.

Mari, M., Neri, F., & Bertolini, P. (2007). Novel approaches to prevent and control postharvest diseases of fruits. *Stewart Postharvest Review*, *3*(6), 4 doi:10.2212/spr.2007.6.4.

Marquina, D., Santos, A., & Peinado, J. (2002). Biology of killer yeasts. *International Microbiology*, *5*(2), 65-71. doi:10.1007/s10123-002-0066-z.

Martins, G., Vallance, J., Mercier, A., Albertin, W., Stamatopoulos, P., Rey, P., … Masneuf-Pomarède, I. (2014). Influence of the farming system on the epiphytic yeasts and yeast-like fungi colonizing grape berries during the ripening process. *International Journal of Food Microbiology*, *177*, 21-28. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2014.02.002.

Mason, D., & Dennis, C. (1978). *Post-harvest spoilage of Scottish raspberries in relation to pre-harvest fungicide sprays*. Londres, Reino Unido: Horticultural Research.

Massart, S., Martinez-Medina, M., & Jijakli, M. H. (2015). Biological control in the microbiome era: Challenges and opportunities. *Biological Control*, *89*, 98-108. doi:10.1016/j.biocontrol.2015.06.003.

Mikani, A., Etebarian, H. R., Sholberg, P. L., Gorman, D. T., Stokes, S., & Alizadeh, A. (2008). Biological control of apple gray mold caused by *Botrytis mali with Pseudomonas fluorescens strains*. *Postharvest Biology and Technology*, *48*(1), 107-112. doi:10.1016/j.postharvbio.2007.09.020.

Montesinos-Herrero, C., del Río, M.Á., Pastor, C., Brunetti, O., & Palou, L. (2009). Evaluation of brief potassium sorbate dips to control postharvest *Penicillium* decay on major citrus species and cultivars. *Postharvest Biology and Technology*, *52*(1), 117-125. doi:10.1016/j.postharvbio.2008.09.012.

Morales, H., Sanchis, V., Usall, J., Ramos, A. J., & Marín, S. (2008). Effect of biocontrol agents *Candida sake* and *Pantoea agglomerans on Penicillium expansum growth* and patulin accumulation in apples. *International Journal of Food Microbiology*, *122*(1-2), 61-67. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2007.11.056.

National Research Council (NRC). (1987). *Management of technology: The hidden competitive advantage*. Washington, EE. UU.: National Research Council, The National Academies Press.

Nunes, C., Teixido, N., Usall, J., & Viñas, I. (2001). Biological control of major postharvest diseases on pear fruit with antagonistic bacteria *Pantoea agglomerans* (CPA-2). *Acta Horticulturae*, *553*, 403-404. doi:10.17660/ActaHortic.2001.553.92.

Nunes, C., Usall, J., Teixidó, N., Fons, E., & Viñas, I. (2002). Postharvest biological control by *Pantoea agglomerans* (CPA-2) on Golden Delicious apples. *Journal Applied Microbiology*, *92*(2), 247-255. doi:10.1046/j.1365-2672.2002.01524.x.

Nunes, C., Usall, J., Teixido, N., Torres, R., & Viñas, I. (2002). Control of *Penicillium expansum and Botrytis cinerea* on apples and pears with a combination of *Candida sake* (CPA-1) and *Pantoea agglomerans*. *Journal of Food Protection*, *65*(1), 178-184.

Nunes, C., Usall, J., Manso, T., Torres, R., Olmo, M., & García, J. M. (2007). Effect of high temperature treatments on growth of *Penicillium* spp. and their development on '*Valencia*' oranges. *Food Science and Technology International*, *13*(1), 63-68. doi:10.1177/1082013207075601.

Nunes, C. A. (2012). Biological control of postharvest diseases of fruit. *European Journal of Plant Pathology*, *133*(1), 181-196. doi:10.1007/s10658-011-9919-7.

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). (2015a). *Iniciativa mundial sobre la reducción de la pérdida y el desperdicio de alimentos*. Recuperado de http://www.fao.org/3/a-i4068s.pdf.

Janisiewicz, W., Yourman, L., Roitman, J., & Mahoney, N. (1991). Postharvest control of blue mould and gray mould of apples and pears by dip treatment with pyrrolnitrin, a metabolite of *Pseudomonas cepacia*. *Plant Disease, 75*(5), 490-494. doi:10.1094/PD-75-0490.

Janisiewicz, W. J., & Conway, W. S. (2010). Combining biological control with physical and chemical treatments to control fruit decay after harvest. *Stewart Postharvest Review 6*(1), article 3. doi.10.2212/spr.2010.1.3.

Janisiewicz, W. J., & Korsten, L. (2002). Biological control of postharvest diseases of fruits. *Annual Review of Phytopathology, 40*, 411-441. doi:10.1146/annurev.phyto.40.120401.130158.

Janisiewicz, W. J., Bastos Pereira, I., Almeida, M. S., Roberts, D. P., Wisniewski, M., & Kurtenbach, E. (2008). Improved biocontrol of fruit decay fungi with *Pichia pastoris* recombinant strains expressing *Ps*d1 antifungal peptide. *Postharvest Biology and Technology, 47*(2), 218-225. doi:10.1016/j.postharvbio.2007.06.010.

Jarvis, W. R. (1991). Latent infections in the pre- and postharvest environment. *HortScience, 26*(6), 801.

Jijakli, M., Lepoivre, P., Tossut, P., & Thonard, P. (1993). Biological control of *Botrytis cinerea* and *Penicillium* sp. on post-harvest apples by two antagonistic yeasts. *Mededelingen van de Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen (Rijksuniversiteit te Gent), 58*(3b), 1349-1358.

Jijakli, M.H., Lepoivre, P., & Grevesse, C. (1999). Yeast species for biocontrol of apple postharvest diseases: An encouraging case of study for practical use. En K. G. Mukerji, B. P. Chamola, & R. K. Upadhyay (Eds.), *Biotechnological approaches in biocontrol of plant pathogens* (pp. 31-49). Boston, EE. UU.: Springer.

Helbig, J. (2002). Ability of the antagonistic yeast *Cryptococcus albidus* to control *Botrytis cinerea* in strawberry. *Biocontrol, 47*(1), 85-99. doi:10.1023/A:1014466903941.

Karabulut, O. A., & Baykal, N. (2003). Biological control of postharvest diseases of peaches and nectarines by yeasts. *Journal of Phytopathology, 151*(3), 130-134. doi:10.1046/j.1439-0434.2003.00690.x.

Karabulut, O. A., & Baykal, N. (2004). Integrated control of postharvest diseases of peaches with a yeast antagonist, hot water and modified atmosphere packaging. *Crop Protection, 23*(5), 431-435. doi:10.1016/j.cropro.2003.09.012.

Karabulut, O. A., Arslan, U., Kadir, I., & Gul, K. (2005). Integrated control of post harvest diseases of sweet cherry with yeast antagonist and sodium bicarbonate applications within a hydrocooler. *Postharvest Biology and Technology, 37*(2), 135-141. doi:10.1016/j.postharvbio.2005.03.003.

Kecskemeti, E., Berkelmann-Lohnertz, B., & Reineke, A. (2016). Are epiphytic microbial communities in the carposphere of ripening grape clusters (*Vitis vinifera* l.) different between conventional, organic, and biodynamic grapes? *PLoS One, 11*, e0160852. doi:10.1371/journal.pone.0160852.

Kefialew, Y., & Ayalew, A. (2008). Postharvest biological control of anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) on mango (*Mangifera indica*). *Postharvest Biology and Technology, 50*(1), 8-11. doi:10.1016/j.postharvbio.2008.03.007.

Kim, Y. K., Saito, S., & Xiao, C. L. (2015). Occurrence of Fludioxonil resistance in *Penicillium digitatum* from citrus in california. *Plant Diseases, 99*(10), 1447. doi:10.1094/PDIS-02-15-0226-PDN.

Kinay, P., & Yildiz, M. (2008). The shelf life and effectiveness of granular formulations of *Metschnikowia pulcherrima* and *Pichia guilliermondii* yeast isolates that control postharvest decay of citrus fruit. *Biological Control, 45*(3), 433-440. doi:10.1016/j.biocontrol.2008.03.001.

Koomen, I., & Jeffrics, P. (1993). Effects of antagonistic microorganisms on the postharvest development of *Colletotrichum gloeosporioides* on mango. *Plant Pathology, 42*(2), 230-237. doi:10.1111/j.1365-3059.1993.tb01495.x.

Kota, V. R., Kulkarni, S., & Hegde, Y. R. (2006). Postharvest diseases of mango and their biological management. *Journal of Plant Disease Science, 1*(2), 186-188.

Krishnamurthy, S., & Kushalappa, C. G. (1985). Studies on the shelf life and quality of Robusta bananas as affected by post-harvest treatments. *Journal of Horticultural Science, 60*(4), 549-556. doi: 10.1080/14620316.1985.11515663.

Lacroix, C. (2010). *Protective cultures, antimicrobial metabolites and bacteriophages for food and beverage biopreservation*. Cambridge, Inglaterra: Elsevier.

Lahlali, R., Raffaele, B., & Jijakli, M. H. (2011). UV protectants for *Candida oleophila* (strain O), a biocontrol agent of postharvest fruit diseases. *Plant Pathology, 60*(2), 288-295. doi:10.1111/j.1365-3059.2010.02368.x.

Lahlali, R., Serrhini, M. N., & Jijakli, M. H. (2004). Efficacy assessment of *Candida oleophila* (strain O) and *Pichia anomala* (strain K) against major postharvest diseases of citrus fruits in Morocco. *Communations in Agriculture Applied Biological Sciences, 69*(4), 601-609.

Lahlali, R., Serrhini, M. N., & Jijakli, M. H. (2005a). Development of a biological control method against postharvest diseases of citrus fruits. *Communications in Agriculture Applied Biological Sciences, 70*(3), 47-58.

Lahlali, R., Serrhini, M. N., & Jijakli, M. H. (2005b). Studying and modelling the combined effect of temperature and water activity on the growth rate of *P. expansum*. International Journal of Food Microbiology, *103*(3), 315-322. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2005.02.002.

Lahlali, R., Serrhini, M. N., & Jijakli, M. H. (2004). Efficacy assessment of *Candida oleophila* (strain O) and *Pichia anomala* (strain K) against major postharvest diseases of

Biology and Technology, *19*(1), 103-110. doi:10.1016/S0925-5214(00)00076-4.

El-Ghaouth, A., & Wilson, C. (2002). Patente EUA 6419922B1. *Candida saitoana compositions for biocontrol of plant postharvest decay*. Washington, EE. UU.: Oficina de Patentes y Marcas de EUA.

El-Ghaouth, A., Wilson, C., & Wisniewski, M. (2003). Control of postharvest decay of apple fruit with *Candida saitoana* and induction of defense responses. *Phytopathology*, *93*(3), 344-348. doi:10.1094/PHYTO.2003.93.3.344.

El-Ghaouth, A., Wilson, C., & Wisniewski, M. (2004). Biologically-based alternatives to synthetic fungicides for the control of postharvest diseases of fruit and vegetables. En S. A. M. H. Naqvi (Ed.), *Diseases of fruit and vegetables* (pp. 511-535). Dordrecht, Holanda: Springer.

El-Ghaouth, A., Wilson, C. L., & Wisniewski, M. (1998). Ultrastructural and cytochemical aspects of the biological Control of *Botrytis cinerea* by *Candida saitoana* in apple fruit. *Phytopathology*, *88*(4), 282-291. doi:10.1094/PHYTO.1998.88.4.282.

El-Neshawy, S. M., & Wilson, C. L. (1997). Nisin enhancement of biocontrol of postharvest diseases of apple with *Candida oleophila*. *Postharvest Biology and Technology*, *10*(1), 9-14. doi:10.1016/S0925-5214(96)00053-1.

Environmental Protection Agency (EPA). (2016). *What are Biopesticides?* Recuperado de https://www.epa.gov/ingredients-used-pesticide-products/what-are-biopesticides.

Faisal, M., Prema, R., Nagendran, K., Karthikeyan, G., Raguchander, T., & Prabakar, K. (2013). Development and evaluation of water in oil based emulsion formulation of *Pseudomonas fluorescens* (FP7) against *Colletotrichum musae* incitant of anthracnose disease in banana. *Euroepan Journal of Plant Pathology*, *138*(1), 167-180. doi:10.1007/s10658-013-0320-6.

Fan, Q., & Tian, S. P. (2001). Postharvest biological control of grey mold and blue mold on apple by *Cryptococcus albidus* (Saito) Skinner. *Postharvest Biology and Technology*, *21*(3), 341-350. doi:10.1016/S0925-5214(00)00182-4.

Filonow, A. B. (2001). Butyl acetate and yeasts interact in adhesion and germination of *Botrytis cinerea* conidia *in vitro* and in fungal decay of golden delicious apple. *Journal of Chemical Ecology*, *27*(4), 831-844. doi:10.1023/A:1010314305461.

Fourie, J. F., & Holz, G. (1998). Effects of fruit and pollen exudates on growth of *Botrytis cinerea* and infection of plum and nectarine fruit. *Plant Disease*, *82*(2), 165-170. doi:10.1094/PDIS.1998.82.2.165.

Fuentes, O. E, García, P. G, & Cotes, A. M. (2002). Evaluation of potential agents for postharvest biocontrol of *Alternaria alternata* in tomato. *Bulletin OILB/SROP*, *25*(10), 403-406.

Gamagae, S. U., Sivakumar, D., Wilson Wijeratnam, R. S., & Wijesundra R. L. C. (2003). Use of sodium bicarbonate and *Candida oleophila* to control anthracnose in papaya during storage. *Crop Protection*, *22*(5), 775-779. doi:10.1016/S0261-2194(03)00046-2.

García, G., & Cotes, A. M. (2001). Searching alternatives for biological control of *Rhizopus stolonifer* in tomato postharvest. *Fitopatología colombiana*, *25*, 39-47.

García G., Jiménez, Y., Neisa, A., & Cotes, A. M. (2001). Selection of native yeasts for biological control of post-harvest rots caused by *Botrytis allii* in onion and *Rhizopus stolonifer* in tomato. *Bulletin OILB/SROP*, *24*(3), 181-184.

Gomes, A., Queiroz, M., & Pereira, O. (2015). Mycofumigation for the biological control of postharvest diseases in fruits and vegetables: A review.Bioengineering. *Austin Journal of Biotechnology & Bioengineering*, *2*(4), 1051.

Govender, V., Korsten, L., & Sivakumar, D. (2005). Semi-commercial evaluation of *Bacillus licheniformis* to control mango postharvest diseases in South Africa. *Postharvest Biology and Technology*, *38*(1), 57-65. doi:10.1016/j.postharvbio.2005.04.005.

Grevesse, C., Jijakli, H., Duterme, O., Colinet, D., & Lepoivre, P. (1998). Preliminary study of exo-b-1, 3-Glucanase encoding genes in relation to the protective activity of *Pichia anomala* (strain K) against *Botrytis cinerea* on postharvest apples. *Bulletin OILB/SROP = IOBC/WPRS Bulletin*, *21*(9), 81-89.

Gueldner, R. C., Reilly, C. C., Pusey, P. L., Costello, C. E., Arrendale, R. F., Cox, R. H., Himmelsbach, D. S., et al. (1988). Isolation and identification of iturins as antifungal peptides in biological control of peach brown rot with *Bacillus subtilis*. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, *36*(2), 366-370. doi:10.1021/jf00080a031.

Guijarro, B., Melgarejo, P., Torres, R., Lamarca, N., Usall, J., & De Cal, A. (2007). Effects of different biological formulations of *Penicillium frequentans* on brown rot of peaches. *Biological Control*, *42*(1), 86-96. doi:10.1016/j.biocontrol.2007.03.014.

Ippolito, A., El-Ghaouth, A., Wilson, C. L., & Wisniewski, M. (2000). Control of postharvest decay of apple fruit by *Aureobasidium pullulans* and induction of defense responses. *Postharvest Biology and Technology*, *19*(3), 265-272. doi:10.1016/S0925-5214(00)00104-6.

Ippolito, A., & Nigro, F. (2000). Impact of preharvest application of biological control agents on postharvest diseases of fresh fruits and vegetables. *Crop Protection*, *19*(8), 715-723. doi:10.1016/S0261-2194(00)00095-8.

Janisiewicz, W. J. (1987). Postharvest biological control of blue mold on apple. *Phytopathology*, *77*, 481-485.

Janisiewicz, W., & Roitman, J. (1988). Biological control of blue mold and gray mold on apple and pear with *Pseudomonas cepacia*. *Phytopathology*, *78*(12), 1697-1700.

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). (2015b). *Pérdidas y desperdicios de alimentos en América Latina y el Caribe*. Recuperado de http://www.fao.org/3/a-i5504s.pdf.

Palou, L. (2011). Control integrado no contaminante de enfermedades de poscosecha (CINCEP): nuevo paradigma para el sector español de los cítricos. *Levante Agrícola*, (406), 173-183.

Palou, L., Smilanick, J., & Droby, S. (2008). Alternatives to conventional fungicides for the control of citrus postharvest green and blue molds. *Stewart Postharvest Review*, *4*(2), 1-16.

Park, M. H., & Kim, J. G. (2015). Low-dose UV-C irradiation reduces the microbial population and preserves antioxidant levels in peeled garlic (*Allium sativum* L.) during storage. *Postharvest Biology and Technology*, *100*, 109-112. doi:10.1016/j.postharvbio.2014.09.013.

Perez, M. F., Contreras, L., Garnica, N. M., Fernández-Zenoff, M. V., Farías, M. E., Sepulveda, M., … Dib, J. R. (2016). Native killer yeasts as biocontrol agents of postharvest fungal diseases in lemons. *PLoS ONE*, *11*(10), e0165590. doi:10.1371/journal.pone.0165590.

Prusky, D., Alkan, N., Mengiste, T., & Fluhr, R. (2013). Quiescent and necrotrophic lifestyle choice during postharvest disease development. *Annual Review of Phytopathology*, *51*, 155-176. doi:10.1146/annurev-phyto-082712-102349.

Pusey, P. L. (1989). Use of *Bacillus subtilis* and related organisms as biofungicides. *Pesticide Science*, *27*(2), 133-140. doi:10.1002/ps.2780270204.

Pusey, P. L., & Wilson, C. L. (1984). Postharvest biological control of stone fruit brown rot by *Bacillus subtilis*. *Plant Diseases*, *68*(9), 753-756. doi:10.1094/PD-69-753.

Qin, G. Z., & Tian, S. P. (2004). Biocontrol of postharvest diseases of jujube fruit by *Cryptococcus laurentii* combined with a low doses of fungicides under different storage conditions. *Plant Disease*, *88*(5), 497-501.

Ray, R. C., Swain, M. R., Panda, S. H., & Lata. (2011). Microbial control of postharvest diseases of fruits, vegetables, roots, and tubers. En A. Singh, N. Parmar, & R. C. Kuhad (Eds.), *Bioaugmentation, Biostimulation and Biocontrol* (pp. 311-355). Berlín, Alemania: Springer. doi:10.1007/978-3-642-19769-7_13.

Saravanakumar, D., Spadaro, D., Garibaldi, A., & Gullino, M. L. (2009). Detection of enzymatic activity and partial sequence of a chitinase gene in *Metschnikowia pulcherrima* strain MACH1 used as post-harvest biocontrol agent. *European Journal of Plant Pathology*, *123*(2), 183-193. doi:10.1007/s10658-008-9355-5.

Schena, L., Nigro, F., Pentimone, I., Ligorio, A., & Ippolito, A. (2003). Control of postharvest rots of sweet cherries and table grapes with endophytic isolates of *Aureobasidium pullulans*. *Postharvest Biology Technology*, *30*(3), 209-220. doi:10.1016/S0925-5214(03)00111-X.

Seethapathy, P., Gurudevan, T., Subramanian, K. S., & Kuppusamy, P. (2016). Bacterial antagonists and hexanal-induced systemic resistance of mango fruits against Lasiodiplodia theobromae causing stem-end rot. *Journal of Plant Interactions*, *11*(1), 158-166. doi:10.1080/17429145.2016.1252068.

Selitrennikoff, C. P. (2001). Antifungal Proteins. *Applied Environmental Microbiology*, *67*(7), 2883-2894. doi:10.1128/aem.67.7.2883-2894.2001.

Sharma, R. R., Singh, D., & Singh, R. (2009). Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables by microbial antagonists: A review. *Biological Control*, *50*(3), 205-221. doi:10.1016/j.biocontrol.2009.05.001.

Sivakumar, D., Wilson Wijeratnam R. S., Marikar, F. M. M. T., Abeyesekere M., & Wijesundera R. L. C. (2001). Antagonistic effect of *Trichoderma harzianum* on post harvest pathogens of rambutans. *Acta Horticulturae*, *553*, 389-392. doi:10.17660/ActaHortic.2001.553.88.

Sivakumar, D., Wilson Wijeratnam, R. S., Abeyesekere, M., & Wijesundera R. L. C. (2002). Combined effect of generally regarded as safe (GRAS) compounds and *Trichoderma harzianum* on the control of postharvest diseases of rambutan. *Phytoparasitica*, *30*(1), 43-51. doi:10.1007/BF02983969.

Sivakumar, D, Wilson Wijeratnam, R. S., Wijesundera, R. L. C., Marikar, F. M. T., & Abeyesekere, M. (2000). Antagonistic effect of *Trichoderma harzianum* on postharvest pathogens of rambutan (*Nephelium lappaceum*). *Phytoparasitica*, *28*(3), 240-247. doi:10.1007/BF02981802.

Smilanick, J. L., & Denis-Arrue, R. (1992). Control of green mold of lemons with *Pseudomonas* species. *Plant Disease*, *76*(5), 481-485. doi:10.1094/PD-76-0481.

Spadaro, D., & Droby, S. (2016). Development of biocontrol products for postharvest diseases of fruit: The importance of elucidating the mechanisms of action of yeast antagonists. *Trends in Food Science & Technology*, *47*, 39-49. doi:10.1016/j.tifs.2015.11.003.

Spadaro, D., Vola, R., Piano, S., & Gullino, M. L. (2002). Mechanisms of action and efficacy of four isolates of the yeast *Metschnikowia pulcherrima* active against postharvest pathogens on apples. *Postharvest Biology and Technology*, *24*(2), 123-134. doi:10.1016/S0925-5214(01)00172-7.

Spadaro, D., & Gullino, M. L. (2004). State of the art and future prospects of the biological control of postharvest fruit diseases. *International Journal of Food Microbiology*, *91*(2), 185-194. doi:10.1016/s0168-1605(03)00380-5.

Spadaro, D., Garibaldi, A., & Gullino, M. L. (2004). Control of *Penicillium expansum* and *Botrytis cinerea* on apple combining a biocontrol agent with hot water dipping and acibenzolar-S-methyl, baking soda, or ethanol

application. *Postharvest Biology and Technology*, *33*(2), 141-151. doi:10.1016/j.postharvbio.2004.02.002.

Syamaladevi, R. M., Lupien, S. L., Bhunia, K., Sablani, S. S., Dugan, F., Rasco, B., Killinger, et al. (2014). UV-C light inactivation kinetics of *Penicillium expansum* on pear surfaces: Influence on physicochemical and sensory quality during storage. *Postharvest Biology and Technology*, *87*, 27-32. doi:10.1016/j.postharvbio.2013.08.005.

Takesako, K., Ikai, K., Haruna, F., Endo, M., Shimanaka, K., Sono, E., Nakamura, T., et al. (1991). Aureobasidins, new antifungal antibiotics. Taxonomy, fermentation, isolation, and properties. *The Journal of Antibiotics (Tokyo)*, *44*(9), 919-924. doi:10.7164/antibiotics.44.919.

Terao, D., De Carvalho Campos, J. S., Benato, E. A., & Hashimoto, J. M. (2015). Alternative strategy on control of postharvest diseases of mango (*Mangifera indica* L.) by use of low dose of ultraviolet-c irradiation. *Food Engineering Reviews*, *7*(2), 171-175. doi:10.1007/s12393-014-9089-4.

Tian, S., Fan, Q, Xu, Y, & Liu H. (2002). Biocontrol efficacy of antagonist yeasts to gray mold and blue mold on apples and pears in controlled atmospheres. *Plant Disease*, *86*(8), 848-853. doi:10.1094/PDIS.2002.86.8.848.

Tian, S., Qin, G., & Xu, Y. (2005). Synergistic effects of combining biocontrol agents with silicon against postharvest diseases of jujube fruit. *Journal of Food Protection*, *68*(3), 544-550.

Torres, R., Teixidó, N., Viñas, I., Mari, M., Casalini, L., Giraud, M., & Usall J. (2006). Efficacy of *andida sake* CPA-1 formulation for controlling *Penicillium expansum* decay on pome fruit from different Mediterranean regions. *Journal of Food Protection*, *69*(11), 2703-2711. doi:10.4315/0362-028X-69.11.2703.

Tronsmo, A., & Dennis, C. (1977). The use of Trichoderma species to control strawberry fruit rots. *Netherlands journal of plant pathology*, *83*(Supl. 1), 449. doi:10.1007/bf03041462.

Usall, J., Teixido, N., Torres, R., Ochoa de Eribe, X., & Viñas I. (2001). Pilot tests of *Candida sake* (CPA-1) applications to control postharvest blue mold on apple fruit. *Postharvest Biology and Technology*, *21*(2), 147-156. doi:10.1016/S0925-5214(00)00131-9.

Valencia-Chamorro, S. A., Palou, L., Del Rio, M. A., & Perez-Gago, M. B., (2011). Antimicrobial edible films and coatings for fresh and minimally processed fruits and vegetables: a review. *Critical Review in Food Science and Nutrition*, *51*(9), 872-900. doi:10.1080/10408398.2010.485705.

Wang, X., Li, G., Jiang, D., & Huang, H. C. (2009). Screening of plant epiphytic yeasts for biocontrol of bacterial fruit blotch (*Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*) of hami melon. *Biological Control*, *50*(2), 164-171. doi:10.1016/j.biocontrol.2009.03.009.

Weir, B. S., Johnston, P. R., & Damm, U. (2012). The *Colletotrichum gloeosporioides* species complex. *Studies in Mycology*, *73*(1), 115-180. doi:10.3114/sim0011.

Wilson, C. L., & El-Ghaouth, A. (2002). Patent EUA 6423310. Biological coating with a protective and curative effect for the control of postharvest decay. Washington, EE. UU.: Oficina de Patentes y Marcas de EUA.

Wilson, C. L., & Pusey, P. (1985). Potential for biological control of postharvest plant diseases. *Plant Diseases*, *69*(5), 375-378. doi:10.1094/PD-69-375.

Wilson, C. L., & Wisniewski, M. E. (1989). Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables: An emerging technology. *Annual Review of Phytopathology*, *27*, 425-441. doi:10.1146/annurev.py.27.090189.002233.

Wilson, C. L., & Wisniewski, M. E. (1994). *Biological control of postharvest diseases: theory and practice*. Madison, EE. UU.: CRC Press.

Wilson, C. L. Wisniewski, M. E., Droby, S., & Chalutz, E. (1993). A selection strategy for microbial antagonists to control postharvest diseases of fruits and vegetables. *Scientia Horticulturae*, *53*(3), 183-189. doi:10.1016/0304-4238(93)90066-Y.

Wisniewski, M., Biles, C., Droby, S., McLaughlin, R., Wilson, C., & Chalutz, E. (1991). Mode of action of

the postharvest biocontrol yeast, *Pichia guilliermondii*. I. Characterization of attachment to *Botrytis cinerea*. *Physiological and Molecular Plant Pathology, 39*(4), 245-258. doi:10.1016/0885-5765(91)90033-E.

Wisniewski, M., Droby, S., Norelli, J., Liu, J., & Schena, L. (2016). Alternative management technologies for postharvest disease control: The journey from simplicity to complexity. *Postharvest Biology and Technology, 122*, 3-10. doi:10.1016/j.postharvbio.2016.05.012.

Wisniewski, M., Wilson, C., Droby, S., Chalutz, E., El-Ghaouth, A., & Stevens, C. (2007). Postharvest biocontrol: new concepts and applications. En C. Vincent, M. S. Goettel, & L. George (Eds.), *Biological control: a global perspective: case studies from around the world* (p. 262-273). Boca Ratón, EE. UU.: CAB International.

Wisniewski, M., Wilson, C., & Hershberger, W., (1989). Characterization of inhibition of *Rhizopus stolonifer* germination and growth by *Enterobacter cloacae*. *Canadian Journal of Botany, 67*(8), 2317-2323. doi:10.1139/b89-296.

Wu, F., & Khlangwiset, P. (2010). Health economic impacts and cost-effectiveness of aflatoxin-reduction strategies in Africa: case studies in biocontrol and post-harvest interventions. *Food additives and contaminants Part A, 27*(4), 496-509. doi:10.1080/19440040903437865.

Yang, D. M., Bi, Y., Chen, X. R, Ge, Y. H, & Zhao, J. (2006). Biological control of postharvest diseases with *Bacillus subtilis* (B1 strain) on muskmelons (*Cucumis melo* L. cv. Yindi). *Acta Horticulturae, 712*, 735-740. doi:10.17660/ActaHortic.2006.712.94.

Yao, H. J., & Tian, S. P. (2005). Effects of a biocontrol agent and methyl jasmonate on postharvest diseases of peach fruit and the possible mechanisms involved. *Journal of Applied Microbiology, 98*(4), 941-950. doi:10.1111/j.1365-2672.2004.02531.x.

Zhang, H., Zheng, X., Fu, C., & Xi, Y. (2003). Biological control of blue mold rot of pear by *Cryptococcus laurentii*. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 78*(6), 888-893. doi:10.1080/14620316.2003.11511714.

Zhang, H., Zheng, X., Fu, C., & Xi, Y. (2005). Postharvest biological control of gray mold rot of pear with *Cryptococcus laurentii*. *Postharvest Biology and Technology, 35*(1), 79-86. doi:10.1016/j.postharvbio.2004.03.011.

Zhang, H., Wang, L., Dong, Y., Jiang, S., Cao, J., & Meng, R. (2007). Postharvest biological control of gray mold decay of strawberry with *Rhodotorula glutinis*. *Biological Control, 40*(2), 287-292. doi:10.1016/j.biocontrol.2006.10.008.

Zhang, H., Zheng, X., Wang, L., Li, S., & Liu, R. (2007). Effect of antagonist in combination with hot water dips on postharvest *Rhizopus* rot of strawberries. *Journal of Food Engineering, 78*(1), 281-287. doi:10.1016/j.jfoodeng.2005.09.027.

Zhang, H., Zheng, X., & Yu, T. (2007). Biological control of postharvest diseases of peach with *Cryptococcus laurentii*. *Food Control, 18*(4), 287-291. doi:10.1016/j.foodcont.2005.10.007.

Zhang H, Ma, L., Wang, L., Jiang, S., Dong, Y., & Zheng X. (2008) Biocontrol of gray mold decay in peach fruit by integration of antagonistic yeast with salicylic acid and their effects on postharvest quality parameters. *Biological Control, 47*(1), 60-65. doi:10.1016/j.biocontrol.2008.06.012.

Zhang, H., Wang, L., Ma, L., Dong, Y., Jiang, S., Xu, B., & Zheng, X. (2009). Biocontrol of major postharvest pathogens on apple using *Rhodotorula glutinis* and its effects on postharvest quality parameters. *Biological Control, 48*(1), 79-83. doi:10.1016/j.biocontrol.2008.09.004.

Zhao, Y., Shao, X. F, Tu, K., & Chen, J. K. (2007). Inhibitory effect of *Bacillus subtilis* B10 on the diseases of postharvest strawberry. *International Journal of Fruit Science*, *24*(3), 339-343.

Zhou, T., Northover, J., & Schneider, K. E. (1999). Biological control of postharvest diseases of peach with phyllosphere isolates of *Pseudomonas syringae*. *Canadian Journal of Plant Pathology, 21*(4), 375-381. doi:10.1080/07060669909501174.

Capítulo 4

Estudios del microbioma y su aplicación en el control biológico de fitopatógenos

Chapter 4

Microbiome studies in the biological control of plant pathogens

Alejandro Caro-Quintero,[1] Carolina González,[1]
Alicia Balbín-Suárez,[2] Michael Wisniewski,[3] Gabriele Berg,[4]
Kornelia Smalla,[2] Alba Marina Cotes[1]

[1] Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA)

[2] Julius Kühn-Institut (JKI), Federal Research Institute for Cultivated Plants

[3] U. S. Department of Agriculture - Agricultural Research Service (USDA-ARS)

[4] Institute for Environmental Biotechnology, Graz University of Technology

Contenido

Introducción 260

Contexto histórico: del microbioma humano al microbioma de plantas y su aplicación en la agricultura 261

¿Por qué estudiar el microbioma? 264

- Los fitobiomas, una nueva alternativa para la agricultura 265
- Especificidad del microbioma en los distintos tejidos 265
- El microbioma en el control biológico 267
- ¿Qué son los fitobiomas? 268
- ¿Qué se conoce de los fitobiomas? 270
- ¿Cómo es la comunicación en el fitobioma? 270

Estudios de caso 271

- La composición espacial de la comunidad fúngica asociada a la manzana: una herramienta para el diseño de nuevas estrategias de control de enfermedades 271
- Biocontroladores vs. patógenos humanos y vegetales en estudios del microbioma 274
- El complejo biocontrol de *Ralstonia solanacearum*, patógeno de solanáceas 276
- Suelos supresivos como una fuente de microorganismos para el control de *Fusarium oxysporum* en uchuva 281

Conclusiones y perspectivas 284

Agradecimientos 285

Referencias 286

Resumen

A pesar de que el control biológico de fitopatógenos ha sido una alternativa exitosa que ha permitido seleccionar microorganismos para la generación de bioproductos y entender múltiples mecanismos biológicos, ya no puede considerarse como una estrategia definida solamente a partir de la selección de una gama de microorganismos cultivables ni entenderse como una serie de interacciones en una sola dirección: planta-patógeno o planta-patógeno-agente controlador. Gracias al desarrollo de tecnologías de secuenciación masiva y de las ciencias ómicas, se ha logrado tener en cuenta el resto de la comunidad microbiana (hoy llamada *microbioma*), mediante el estudio independiente del cultivo de las comunidades establecidas en los distintos tejidos, sus genes y sus interacciones. A partir del conocimiento del microbioma de las plantas se han logrado identificar los microorganismos que están presentes en los diferentes tejidos, cuáles son sus posibles funciones, cómo expresan estas funciones frente a distintas condiciones ambientales y cuál es su posible rol en la salud de las plantas, la salud humana y la producción agrícola. Con base en esto, y dada la relevancia actual del microbioma, en este capítulo se repasa brevemente su estudio, desde sus orígenes hasta su aplicación en el control biológico de patógenos de plantas y en el desarrollo de nuevas estrategias de manejo de enfermedades limitantes en cultivos de importancia económica.

Palabras clave

Control biológico, fitobioma, microbioma, supresividad

Abstract

Biological control of plant pathogens, although it has been a successful alternative that has allowed to select microorganisms for the generation of bioproducts and to understand multiple biological mechanisms, cannot be considered as a strategy defined only from the selection of a range of cultivable microorganisms, nor understood from interactions in a single direction: plant-pathogen or plant-pathogen-control agent. Thanks to the development of mass sequencing technologies and the omics sciences, it has been possible to take into account the rest of the microbial community from the study of the independent culture of the established communities in different tissues, their genes and their interactions, today known as microbiome. The knowledge of the microbiome of plants has been able to elucidate which microorganisms are present in the different tissues, what are their possible functions, how they express these functions against different environmental conditions and what their possible role in plant health, human health and agricultural production. Based on this context and given the current relevance of the microbiome, in this chapter we will highlight the importance of studying the microbiome from its origins, to its application both in the biological control of plant pathogens, and in the development of new management strategies.

Keywords

Biocontrol, microbiome, phytobiome, suppressiveness

Introducción

Los microorganismos son fundamentales para la vida en la Tierra, pero poco conocemos sobre su función ecológica (Gilbert et al., 2010; Turnbaugh et al., 2007). Una evidencia molecular sugiere que las asociaciones entre hongos formadores de micorrizas arbusculares y algas verdes fueron fundamentales para la evolución de las plantas: los análisis de secuencias de proteínas indican que las algas verdes y los principales linajes de hongos estaban presentes hace 1.000 millones de años, mientras que las plantas terrestres aparecieron hace 700 millones. Esto probablemente afectó la atmósfera del planeta y, en consecuencia, el clima y la evolución de los animales en el Precámbrico (Heckman et al., 2001).

La importancia de las comunidades microbianas para las plantas fue demostrada en 1904, cuando Lorenz Hiltner definió el término rizosfera y desarrolló sus investigaciones sobre el crecimiento vegetal y la protección contra patógenos, con la hipótesis de que la resistencia de las plantas a los patógenos dependía de la composición de la microflora presente en la rizosfera (Hartmann, Rothballer, & Schmid, 2008). Así mismo, se ha determinado el rol de los microorganismos asociados a las plantas como actores fundamentales de los ciclos biogeoquímicos globales (Philippot, Hallin, Börjesson, & Baggs, 2009).

Las plantas presentan una gran diversidad de microorganismos asociados, tanto en su superficie (ectosfera) como en su interior (endosfera). Muchos de estos microorganismos son realmente benéficos y determinan el desarrollo y el estado fisiológico de estas, ya que mejoran la captura de nutrientes y aumentan su disponibilidad, producen compuestos que estimulan el crecimiento de las plantas (hormonas, aminoácidos y vitaminas), promueven la biodiversidad, activan los mecanismos de defensa contra fitopatógenos —vía *quorum sensing* (AHLs) o vía resistencia sistémica inducida (ISR)— y les confieren resistencia a las plantas frente al estrés biótico y abiótico (Berg & Smalla, 2009; Bulgarelli, Schlaeppi, Spaepen, Ver Loren van Themaat, & Schulze-Lefert, 2013; De Carvalho et al., 2016; Lugtenberg & Kamilova, 2009; Mendes et al., 2015; Vandenkoornhuyse, Quaiser, Duhamel, Le Van, & Dufresne, 2015).

De este modo, las plantas y su microbiota asociada pueden ser consideradas como una sola entidad, es decir, como un *holobionte*, término acuñado por Lynn Margulis en 1991 (Mann, 1991), e incluso referido por Charles Darwin en su libro *The Variation of Plants Yand Animals Under Domestication* (1868, p. 204) (Darwin, 2010). Los holobiontes son entidades compuestas por el hospedero y por todos sus microorganismos simbióticos, entre ellos, a) los que afectan el fenotipo del holobionte y han coevolucionado con el hospedero, b) los que afectan el fenotipo del holobionte, pero no han coevolucionado con el hospedero y c) aquellos que no afectan en absoluto el fenotipo del holobionte (Theis et al., 2016).

Los microorganismos del ambiente no forman parte del holobionte y son analizables metagenómicamente. Los microorganismos se pueden transmitir horizontal o verticalmente y pueden ser residentes permanentes o solo visitantes del hospedero. Por esta razón, los fenotipos del holobionte pueden cambiar en el tiempo y en el espacio en la medida en que los microorganismos entren y salgan de este. En consecuencia, la aptitud de la planta no debe ser definida solamente por ella en cuanto individuo, sino también por la microbiota que la acompaña (Vandenkoornhuyse et al., 2015).

Dada la complejidad de esta simbiosis no solo se ha ampliado la definición de holobionte, sino que, a su vez, se han creado terminologías que constituyen un vocabulario y un marco más amplio para referirse a la biología del hospedero a la luz del microbioma. Un ejemplo de ello es el término *hologenoma*, que hace referencia a los genomas del huésped y a los de todos sus microorganismos en cualquier momento dado, con sus genomas y genes individuales que ejercen las mismas tres formas de interacción hospedero-simbionte mencionadas anteriormente (Theis et al., 2016).

En el pasado, el estudio de las comunidades microbianas dependió del aislamiento y cultivo de los microorganismos allí presentes, forma en la

cual se definió su función y estructura filogenética. Recientemente, solo gracias a los avances en metagenómica, ha empezado a ser estudiado el rol de la comunidad microbiana total (microorganismos cultivables y no cultivables) y sus interacciones. *Microbioma* significa pequeño bioma o ecosistema que comprende todos los microorganismos presentes en un medio determinado, sus genes y las interacciones medioambientales.

Si consideramos que cada planta se puede dividir en diferentes microambientes, por ejemplo, la rizosfera (raíz), la filosfera (hoja), la antosfera (flor), la espermosfera (semillas) y la carposfera (fruta), y que dentro de estos se pueden diferenciar los tejidos internos y la superficie exterior, habría muchos microambientes inexplorados. Todos estos proporcionan las condiciones bióticas y abióticas específicas para la vida microbiana, la cual, a su vez, tiene una función específica en relación con la planta hospedera.

El microbioma vegetal se ha considerado como uno de los factores determinantes en la salud y productividad de las plantas (Berendsen, Pieterse, & Bakker, 2012; Bulgarelli et al., 2013; Lebeis, Rott, Dangl, & Schulze-Lefert, 2012). Se ha demostrado el potencial de la manipulación del microbioma para estimular la germinación de las semillas, el crecimiento de las plantas y la resistencia a condiciones de estrés (Berg, Rybakova, Grube, & Köberl, 2016). También se han obtenido efectos positivos en la salud de las plantas, particularmente, en el control biológico de enfermedades (Berendsen et al., 2012; Berg, 2009; Berg, Zachow, Müller, Philipps, & Tilcher, 2013; Leveau, 2007; Mendes, Kuramae, Navarrete, Van Veen, & Tsai, 2014; Mendes et al., 2011). Esto ha llevado a la reducción de los insumos químicos (Adesemoye, Torbert, & Kloepper, 2009) y ha permitido estudiar el impacto y el riesgo de la aplicación de los inóculos microbianos (Scherwinski, Grosch, & Berg, 2008).

Así mismo, se han demostrado efectos positivos en la reducción de las emisiones de gases de efecto invernadero (Singh, Bardgett, Smith, & Reay, 2010) y se ha logrado aumentar la producción agrícola (Bakker, Manter, Sheflin, Weir, & Vivanco, 2012). Sin embargo, es necesario desarrollar más estudios prácticos, que resultan clave para entender la organización y la función de la comunidad microbiana total en las plantas y, así, ampliar la visión sobre su función y utilización para mejorar la producción agrícola. En este capítulo mostraremos la relevancia de los estudios del microbioma y su aplicación en el control biológico de patógenos de plantas.

Contexto histórico: del microbioma humano al microbioma de plantas y su aplicación en la agricultura

Con el fin de construir el mapa genético de todos los microorganismos que habitan el cuerpo humano, en 2007 un consorcio de investigadores de más de 80 centros de investigación de Estados Unidos, liderados por el Instituto Nacional de Salud de este país (NIH, por su sigla en inglés), iniciaron el Proyecto del Microbioma Humano (HMP, por su sigla en inglés). Este proyecto permitió estudiar, durante cinco años, las comunidades microbianas que viven en y sobre nuestros cuerpos, gracias al aprovechamiento del desarrollo alcanzado y de los bajos costos de las técnicas de secuenciación de genes, así como del uso de aproximaciones de metagenómica.

Como resultado de este trabajo, se obtuvo un catálogo del material genético de bacterias, virus y otros microorganismos tomados de distintas partes del cuerpo de hombres y mujeres (e incluso de materia fecal, para estudiar los microorganismos del tracto digestivo). Todos estos resultados se encuentran publicados en una serie de artículos en *Nature* y en revistas de la Biblioteca Pública de Ciencia (PLoS, por su sigla en inglés) (Human Microbiome Project Consortium, 2012). Además del catálogo, este proyecto contribuyó a la definición de las funciones de estas comunidades microbianas en la salud humana y en la enfermedad (Human Microbiome Project

Consortium, 2012), lo cual no solo proporcionó un marco de referencia para nuevos estudios e investigaciones en humanos, sino que orientó el estudio de microbiomas en plantas (Turner, James, & Poole, 2013), con su consecuente enfoque en la agricultura (Berg et al., 2013; Berg, Grube, Schloter, & Smalla, 2014c; Busby et al., 2017).

Para comprender el estudio del microbioma de plantas y sus aplicaciones en la agricultura, es necesario hablar del microbioma humano. De acuerdo con el estudio realizado por Sender, Fuchs y Milo (2016), basado en el llamado "hombre de referencia" (varón teórico de entre 20 y 30 años, con un peso de 70 kilogramos y 170 centímetros de altura), todo ser humano presenta 38 billones de bacterias, la mayor parte de las cuales se encuentran localizadas en el colon; mientras que el cuerpo humano está conformado por 30 billones de células aproximadamente, lo cual evidencia una proporción de 1,3:1. El peso de los 38 billones de bacterias ($3{,}8 \times 10^{13}$), así como el peso de células contribuyen a los 70 kilogramos de la persona de referencia, de los cuales los 30 billones de células (3×10^{13}) pesan 47 kilogramos, el 25 % procede del líquido extracelular y otro 7 % son sólidos extracelulares. El 75 % de esta masa se debe a solo dos tipos de células: los adipocitos que forman la grasa y las células musculares (Sender et al., 2016). En las mujeres, la proporción de bacterias frente a células humanas se incrementa un tercio con respecto a la de los hombres (Sender et al., 2016). Estos microorganismos en general no son perjudiciales, por el contrario, son esenciales para mantener la salud (Sender et al., 2016).

La composición del microbioma tiende a estar definida por el sitio del cuerpo, el cual genera diferentes presiones de selección (Human Microbiome Project Consortium, 2012). El microbioma puede iniciarse desde el nacimiento (Palmer, Bik, DiGiulio, Relman, & Brown, 2007) e incluso estar influenciado por la microbiota procedente de la vagina (Ravel et al., 2011) o de la piel de la madre, según la vía de nacimiento (Dominguez-Bello et al., 2010). La acumulación de otros organismos continúa durante la infancia y la niñez, como se ha demostrado con estudios del intestino (Yatsunenko et al., 2012) y del tracto respiratorio (Cardenas et al., 2012). Estos estudios, así como las diferentes iniciativas derivadas del HMP, buscan incrementar la comprensión de la relación entre la composición del microbioma y la salud humana, lo cual incluye las respuestas a los medicamentos (Haiser et al., 2013), la susceptibilidad a infecciones, a enfermedades crónicas (Tang et al., 2013) y al empleo de neuroquímicos y su influencia en el comportamiento humano (Lyte, 2013).

Con respecto a las plantas, sus microbiomas también contienen diverso acervo genético y funcional, compuesto por virus, procariotas y eucariotas, los cuales están asociados con varios hábitats en una planta hospedera. Estos microbiomas varían en todo sentido: de un organismo a otro (plantas individuales), de un órgano específico a otro (raíces, hojas, brotes, flores, semillas, etc.), y de una zona de interacción (entre las raíces, por ejemplo) a otra (los alrededores del suelo, como la rizosfera) (Rout & Southworth, 2013). Además, los microbiomas están en relación directa con el desarrollo y la salud de la planta, ya que favorecen la absorción y disponibilidad de nutrientes necesarios para el crecimiento vegetal (Elser et al., 2007; Friesen et al., 2011; Ortiz, Armada, Duque, Roldán, & Azcón, 2015), la fenología (Wagner et al., 2014) y también pueden defender de manera muy eficaz a su hospedero del ataque de organismos patógenos (Busby, Peay, & Newcombe, 2016; Mendes et al., 2011; Santhanam et al., 2015; Selosse, Bessis, & Pozo, 2014).

Es así como hay una gran analogía funcional entre nuestro sistema digestivo y la raíz de una planta. Ambos son ecosistemas eucariotas esenciales para la absorción de nutrientes por parte del organismo que los posee y que alberga un conjunto de microorganismos con una relación de simbiosis tanto mutualista como comensal (Bernal, 2016). De hecho, por la gran cantidad y variedad de microorganismos en la rizosfera, esta podría considerarse como un segundo genoma de la planta.

Diversos estudios en las últimas décadas han demostrado que el estudio de las interacciones planta-microorganismos y humano-microorganismos no solo son cruciales para una mejor comprensión del desarrollo vegetal y animal, sino también para la producción agropecuaria sostenible y para la salud humana, respectivamente. Igualmente, la interacción del microbioma de la planta y del microbioma

humano está estrechamente relacionada, ya que el de las plantas, además de influenciar positiva o negativamente el rendimiento de estas, puede afectar la salud humana: la puede mejorar (Blaser, Bork, Fraser, Knight, & Wang, 2013) o la puede afectar con brotes de enfermedades infecciosas por la transferencia de posibles patógenos (Van Overbeek et al., 2014).

Aunque los microorganismos de la rizosfera han sido estudiados en relación con la presencia de fitopatógenos y de microorganismos benéficos para las plantas, se les ha prestado menor atención a los patógenos humanos que se encuentran en la rizosfera. Al respecto, algunos reportes describen la proliferación de bacterias patógenas humanas en los tejidos vegetales (Tyler & Triplett, 2008). Tal es el caso de los estudios realizados por Kaestli et al. (2012), quienes reportan que *Burkholderia pseudomallei*, causante del muermo o melioidosis de equinos y de humanos —enfermedad endémica del Sudeste Asiático y Australia, y presente también en Brasil— se alberga en tejidos de gramíneas.

Teplitski, Warriner, Bartz y Schneider (2011) reportan que algunos fitopatógenos facilitan el ingreso de patógenos humanos a las plantas, mientras que algunas bacterias asociadas con el biocontrol de enfermedades producen antibióticos o compiten por nutrientes, de forma tal que inhiben la adherencia y colonización de los tejidos vegetales por patógenos humanos tales como *Salmonella* y formas virulentas de *Escherichia coli*. Las interacciones y ciclos de vida de los patógenos humanos en las plantas (Barak & Schroeder, 2012), así como los mecanismos moleculares y las circunstancias ecológicas que conducen a saltos en el rango de existencia de hospederos (Van Baarlen, Van Belkum, Summerbell, Crous, & Thomma, 2007), confirman que la visión de un microorganismo limitada a un solo sistema, sea vegetal o animal, ha impedido considerar la naturaleza de este en términos de la gama completa de sus posibles interacciones (Holden, Pritchard, & Toth, 2009).

El potencial hologenómico del microbioma asociado a la planta representa un inmenso reservorio sin explotar, que puede mejorar las funciones del hospedero enriqueciéndolo con microorganismos que se asocien a él. Por esta razón, la integración de microbiomas benéficos en los sistemas agrícolas ofrece la posibilidad de mejorar en gran medida la eficiencia de la producción vegetal (Bakker et al., 2012; Busby et al., 2017; Mueller & Sachs, 2015; Nogales et al., 2016; Schlaeppi & Bulgarelli, 2014; Wagner et al., 2014). Sin embargo, se recomienda que, cuando el objetivo sea el beneficio de la planta y de la agricultura, se estudie y se actúe primero a partir de cepas individuales, para luego pasar a consorcios microbianos, hasta llegar finalmente a todo el microbioma (Busby et al., 2017).

La coordinación del estudio de microbiomas de plantas en un contexto agrícola ha sido impulsada por diferentes asociaciones científicas, iniciativas y proyectos internacionales (Alivisatos et al., 2015; Gilbert, Jansson, & Knight, 2014; Phytobiomes, 2016; Reid & Greene, 2013; Stulberg et al., 2016). A través de estas iniciativas, se han encontrado brechas de conocimiento y prioridades de investigación en el área de microbiomas de plantas con metas altamente específicas: acelerar la integración de los microorganismos asociados a las plantas en la agricultura sostenible, involucrar a los agricultores desde el inicio del proceso (Busby et al., 2017; Cook, 2007) y buscar la estandarización de los procedimientos de colecta, procesamiento y análisis de datos.

Es así como, recientemente, Busby y colaboradores (2017) plantearon cinco prioridades de investigación en microbiomas agrícolas orientadas a acelerar la capacidad para diseñar e implementar manipulaciones efectivas de microbiomas agrícolas y estrategias de manejo que beneficien tanto a los consumidores como a los productores. Estas prioridades son las siguientes:

1. Desarrollar sistemas modelo de microbioma-hospedero para plantas cultivadas y plantas no cultivadas con colecciones de cultivos microbianos asociados y genomas de referencia. Para esto, se requieren esfuerzos coordinados que permitan el establecimiento de repositorios y bases de datos curadas que conduzcan a dilucidar las interacciones planta-microbioma y a establecer una base de conocimientos necesaria para una innovación sostenible y una agricultura de alto rendimiento.

2. Definir microbiomas y metagenomas núcleo en dichos modelos, que ayuden a identificar los microorganismos asociados a las plantas que deberán ser priorizados para investigación. La definición del microbioma-núcleo permitirá refinar el enfoque sobre taxones estables que tengan una mayor probabilidad de influir en el fenotipo del hospedero y de responder a desafíos ambientales específicos.

3. Elucidar las reglas del ensamblaje y la resiliencia de microbiomas. Para esto es esencial determinar las condiciones bajo las cuales los microorganismos se asocian en comunidades, sin perder de vista la complejidad de estas y la ecología de los microorganismos asociados a las plantas. Además, es importante considerar el método de inoculación y la capacidad de colonización o resiliencia de la comunidad, la cual dependerá del medioambiente y de factores abióticos (temperatura, luz, acidez, nutrientes y disponibilidad de agua) y bióticos (competencia, depredación, parasitismo y mutualismo).

4. Determinar los mecanismos funcionales de las interacciones planta-microbioma. Para esto, se requiere de un conocimiento profundo de los aspectos funcionales y de los mecanismos de las interacciones entre los microorganismos, las plantas, el ambiente y las prácticas de manejo agrícola. Se requiere aquí de avances significativos en enfoques experimentales, técnicas de caracterización avanzada y modelización (Lebeis, 2015; Widder et al., 2016).

5. Caracterizar y refinar las interacciones entre el genotipo de la planta *x*, el ambiente *x*, el microbioma *x* y sus interacciones. Esto representa un gran reto para el diseño de tratamientos de microbiomas que sean resistentes a la tremenda variabilidad ambiental presente y que tengan capacidad competitiva con respecto a la comunidad microbiana circundante, la cual puede variar drásticamente entre las fincas o localidades, en la respuesta a las prácticas de manejo agronómico (Soman, Wander, & Kent, 2017) y según el cambio climático (Barnard, Osborne, & Firestone, 2013; DeAngelis et al., 2015).

Gracias a una iniciativa y esfuerzo en conjunto de investigadores apoyados por la Sociedad Americana de Fitopatología (APS, por su sigla en inglés), en 2013 se creó una hoja de ruta para la investigación y la aplicación en el campo llamada *Phytobiomes* (traducido del inglés como Fitobiomas). Este proyecto surgió como respuesta al incremento global en las demandas de alimentos, forrajes y fibra, y a un mundo vulnerado por eventos de cambio climático extremo, que ha ido dejando y dejará en un futuro no muy lejano pocas tierras cultivables, insumos insostenibles de fertilizantes, disponibilidad incierta de agua y bajos rendimientos de los cultivos (Phytobiomes, 2016).

En esta hoja de ruta se describe un plan estratégico para adquirir conocimiento de lo que constituye un agroecosistema saludable, productivo y sostenible, y para traducir ese conocimiento en herramientas nuevas y poderosas que entren a formar parte de las estrategias de manejo de cultivos. Esto podría lograrse a través de una comprensión de las redes que resultan de las interacciones entre las plantas, su entorno (suelo, aire, agua y clima) y las comunidades complejas de organismos (macro- y micro-) (Phytobiomes, 2016).

Hoy en día, los avances conceptuales y tecnológicos en diversos campos de investigación —como las ciencias ómicas, la biología de sistemas, la ecología microbiana, la ciencia de datos y los sistemas de manejo de cultivos de precisión— están posicionando a los investigadores para lograr grandes avances en la caracterización, análisis y manejo de fitobiomas como sistemas integrados (Leach, Triplett, Argueso, & Trivedi, 2017; Phytobiomes, 2016).

¿Por qué estudiar el microbioma?

En los últimos años, el estudio del papel desempeñado por las comunidades asociadas a las plantas ha ganado un enorme interés en el área agrícola, debido a la creciente evidencia de que estas comunidades pueden afectar el desarrollo, productividad y resiliencia de los cultivos (Berg et al., 2013; Bulgarelli et al., 2013; Mendes et al., 2014). Incluso, algunos estudios recientes muestran que el microbioma puede tener

un efecto directo en la fenología de las plantas, tal como se describe en el trabajo con *Boechera stricta* (Wagner et al., 2014), en el que se demuestra que los microorganismos asociados a la raíz tienen un efecto directo sobre el tiempo de floración. También en estudios de trasplante de microbioma de raíz entre especies estrechamente relacionadas como *Arabidopsis thaliana* y *Brassica rapa*, se generaron cambios en el tiempo de floración de la planta receptora, los cuales resultaron similares a los observados en la planta donadora (Panke-Buisse, Poole, Goodrich, Ley, & Kao-Kniffin, 2015).

Así, pues, la manipulación del microbioma vegetal podría llevar al desarrollo de tecnologías y prácticas agrícolas más sostenibles: control de enfermedades (Andrews, 1992; Bloemberg & Lugtenberg, 2001), aumento de la producción agrícola (Bakker et al., 2012), disminución en el uso de los insumos químicos (Adesemoye et al., 2009) y reducción de las emisiones de gases de efecto invernadero (Singh et al., 2010).

Un factor importante para la consolidación de los estudios del microbioma de las plantas y su potencial para el uso agrícola ha sido la disponibilidad de nuevas herramientas como la secuenciación masiva de ADN. Estas tecnologías han permitido, de forma efectiva y económicamente viable, realizar estudios independientes de cultivo de las comunidades establecidas en los distintos tejidos. También han permitido establecer qué microorganismos están presentes en los tejidos de las plantas (p. ej., secuenciación de genes marcadores moleculares), cuáles son sus posibles funciones (p. ej., genomas, metagenomas) y cómo expresan estas funciones frente a distintas condiciones ambientales (p. ej., transcriptomas y metatranscriptomas).

El uso de estas nuevas herramientas para el estudio del microbioma tiene el potencial de impactar en la detección de nuevos organismos para el control y en el seguimiento de los bioproductos y su efecto en campo (Berg et al., 2013). El efecto de los desarrollos tecnológicos en el estudio del microbioma de plantas se ve reflejado en el creciente número de publicaciones sobre el tema: mientras que en el periodo 2008-2010 se publicaron alrededor de 50 artículos científicos relacionados con los términos "microbiomas de plantas", en el periodo 2014-2016 se han publicado más de 600 (Google Académico, s. f.). Esto muestra el enorme interés en explorar, identificar, entender y aprovechar los microbiomas como una nueva fuente de diversidad genética y funcional para mejorar la productividad agrícola.

Los fitobiomas, una nueva alternativa para la agricultura

El fitobioma está compuesto por plantas, su medioambiente y diversos organismos macro- y microscópicos que interactúan e influyen en la salud y productividad de las plantas. Estos organismos forman redes complejas que se establecen y se regulan a través del ciclo de los nutrientes, la competencia, el antagonismo y la comunicación química mediada por una diversa gama de moléculas de señalización. La integración del conocimiento de los mecanismos de señalización, de los miembros del fitobioma y de sus redes conducirá a una nueva comprensión de la función e importancia de estas señales en el ecosistema. Tal entendimiento podrá conducir a nuevas estrategias biológicas, químicas y de fitomejoramiento dirigidas a optimizar la salud y la productividad de los cultivos.

Especificidad del microbioma en los distintos tejidos

Una de las observaciones interesantes derivada de los estudios de diversidad molecular es que los distintos órganos de las plantas —por ejemplo, la rizosfera (raíces), la filosfera (la zona aérea), la endosfera (tejidos internos) y la carposfera (frutos)— están colonizados por microorganismos y que distintos tejidos parecen favorecer el reclutamiento de comunidades microbianas distintas. Las comunidades bacterianas son abundantes en los distintos tejidos de la planta, por ejemplo, se ha estimado que existen de 10^6 a 10^7 células/cm^2 en la superficie de las hojas y de 10^6 a 10^9 células/g en la rizosfera (Whitman, Coleman, & Wiebe, 1998). Estos ensamblajes de comunidades no son producto del azar, sino que parecen estar determinados por la anatomía de las hojas y raíces y por la producción de exudados en estos tejidos (Berg et al., 2016).

La rizosfera se caracteriza por su elevada abundancia de comunidades microbianas (Berg, Eberl, & Hartmann, 2005) y es tal vez uno de los ambientes más estudiados, en especial, porque los microorganismos presentes en la raíz promueven un mejor aprovechamiento de los nutrientes y pueden afectar positivamente la salud de la planta evitando el desarrollo de enfermedades. Una de las características interesantes de la rizosfera es su capacidad de reclutar del suelo especies microbianas específicas. Esta selección específica de microorganismos ha sido demostrada con metodologías como el enriquecimiento isotópico (Haichar et al., 2008) y la comparación por secuenciación de 16S rARN de las comunidades microbianas. Tales metodologías han indicado que la acción combinada de las interacciones microorganismo-microorganismo y microorganismo-hospedero estimula la diferenciación de la microbiota en la interfaz raíz-suelo e impulsa el establecimiento de la microbiota de la raíz, a través de procesos fisiológicos específicos de la biota del suelo circundante (Bulgarelli et al., 2012; Lundberg et al., 2012).

De igual forma, la localización espacial de los microorganismos en la raíz y su relación con la distribución de nutrientes ha sido demostrada por microscopía, con metodologías como FISH o hibridación fluorescente *in situ* (Bulgarelli et al., 2012; Lundberg et al., 2012; Ofek, Hadar, & Minz, 2012). Esta co-localización de nutrientes señala que las asociaciones entre la raíz y los microorganismos se dan por comunicación química, en la que están involucradas la acumulación de mucílago y de exudados de metabolito secundario con la capacidad de atraer o repeler microorganismos (Badri & Vivanco, 2009) e, incluso, mecanismos de defensa (Doornbos, Van Loon, & Bakker, 2012).

Estos mecanismos de comunicación y de reclutamiento del microbioma parecen ser particulares de cada especie, como se observó en estudios comparativos de la diversidad de la rizosfera de dos plantas medicinales, cultivadas en suelos adyacentes con las mismas condiciones. En dicho estudio, a pesar de la proximidad de las plantas, se encontró hasta un 30 % de diferencias en la diversidad microbiana asociada a la raíz, al igual que diferencias funcionales en los organismos colonizadores del tejido (Köberl, Schmidt, Ramadan, Bauer, & Berg, 2013). Además de la importancia para la planta, se sabe que las comunidades de microorganismos en la rizosfera también son importantes para los ecosistemas terrestres, ya que catalizan procesos como la fijación de carbono, que es fundamental para el funcionamiento y ciclo de los nutrientes (Berg et al., 2014c).

En comparación con la rizosfera, la abundancia microbiana en la filosfera es menor. Esto se debe a que las hojas son un ambiente más dinámico, con un menor tiempo de vida que las raíces, un menor número de nutrientes y una mayor exposición a cambios de humedad, radiación y temperatura (Vorholt, 2012). Las hojas tienen diferentes estrategias y estructuras que afectan la colonización microbiana, como las capas de cera y la producción de compuestos secundarios, que tienen efecto antimicrobiano (Berg et al., 2016). Tal vez por la presencia de estas estructuras, la escasez de recursos y la variabilidad de las condiciones, la colonización de las superficies de las hojas se da en grupos pequeños de agregados, los cuales se forman principalmente en las uniones de las células epidérmicas, a lo largo de las venas y en las bases de tricomas (Lindow & Brandl, 2003).

La colonización y establecimiento del microbioma de la filosfera está determinado por las condiciones ambientales y biológicas. Un estudio realizado en el periodo de crecimiento (julio-agosto) de los cultivos de fríjol, soya y canola muestra que durante esta etapa las variables climatológicas de las estaciones influyeron en la composición y maduración del microbioma de la filosfera (Copeland, Yuan, Layeghifard, Wang, & Guttman, 2015). Al principio, su composición se vio fuertemente influenciada por los microorganismos del suelo, sin embargo, a medida que transcurrió la temporada, la comunidad se volvió menos diversa y más específica, con la presencia de microorganismos de la familia Methylobacteriaceae, encontrados comúnmente en la filosfera.

Otro estudio reciente, esta vez en 57 especies de árboles en bosques neotropicales, muestra la relación de la microbiota asociada a la filosfera con los atributos biológicos de los árboles (Kembel et al., 2014). En dicho estudio, se encontró relación entre la estructura del microbioma y variables como la fisiología de la planta, la relación evolutiva, la densidad de la madera, la densidad de la hoja y las concentraciones de nitrógeno y fósforo en las hojas. Entre estos atributos,

la concentración de nitrógeno y fósforo es la que parece tener un mayor efecto sobre el microbioma. Esto se debe posiblemente a que tales valores representan una medida de la estrategia de toma y retención de nutrientes por parte de la planta, lo cual se refleja en la estructura de las hojas y afecta la composición de la microbiota. Lo anterior muestra la complejidad de las fuerzas que modulan el establecimiento del microbioma de la filosfera y evidencian que es necesario evaluar los factores bióticos y abióticos en futuros estudios para dilucidar las fuerzas que determinan su composición y dinámica.

Otra área de trabajo en la investigación de la microbiota es el estudio de los frutos o la carposfera. Debido a la relación directa con la producción agrícola, el estudio en este tema se ha venido desarrollando en varias direcciones, desde su interacción con insectos plaga hasta su estudio para evitar pérdidas asociadas a la infección por microorganismos que se desarrollan durante los procesos de poscosecha.

Un estudio reciente en manzanas cosechadas evaluó la diversidad fúngica de estas en distintas partes del fruto y su relación con las prácticas de manejo orgánico y convencional (Abdelfattah, Wisniewski, Droby, & Schena, 2016). En este estudio se evaluaron las frutas poco después de su compra (T1) y después de dos semanas de almacenamiento (T5). Los análisis de diversidad revelaron poblaciones significativamente diferentes en las manzanas orgánicas frente a las convencionales, e incluso detectaron varios taxones únicos exclusivamente en las manzanas orgánicas, lo que sugiere que las prácticas de manejo agronómico pueden ser un factor determinante de los taxones presentes.

Sin embargo, a pesar de estos resultados, solo se revelaron pequeñas diferencias en los dos tiempos de evaluación (T1 y T5), lo cual fue consistente en todas las partes de la fruta investigadas (extremo del cáliz, cáscara, extremo del vástago y carne herida). Los resultados de este estudio representan un avance de los conocimientos actuales sobre la microbiota de hongos en tejidos de fruta y muestran la importancia del manejo en la diversidad final del microbioma del fruto. Incluso, dan a conocer alternativas de estudio interesantes para el diseño de nuevas estrategias de control que modulen el establecimiento de un microbioma controlador de enfermedades de poscosecha.

El microbioma en el control biológico

A pesar de la ubicuidad de los microbiomas asociados a los distintos tejidos y a su posible rol en la salud de las plantas, la mayoría de los estudios en control biológico se han enfocado principalmente en el entendimiento de interacciones simples, planta-patógeno, planta-patógeno-agente controlador. Aunque estas aproximaciones han permitido entender múltiples mecanismos de control de enfermedades y seleccionar microorganismos, omitir la influencia del resto de la comunidad microbiana puede sesgar la aplicación óptima de estos bioproductos. Por ejemplo, una de las grandes limitantes de los biocontroladores es la baja reproducibilidad de los resultados cuando se aplican en distintos lugares. Varios autores sugieren que gran parte de esta variabilidad se debe precisamente a que no se conoce si la microbiota local de las plantas afecta de forma positiva o negativa la respuesta de los agentes biocontroladores (Massart, Martínez-Medina, & Jijakli, 2015). Entender el efecto del microbioma en la planta puede ayudar a privilegiar el uso de agentes biológicos sobre el de compuestos químicos (muchas veces nocivos para el medioambiente).

Se han propuesto varias aproximaciones que permitirían aprovechar el uso del conocimiento del microbioma en el área de control biológico. Una estrategia de prevención busca esclarecer si las interacciones microbiota-patógeno-planta (es decir, la competencia por nutrientes y espacio, la antibiosis y la estimulación de la respuesta sistémica del hospedero) pueden suprimir la proliferación de patógenos (Berg et al., 2016). Por ejemplo, muchos patógenos bacterianos foliares colonizan las superficies de las plantas antes de la infección, y el tamaño de las poblaciones resultantes se correlaciona con la severidad de la enfermedad. Esto sugiere que un microbioma compuesto por poblaciones competidoras en la filosfera puede reducir el establecimiento y colonización del patógeno, y favorecer, así, la protección de las plantas.

Uno de los casos más relevantes en la prevención de las enfermedades es el de la supresión del desarrollo de patógenos en ciertos suelos denominados *supresivos* (*i. e.*, que impiden el desarrollo de enfermedad). Tales suelos han sido reportados alrededor del mundo, con

una clara evidencia de la contribución de la microbiota en los resultados. Existen principalmente dos tipos de supresividad: la supresividad general, debida al efecto de la biomasa total de microorganismos, y la supresividad específica, debida a la acción específica de poblaciones de microorganismos (Weller, Raaijmakers, Gardener, & Thomashow, 2002). Esta última, es de gran interés en el control biológico, ya que la identificación de estas poblaciones, el entendimiento de sus funciones e interacciones y la recuperación de estas comunidades pueden emplearse para reducir la severidad de las enfermedades en los cultivos. Los mecanismos de supresividad específica incluyen la interacción de supresión directa sobre un patógeno (en el que los microorganismos del suelo inhiben el establecimiento de este) y la supresividad indirecta (en la que el microbioma estimula el sistema inmune de la planta) (Lugtenberg, Chin-A-Woeng, & Bloemberg, 2002).

La existencia de suelos con comunidades supresoras ha sido reportada para múltiples cultivos (papa y manzana, por ejemplo), desde mediados del siglo pasado. Algunos estudios en papa reportaron la presencia de agentes atenuadores de la enfermedad de la costra negra de la papa en suelos que llevaban mucho más tiempo de producción que en aquellos con menos de 15 años (Menzies, 1959). En dichos estudios se demostró que, a través del tiempo, el suelo desarrollaba supresividad a la enfermedad y que esta desaparecía cuando el suelo era esterilizado, lo que suponía una importante influencia biológica.

Dichos estudios fueron las primeras evidencias que abrirían la puerta para muchos otros trabajos que han demostrado la importancia del factor microbiológico del suelo en el desarrollo de las enfermedades. Para una revisión completa de la historia de la supresividad, véase Weller et al. (2002). Más recientemente, un estudio en remolacha ha demostrado, por medio de técnicas dependiente e independiente de cultivo, que los microorganismos de la clase gamma-proteobacteria presentes en la rizosfera conllevan una clara actividad supresiva contra el patógeno *Rhizoctonia solani* (Mendes et al., 2012).

A pesar de la evidencia de la presencia de comunidades supresivas, delimitar y aprovechar estas comunidades implica importantes retos tecnológicos y de conocimiento, ya que es imposible poder recuperar en cultivo estas comunidades complejas y megadiversas. Por lo tanto, uno de los retos más grandes es poder identificar cuáles organismos, dentro de la enorme diversidad, son fundamentales y necesarios para generar el efecto supresivo. La evidencia en *Arabidopsis thaliana* sugiere que para desfavorecer o suprimir el desarrollo de enfermedades no es necesaria la presencia de todos los organismos de la comunidad, sino que basta con la presencia de algunas especies clave para ayudar a establecer los demás microorganismos (Agler et al., 2016).

En la misma línea, algunos autores sugieren que inocular microorganismos clave colaboradores ("cepas auxiliares") junto con los biocontroladores puede aumentar la efectividad (Massart et al., 2015), ya que las comunidades microbianas pueden influir directamente en el desarrollo de antibiosis, parasitismo o competencia, pero también pueden tener un papel indirecto al estimular las defensas de las plantas o la supervivencia y la actividad de los agentes biocontroladores. Una mejor comprensión del microbioma también permitirá identificar estas "cepas microbianas auxiliares" que potencian la eficacia de los agentes biocontroladores.

¿Qué son los fitobiomas?

Se denomina *fitobioma* al sistema conformado por una planta, su medioambiente, sus micro- y sus macroorganismos asociados. Estos organismos —que pueden estar dentro, en la superficie o adyacentes a las plantas— incluyen una gran diversidad de microorganismos (virus, bacterias, hongos, oomicetos y algas), animales (artrópodos, gusanos, nematodos y roedores) y otras plantas (Phytobiomes, 2016). El ambiente hace referencia al entorno físico y químico (suelo, aire, agua y clima) que influye en las plantas y sus organismos asociados (Phytobiomes, 2016). Todos estos componentes interactúan entre ellos, de modo que influyen en la sanidad del suelo, en las plantas, en el agroecosistema y en la productividad. Como resultado de esta interacción, los organismos (macro- y micro-) forman redes complejas que se establecen y regulan a través del ciclo de los nutrientes, la competencia, la depredación, la patogénesis, el mutualismo

y la comunicación química mediada por una diversa gama de moléculas de señalización (Leach et al., 2017). Es así como el conocimiento integrado de los mecanismos de señalización de cada uno de los miembros del fitobioma y de las redes que se originan entre ellos puede convertirse en una alternativa de estrategias de control, de mejoramiento de la sanidad vegetal y de la productividad agrícola (figura 4.1).

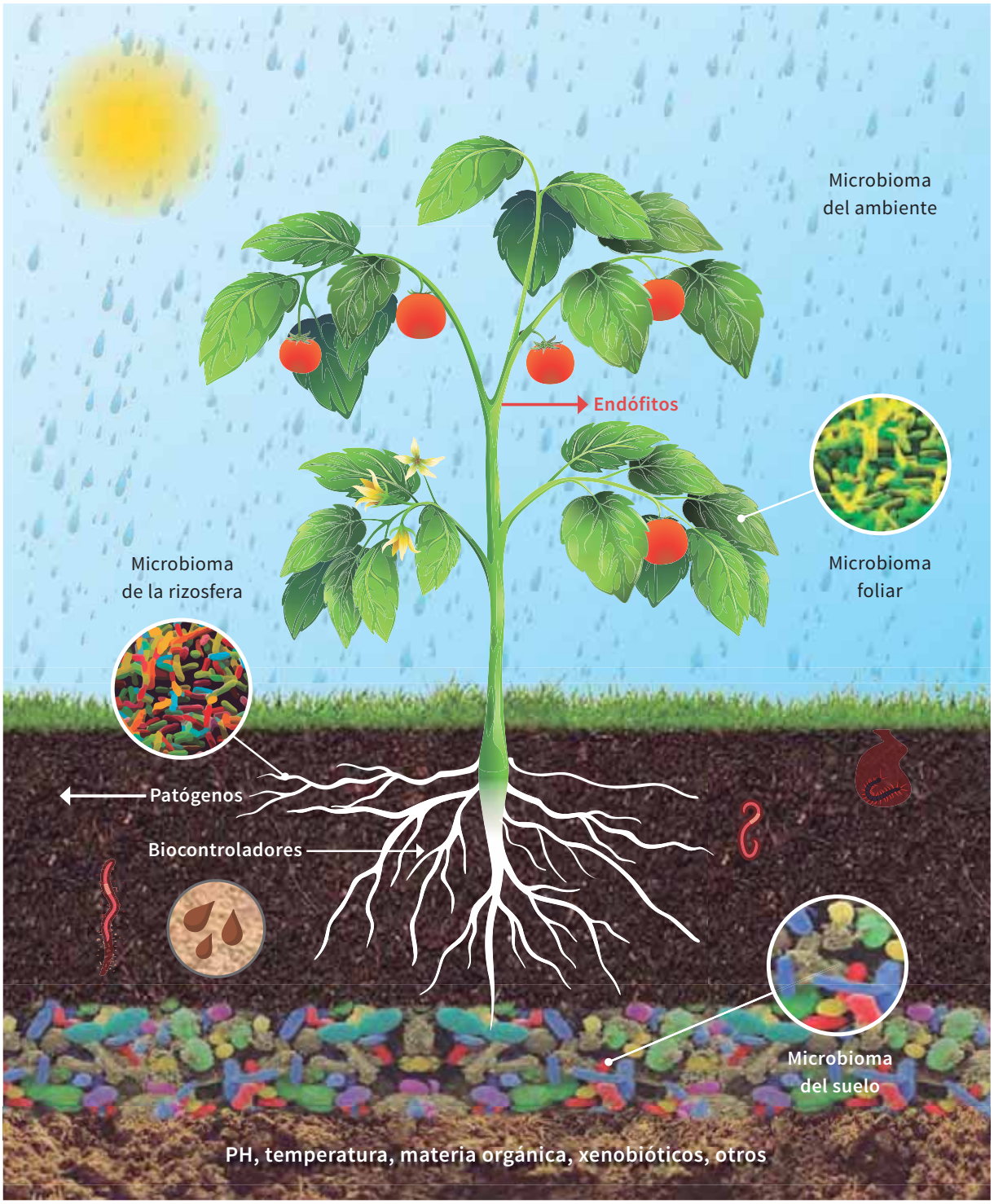


Figura 4.1. Interacciones del fitobioma con los factores fisicoquímicos del entorno.

Fuente: Elaboración propia

¿Qué se conoce de los fitobiomas?

El conocimiento actual que se tiene sobre los fitobiomas se ha reunido a partir de las investigaciones realizadas por científicos de diferentes disciplinas, entre ellos, fisiólogos de plantas, fitopatólogos y entomólogos, que han elucidado las interacciones existentes entre fitopatógenos y plagas, e incluso las vías por las que estos manipulan las defensas de las plantas. También los microbiólogos han realizado aportes mediante la identificación de las interacciones benéficas que aumentan dramáticamente el acceso de las plantas al agua, al nitrógeno utilizable y al fósforo (Phytobiomes, 2016).

Por otra parte, la comunidad científica está avanzando rápidamente en la comprensión del microbioma de la planta —componente prominente de los fitobiomas—, gracias al rápido desarrollo de las ciencias ómicas y de los avances conceptuales en este tema. Del mismo modo, los investigadores en suelos han definido los procesos fundamentales para la formación de estos, de su fertilidad y del ciclo de los nutrientes; mientras que los fitomejoradores, los agrónomos y los cultivadores han establecido los sistemas de producción que han conducido a una época de notable crecimiento agrícola (Phytobiomes, 2016). Sin embargo, este crecimiento se ha visto limitado por una escaza comprensión de los fitobiomas. Entender cómo los fitobiomas se reúnen, funcionan e impactan la salud de las plantas y los ecosistemas en su conjunto ampliará enormemente el número de herramientas para el manejo de cultivos.

¿Cómo es la comunicación en el fitobioma?

La comunicación o interacción dentro y entre los organismos es la pieza clave que integra la función del fitobioma. Algunas interacciones están mediadas por señales físicas, tales como la vibración o bloqueo de la luz, pero la mayoría son de naturaleza química: lípidos, péptidos, polisacáridos y metabolitos volátiles (Leach et al., 2017). La comunicación puede ocurrir a través de la degradación de señales, mimetismo o inhibición por parte de otros miembros de la comunidad, lo que incluye plantas, bacterias, hongos e insectos (Leach et al., 2017). Las plantas producen señales emitidas en radicales o exudados foliares que son percibidas por otros miembros de la comunidad. Las plantas también perciben señales de diversos miembros de la comunidad que activan o mejoran las respuestas localizadas o sistémicas y que culminan en cambios en su desarrollo, salud y productividad (Leach et al., 2017).

Las interacciones bióticas de los fitobiomas mediadas por señalización, antagonismo o cooperación para obtener recursos tienen importantes implicaciones para las plantas. La conectividad inter-reino entre las especies clave en las redes de fitobiomas puede regular el ensamblaje de la comunidad y la aptitud de las plantas (Agler et al., 2016). Esto ha comenzado a aplicarse a la ecología de la restauración, donde se ha demostrado que la inoculación con microbiota de suelo de diferentes ambientes sobre praderas para restauración influye en la composición de las especies de plantas que se inician allí (Wubs, Van der Putten, Bosch, & Bezemer, 2016).

Un estudio a gran escala de la sucesión de praderas después del abandono de los campos agrícolas demostró que los grupos existentes de biota del suelo —la cual incluye hongos, bacterias, microartrópodos, nematodos y plantas— estaban cada vez más conectados y eran cada vez más eficientes en la captura de carbono a través del tiempo, en especial, cuando la composición de las especies de plantas había sido casi la misma (Morriën et al., 2017). Vincular estas relaciones bióticas con las vías de comunicación que se generan entre todos los organismos implicados, para establecerlas y regularlas, es una estrategia que podría beneficiar no solo la productividad de los cultivos, sino también la resistencia de estos a las enfermedades (Leach et al., 2017; Lehman et al., 2015).

El conocimiento que se tiene actualmente sobre las comunicaciones entre los organismos que conforman el fitobioma se ha basado principalmente en la interacción entre dos o tres miembros y se han estudiado, en gran medida, a nivel de laboratorio o invernadero. Sin embargo, el hecho de que las señales puedan ser capturadas, modificadas o incluso destruidas por otro miembro de la comunidad refuerza la necesidad de un análisis a nivel de sistemas de comunicación dentro del fitobioma (Leach et al., 2017).

De hecho, las predicciones de señalización son cada vez más confiables, gracias a las tecnologías de punta y al análisis de proteomas, de metabolomas y a la biología de sistemas, que contribuyen a la comprensión de todo el sistema y, por lo tanto, al mejoramiento de los cultivos.

A pesar de que se están descubriendo los diferentes eventos de señalización que ocurren entre los miembros del fitobioma, no es claro aún si las comunidades evolucionan juntas para modular o compensar las señales del otro, en beneficio de la máxima supervivencia de la planta, ya que muchas de las señales que ocurren entre los miembros son contradictorias y, a la vez, simultáneas.

Es por esta razón, que Leach et al. (2017), en su revisión sobre la comunicación en el fitobioma, afirman que "una imagen a nivel de sistemas de eventos de señalización es necesaria para entender si las plantas están conduciendo una sinfonía de señalización o gritando en una multitud cacofónica".

Estudios de caso

La composición espacial de la comunidad fúngica asociada a la manzana: una herramienta para el diseño de nuevas estrategias de control de enfermedades

Los frutos como la manzana son el hábitat natural de múltiples hongos. En algunos casos, la colonización de sus tejidos por parte de estos es imprescindible para completar su ciclo de vida. Varios de estos hongos pueden ser considerados como patógenos y, en muchos casos, son los causantes del deterioro de la calidad de las frutas durante el proceso de poscosecha, razón por la cual generan grandes pérdidas económicas. No obstante, no todos los hongos residentes en los tejidos generan deterioro o enfermedad, incluso estos organismos pueden ser considerados como benéficos, debido a que llegan a controlar el desarrollo de enfermedades. Algunos endófitos, como *Cryptococcus*, por ejemplo, disminuyen la severidad de las enfermedades que afectan el fruto. Por lo tanto, entender las comunidades asociadas a los frutos, la complejidad de las interacciones entre las poblaciones microbianas, el tejido de la planta y los patógenos permite el desarrollo de alternativas para reducir las pérdidas económicas durante el proceso de poscosecha.

Las prácticas de cultivo —además de afectar la productividad y la calidad de los frutos— inciden en la colonización y ensamblaje de comunidades. Algunos estudios, como el de Camatti-Sartori et al. (2005), han documentado el efecto del manejo orgánico y el convencional sobre las comunidades de hongos endófitos y filamentosos en manzanas. En el trabajo de estos autores, el uso de técnicas convencionales de cultivo de microorganismos permitió concluir que el manejo orgánico favorece un mayor establecimiento de hongos endofíticos. No obstante, un mejor entendimiento del efecto de las prácticas de cultivo sobre el ensamblaje de las comunidades microbianas asociadas a los frutos como la manzana requiere de estudios que permitan muestrear la diversidad total de la comunidad por medio de metodologías independientes de cultivo.

En este contexto, se presenta como estudio de caso el trabajo realizado en manzanas por Abdelfattah et al. (2016), quienes demuestran la utilidad de las herramientas independientes de cultivo para entender las interacciones de las comunidades y el efecto de las prácticas de cultivo sobre la diversidad y distribución espacial de los microbiomas de las manzanas en anaquel.

En este estudio se evaluaron manzanas Red Delicious con distintos tipos de manejo (convencional y orgánico), obtenidas de un mercado local en el estado de Washington (Estados Unidos). Las frutas fueron procesadas el día 1 y 5 de la compra, separando tres tejidos, el cáliz (CE), el pedúnculo (SE) y la zona ecuatorial de la fruta (figura 4.2a). La zona ecuatorial de la fruta se subdividió en otros dos tejidos: el mesocarpio, donde se generó una herida artificial (WF), y la piel de la fruta (PE). Se realizaron réplicas biológicas y los tejidos fueron liofilizados.

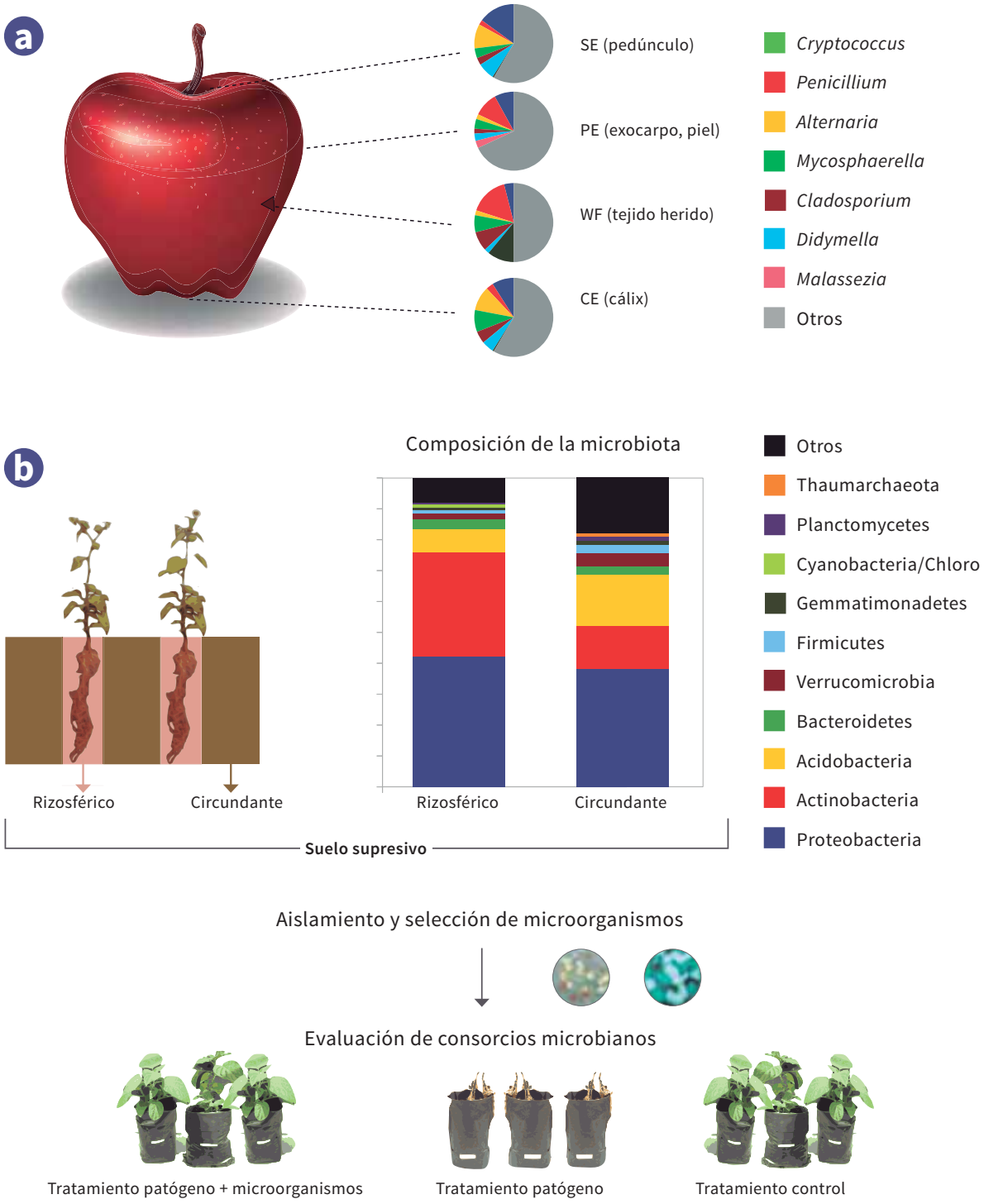


Figura 4.2. Estudios de caso de microbiomas como herramienta para el diseño de nuevas estrategias de biocontrol. a. Estudio de la microbiota asociada a los frutos de manzana, importancia de las distintas partes del fruto que albergan comunidades de hongos patogénicos (p. ej., *Alternaria*) e identificación de posibles biocontroladores (p. ej., *Cryptococcus*); b. Estrategia de control de patógenos de uchuva basada en el estudio del microbioma a partir de la identificación de suelos supresivos, de técnicas independientes de cultivo y de aislamiento, y del uso de consorcios microbianos para el control del marchitamiento vascular producido por *Fusarium oxysporum*.

Fuente: Elaboración propia

Con estos tejidos se realizó la extracción de ADN y la amplificación de la región ITS 2 por medio de PCR con los *primers* ITS3_KYO2 y ITS4 (Toju, Tanabe, Yamamoto, & Sato, 2012), los cuales incluyeron los adaptadores para la secuenciación con plataformas Illumina. Los productos de estas amplificaciones fueron llevados al secuenciador Illumina MiSeq. Las secuencias de ITS obtenidas se examinaron con la herramienta de análisis de amplicones Qiime y la asignación taxonómica se realizó mediante búsqueda de homología (Blast) contra las bases de datos de GenBank (NCBI, 2017) y Fungal Barcoding Databases (Fungal Barcoding, 2017).

Los análisis de las lecturas mostraron que el número de grupos taxonómicos de hongos detectados en unidades taxonómicas operacionales (UTO) se encuentran entre 80 y 450. Los tejidos con mayor diversidad de grupos fueron la piel del fruto, el mesocarpio y el pedúnculo, mientras que el cáliz (CE) presentó la menor diversidad de UTO. La mayoría de las lecturas fueron asignadas al filo Ascomycota (69,3 %), seguido por los Basidiomycota (29,5 %).

Para el filo Ascomycota, se identificaron miembros de las clases Dothideomycetes y Eurotiomycetes (42,6 % y 10,6 %, respectivamente), seguidas por las clases Sordariomycetes (6,1 %), Saccharomyces (4,2 %) y Leotiomycetes (2,4 %). En el caso de los Basidiomycota, las lecturas presentaron principalmente miembros de las clases Tremellomycetes (13,5 %) y Ustilaginomycetes (2,1 %) (figura 4.2). En resumen, los géneros más abundantes fueron, *Cryptococcus* (9,20 %), *Penicillium* (8,00 %), *Alternaria* (6,60 %), *Mycosphaerella* (6,30 %), *Cladosporium* (5,10 %), *Didymella* (4,70 %) y *Malassezia* (4,60 %).

Estos patrones de diversidad mostraron diferentes poblaciones de hongos en las distintas zonas de una misma fruta (CE, SE, WF y PF). Estas diferencias de las comunidades no son producto del azar, sino que parecen estar relacionadas con las condiciones de nicho provistas por cada región de la fruta, lo cual es evidente debido a que las mismas zonas de distintas frutas muestran patrones poblacionales similares. Incluso, aquellos tejidos que presentan una topología similar, como el pedúnculo (SE) y el cáliz (CE), presentaron comunidades similares. Esto se puede deber a que dichos lugares ofrecen mayor protección a los microorganismos de los rayos UV y de otras condiciones adversas.

El estudio de Abdelfattah et al. (2016) también señaló que existe un efecto claramente distinto entre el manejo convencional y el orgánico sobre la diversidad de hongos en el fruto, puesto que en las frutas con manejo convencional se encontró una menor diversidad de hongos, la cual parece estar asociada al efecto de los químicos utilizados. Otra observación interesante es que el tiempo de análisis después de la compra de los frutos (día 1 y día 5) no parece tener un efecto importante sobre la composición de hongos, lo que sugiere que es la comunidad establecida desde un principio en la fruta la que determina la diversidad.

Desde el punto de vista tecnológico, entender la composición de las comunidades de hongos puede ayudar a detectar organismos antagónicos de patógenos o a detectar los reservorios de hongos patogénicos. Por ejemplo, el análisis de la diversidad detectó la presencia de posibles levaduras antagonistas como *Cryptococcus*, *Metschnikowia* y *Wickerhamomyces*. Entre estas, *Cryptococcus* fue detectado en múltiples muestras y con una alta abundancia, lo cual es interesante puesto que varias cepas de esta levadura han sido estudiadas como agentes biocontroladores en manzana frente a *Penicillium expansum* (Hashem, Alamri, Hesham, Al-Qahtani, & Kilany, 2014). De forma similar, el análisis de las distintas zonas de las frutas permitió identificar aquellas zonas con mayor abundancia de posibles patógenos, por ejemplo, se detectó *Alternaria* en mayor cantidad en el cáliz y en el pedúnculo (CE y SE), en comparación con los otros tejidos; distribución que concuerda con los patrones de colonización y patogenicidad descritos para este hongo (Reuveni, Sheglov, Sheglov, Ben-Arie, & Prusky, 2002).

Este estudio demostró la importancia de entender las líneas fundamentales de la diversidad microbiana asociada a las plantas, pues permitió delimitar el efecto de la topografía del fruto sobre la distribución de los grupos taxonómicos de la comunidad de hongos, destacar el efecto de las técnicas de manejo sobre la diversidad y enfocar los estudios para la búsqueda y modulación de organismos biocontroladores de fitopatógenos (Wisniewski, Droby, Norelli, Liu, & Schena, 2016).

Biocontroladores vs. patógenos humanos y vegetales en estudios del microbioma

Las plantas son reconocidas como holobiontes debido a una estrecha relación simbiótica con su microbioma. Así como lo establecido en los seres humanos y en otros hospederos eucariotas, las plantas también albergan un "segundo genoma" que cumple funciones importantes en el hospedero. Estos enfoques influyen en diferentes campos de interés agrícola tales como el control biológico y la protección contra factores de estrés en la agricultura (figura 4.3). Las herramientas usadas para los estudios del microbioma pueden impactar 1) en la detección de nuevos recursos biológicos para el control de plagas y la promoción del crecimiento de las plantas, 2) en la optimización de procesos de fermentación y la formulación de bioplaguicidas, 3) en la estabilización del efecto biocontrolador en condiciones de campo y 4) en los estudios de evaluación de riesgo de los bioplaguicidas. Existe una cantidad importante de trabajos que presentan y discuten ejemplos de los campos mencionados anteriormente y de los bioproductos de próxima generación como una alternativa sostenible para la agricultura.

La composición del microbioma de la planta está influenciada por diferentes factores: la edad o etapa de desarrollo de esta, su especie o cultivar y la salud vegetal. Además, una multitud de factores abióticos modulan la diversidad estructural y funcional del microbioma asociado a la planta, por ejemplo, las propiedades del suelo, el estado nutricional y las condiciones climáticas (Berg & Smalla, 2009). Mediante el uso de técnicas de secuenciación de última generación se analizaron las huellas moleculares y se identificaron cepas particulares pertenecientes a comunidades microbianas de rizosfera específicas para varias especies de plantas (Berg & Smalla, 2009). Gracias a esto, se encontró que la rizosfera no solo contiene microorganismos benéficos, sino que puede contener un reservorio de patógenos humanos facultativos (Berg et al., 2005). De otra parte, varios estudios desarrollados permitieron establecer que todos los órganos de las plantas están colonizados por microorganismos (Berg, Erlacher, Smalla, & Krause, 2014a; Berg, Grube, Schloter, & Smalla, 2014b).

Sin embargo, los hábitats naturales tienen un bajo número de patógenos, por lo que la regla general de diversidad versus patogenicidad sugeriría que prevalece más el efecto biocontrolador y de promoción de crecimiento vegetal. Esta hipótesis se confirmó al encontrar altas proporciones de antagonistas potenciales en hábitats asociados a musgos (Opelt, Berg, & Berg, 2007), a especies endémicas en áreas naturales de conservación (Berg, Hartenberger, Liebminger, & Zachow, 2012) o relacionadas con hemiparásitos de plantas, como es el caso de las plantas parásitas florecientes que crecen unidas y dentro del sistema vascular de un árbol o arbusto (Zachow et al., 2009).

Los sistemas agrícolas, especialmente los monocultivos de manejo intensivo a menudo tienen una menor diversidad microbiana, con excepción de los microorganismos que estimulan la supresividad mediada por una sola comunidad microbiana. En estos casos, esta última responde al monocultivo, ejerce control biológico contra un patógeno específico y promueve el crecimiento vegetal. Tales comunidades microbianas han demostrado ser una excelente fuente de nuevos antagonistas.

De otra parte, los sistemas manejados orgánicamente contienen una alta proporción de microorganismos benéficos indígenas en comparación con los de agricultura convencional. Esto se demostró en cultivos de vid en los que *Aureobasidium pullulans*, un hongo biocontrolador capaz de detoxificar el cobre, se presentó de forma más abundante en las plantas manejadas orgánicamente que en aquellas manejadas con prácticas convencionales (Schmid, Moser, Müller, & Berg, 2011).

En sistemas agrícolas de zonas de desérticas, los suelos áridos presentan beneficios en su potencial microbiano que promueven la diversidad y la salud de las plantas. En dicho suelo se evidenció una mayor diversidad microbiana que derivó en plantas más saludables, aunque se observó una pérdida de bacterias extremófilas (Köberl, Müller, Ramadan, & Berg, 2011). De hecho, después de una actividad agrícola de largo

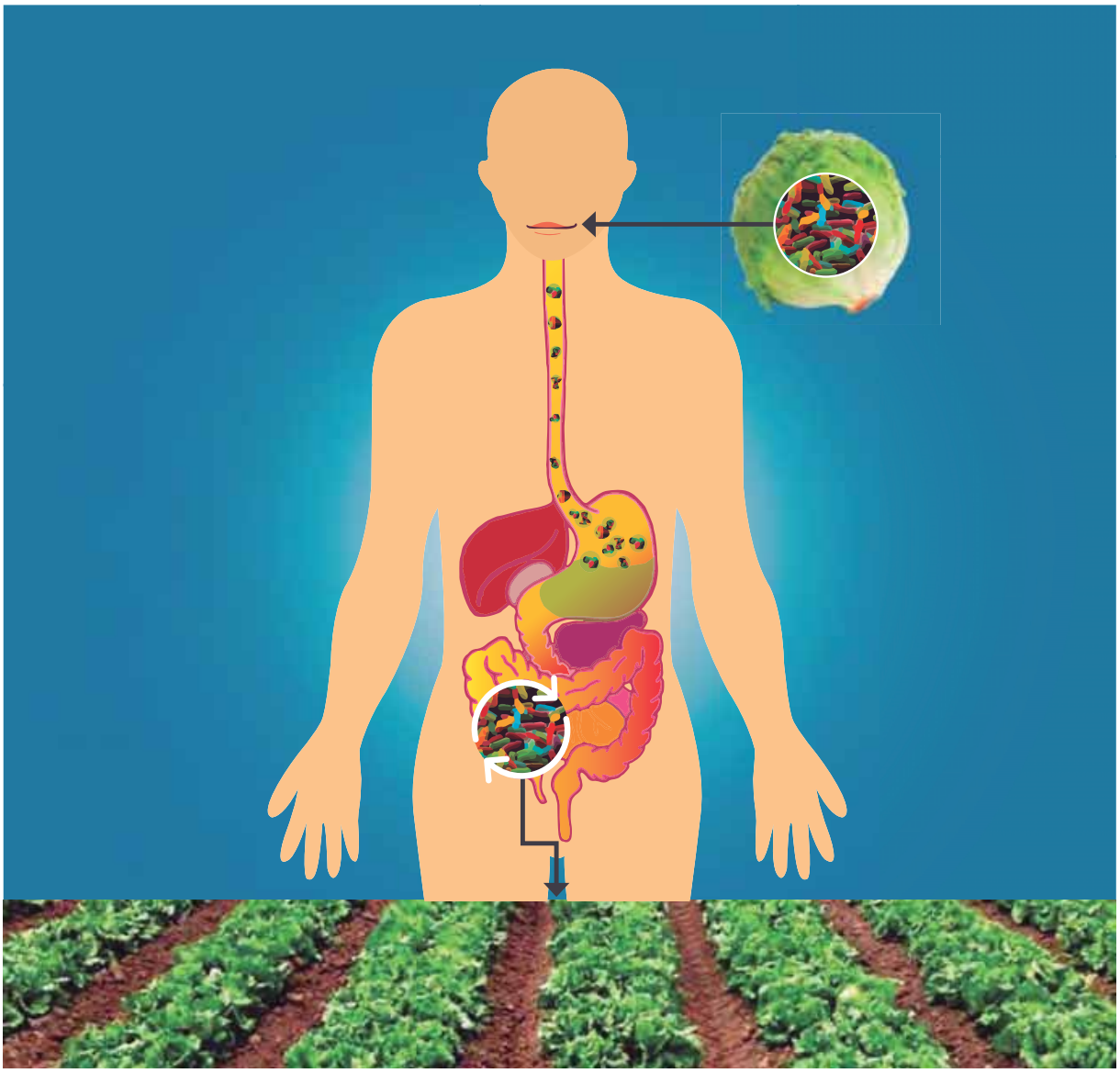


Figura 4.3. Vegetales y humanos: microbiomas compartidos.

Fuente: Elaboración propia

plazo en suelo desértico, se observaron cambios drásticos en las comunidades bacterianas. Por otra parte, en líquenes se demostró que estos organismos simbióticos (holobiontes) de larga vida a menudo se adaptan a condiciones abióticas extremas y albergan una alta proporción de antagonistas para protegerse contra parásitos fúngicos (Grube, Cardinale, De Castro, Müller, & Berg, 2009).

Las evaluaciones de riesgos son actualmente uno de los mayores obstáculos en el registro de bioproductos, ya que son estudios costosos que requieren mucho tiempo y, con frecuencia, resultan ineficientes si no se consideran las características específicas de cada bioplaguicida. Para resolver este problema, se requiere una comunicación intensiva entre la administración, la industria y la investigación. Sin embargo, se espera que las nuevas herramientas que influyen en este campo conduzcan no solo a un mayor número de bioproductos registrados, sino también a prevenir brotes de patógenos oportunistas que a veces se ocultan en los productos que contienen antagonistas (Berg et al., 2005).

Además de estas nuevas herramientas, las técnicas de secuenciación de nueva generación utilizadas para el

estudio de los microbiomas permiten 1) detectar factores potenciales de patogenicidad en los bioplaguicidas y su resistencia a antibióticos a nivel genómico, 2) analizar el modo de acción y la participación de metabolitos mediante estudios transcriptómicos, 3) detectar metabolitos bioactivos a nivel genómico y transcriptómico y 4) estudiar el comportamiento de cepas biocontroladoras en el medioambiente con bibliotecas metagenómicas o de amplicones.

Un ejemplo de lo anterior se presenta con la secuenciación del genoma y los estudios transcriptómicos de *Stenotrophomonas rhizophila* (bacteria de protección contra el estrés osmótico), gracias a los cuales se logró optimizar los procesos de producción masiva, se identificaron nuevos modos de acción y se definieron factores de riesgo. Esta especie bacteriana tiene un gran potencial debido a su capacidad para promover el crecimiento de las plantas y para proteger las raíces contra factores bióticos y abióticos (Egamberdieva et al., 2011). Mediante diversas técnicas convencionales se han estudiado antibióticos, enzimas líticas y sustancias osmoprotectoras producidas por esta especie (Roder, Hoffmann, Hagemann, & Berg, 2005; Ryan et al., 2009), pero gracias al enfoque transcriptómico se han determinado nuevos mecanismos asociados con el estrés osmótico, como la producción y la excreción de glucosil-glicerol (GG) (Alavi, Starcher, Zachow, Müller, & Berg, 2013).

Estos resultados han generado no solo un gran valor para el registro del bioplaguicida basado en dicho microorganismo, sino que a su vez han demostrado que *S. rhizophila* ejerce una interacción planta-microorganismo beneficiosa. Dicha interacción fue confirmada utilizando genómica comparativa, transcriptómica y estudios fisiológicos, procedimientos en los cuales se compararon las siguientes cepas de *Stenotrophomonas*: *S. maltophilia* (patógeno resistente a múltiples fármacos), *S. maltophilia* R551-3 y *S. rhizophila* DSM14405T (ambos agentes biocontroladores) (Alavi, Starcher, Thallinger, Zachow, Muller, & Berg, 2014). Como resultado de este estudio, se encontró un alto grado de similitud de la secuencia entre los genomas de las tres cepas. Sin embargo, a pesar de la notable similitud en los factores potencialmente responsables de la invasión al hospedero y de la resistencia a antibióticos, no se encontraron factores de virulencia ni proteínas de choque térmico en la cepa *S. rhizophila* asociada a la planta. Sí se encontraron, en cambio, genes únicos para la síntesis y el transporte de la espermidina (sustancia que protege a las plantas), así como enzimas degradantes de la pared celular y genes de tolerancia a la elevada salinidad (Alavi et al., 2014). Para el caso del patógeno humano oportunista *Stenotrophomonas maltophilia*, se encontraron potenciales factores de patogenicidad y se establecieron diferencias significativas entre ambas especies (Alavi et al., 2014).

El complejo biocontrol de *Ralstonia solanacearum*, patógeno de solanáceas

Como se ha mencionado anteriormente, la eficacia de los agentes de control biológico contra patógenos en el campo depende no solo de la capacidad antagonista del inóculo, sino de las interacciones de este con la planta, con la comunidad microbiana nativa, con las características fisicoquímicas del suelo y con las condiciones medioambientales (temperatura, humedad, etc.) en las que se desarrolla la planta. De hecho, productos comercializados que han mostrado previamente una alta eficacia biocontroladora en ensayos de invernadero, cuando se prueban en el campo no presentan los mismos efectos, factor que ha causado gran escepticismo entre los productores (Xue et al., 2009).

El problema radica en que su actividad se ve restringida ante determinadas especies o variedades cultivo, ante diferentes tipos de suelo e incluso frente a cepas específicas del patógeno, dada la diversidad genética que algunos de ellos presentan (*i. e.*, *Ralstonia solanacearum*) (Jackson, 2009). Además, aún es escaso el conocimiento que existe sobre el efecto que ejercen los agentes de control biológico sobre la microbiota asociada a la raíz y, por ende, sobre la planta. Los estudios del microbioma son, por tanto, esenciales para determinar la naturaleza de dichas interacciones y, así, desarrollar productos de biocontrol eficaces ante diferentes condiciones.

Previamente a la aparición de las técnicas de secuenciación masiva u ómica, los estudios sobre

la estructura de las comunidades microbianas se realizaban mediante técnicas convencionales de conteo, con el uso de medios específicos de cultivo (Tan et al., 2006). Si bien solo el 1 % de los organismos presentes en el suelo o asociados a las plantas son cultivables en la actualidad (Bakken, 1997), las técnicas independientes de cultivo son estrictamente necesarias para tener una visión más representativa de las comunidades microbianas.

Las técnicas de huella genética —electroforesis en gel con gradiente de desnaturalización (DGGE, por su sigla en inglés) y polimorfismos en la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP, por su sigla en inglés)— han demostrado ser muy útiles en los estudios del microbioma. Gracias a ellas, se ha podido demostrar la capacidad del agente de biocontrol para establecerse en la rizosfera (rizocompetencia), sus habilidades antagonistas y su extraordinario impacto sobre las comunidades microbianas presentes, asimismo se ha logrado evidenciar el destino de un agente patógeno en respuesta a la presencia del antagonista. No obstante, estas técnicas tienen algunas limitaciones, ya que solo determinan la presencia de las poblaciones más abundantes (> 1 %) (Muyzer & Smalla, 1998). Ahora bien, si es posible identificar poblaciones concretas de organismos mediante la escisión de la banda pertinente y su posterior clonado y secuenciado, logísticamente no se puede identificar a la comunidad en su conjunto. Es por esta razón que las técnicas ómicas y las de secuenciación de nueva generación, al tener este poder, abren la puerta a una nueva era que da la oportunidad de conocer con mayor profundidad e identificar en mayor medida los grupos de microorganismos presentes, la forma como interactúan entre ellos y las funciones que cumplen en el microuniverso del suelo.

Ralstonia solanacearum

Ralstonia solanacearum (*Rs*), la pesadilla de las solanáceas, produce la marchitez bacteriana o pudrición parda, enfermedad infecciosa que afecta diversos cultivos de gran importancia económica (Yabuuchi, Kosako, Yano, Hotta, & Nishiuchi, 1995). Dicha enfermedad es más severa en zonas tropicales o subtropicales, aunque también existen variantes del patógeno que se han adaptado a temperaturas templadas (Cellier & Prior, 2010). La bacteria invade la raíz de la planta hasta llegar al xilema, donde se propaga bloqueando los haces vasculares, lo que se traduce en síntomas de marchitez y, en su estado más avanzado, en la muerte de la planta (Jackson, 2009).

Este patógeno tiene un amplio rango de huéspedes y es capaz de infectar 44 familias diferentes de plantas (Hayward, 1991). Esta característica, junto con otras como su capacidad para colonizar arvenses (hospederos intermediarios) y su habilidad para sobrevivir por largos periodos de tiempo tanto en hábitats terrestres (Grey & Steck, 2001) como acuáticos (Van Elsas, Kastelein, De Vries, & Van Overbeek, 2001), muchas veces en un estado de latencia no cultivable (Caitilyn, Prior, & Hayward, 2005), hacen de *Ralstonia* un patógeno especialmente difícil de erradicar. De hecho, la raza 3 de *Rs* (que incluye cepas que atacan la papa, el tomate y el geranio) es considerada un patógeno de cuarentena a nivel mundial y, en Estados Unidos, es considerada como patógeno de interés en agrobioterrorismo (Jackson, 2009; Swanson, Yao, Tans-Kersten, & Allen, 2005). Debido a tales características, la mayoría de los intentos por contrarrestar esta enfermedad no han sido completamente satisfactorios. Gran parte de dichos intentos se han focalizado en la búsqueda de plantas resistentes (Bhatti et al., 2011), en diferentes estrategias de cultivo (rotación de cultivos y uso de compost, entre otros), en el uso de antibacterianos (estreptomicina) y de microorganismos biocontroladores (Nion & Toyota, 2015).

El uso de agentes de biocontrol y de otras estrategias para lograr suelos supresivos frente a dicho patógeno se presenta como una alternativa plausible, a la vez que respetuosa con el medioambiente. En el caso de *Rs*, se han realizado numerosos estudios en las últimas décadas con el fin de encontrar potenciales biocontroladores para contrarrestarlo. La mayoría de los estudios se basan en la selección de antagonistas naturales mediante la realización de un tamizaje previo (con pruebas de antagonismo *in vitro*), para luego probar su eficacia *in vivo* con ensayos en invernadero (Aliye, Fininsa, & Hiskias, 2008; Nguyen & Ranamukhaarachchi, 2010; Ramesh, Joshi, & Ghanekar, 2009) y en campo (Guo et al., 2004; Hu, Li, & He, 2010).

El uso de cepas no virulentas por conversión fenotípica *in vitro* también ha resultado ser efectivo en ensayos de invernadero (Nakahara, Mori, Sadakari, Matsusaki, & Matsuzoe, 2016). Por otra parte, Götz et al. (2006) demostraron que la eficacia de los agentes de biocontrol no dependía solo de su capacidad antagonista frente al patógeno, sino también de otros aspectos fisiológicos. Uno de ellos, bastante importante, es la habilidad para colonizar la rizosfera o rizocompetencia, factor clave para hacer frente a los patógenos de la raíz (Lugtenberg et al., 2002), ya que para desplazar al patógeno o provocar cambios en el microbioma de la rizosfera es necesario antes colonizarla. En consecuencia, además de seleccionar agentes de biocontrol que sean rizocompetentes, es necesario determinar qué métodos de inoculación son los más adecuados para que estos microorganismos se establezcan con éxito en la rizosfera o en las partes de la planta que se desean tratar. Para conocer la capacidad rizocompetente, los ensayos realizados no solo se focalizaron en determinar la presencia del antagonista mediante técnicas de cultivo *in vitro* (conteo de bacterias), sino también en el uso de técnicas independientes de cultivo. De esta forma, se revelaron los patrones de colonización (GFP-CSLM, *green fluorescent protein aided confocal laser scanning microscope*), así como la capacidad del antagonista para establecerse en la rizosfera y modular su composición microbiana.

En el estudio de Götz et al. (2006), gracias a la combinación de técnicas dependientes e independientes de cultivo, se pudo comprobar la capacidad rizocompetente de dos cepas antagonistas de *Rs* (*Pseudomonas putida* PRD16 y *Enterobacter cowanii* PRF116) en plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill., cv. Money-maker) y la eficacia del tipo de inoculación. En las huellas moleculares obtenidas por DGGE, que muestran la estructura de la comunidad microbiana estudiada, se pudo apreciar claramente en el primer muestreo (ocho días tras la inoculación de las semillas) las bandas o ribotipos que corresponden a los antagonistas, las cuales se hicieron muy débiles o llegaron a desaparecer en los muestreos posteriores.

No obstante, cuando las bacterias fueron inoculadas en la raíz, la bacteria antagonista *P. putida* presentó un mayor número de unidades formadoras de colonia (UFC) en la rizosfera, además de causar fuertes cambios estructurales en las comunidades de *Pseudomonas spp.* y de betaproteobacterias. En general, este estudio demostró que el tipo de inoculación afecta el proceso de colonización de la raíz llevado a cabo por las bacterias: son más adecuadas las inoculaciones en la raíz que las realizadas en semillas (presembrado). Existen otros estudios en los que el antagonista (*Ralstonia pickettii* QL-A6) se inoculó directamente en el tallo (10^5 UFC), con lo cual se logró reducir la incidencia de la enfermedad en un 71 %, frente al 53 % que se obtuvo cuando el antagonista fue inoculado en el suelo (10^9 UFC) (Wei et al., 2013).

Xue et al. (2009) también demostraron la capacidad de una cepa antagonista para colonizar eficientemente la rizosfera de tomate, la cual fue detectada por DGGE incluso 27 días después de su última inoculación, tiempo en el cual provocó fuertes cambios en la estructura de la comunidad bacteriana de la rizosfera. La cepa bacteriana XY21 de *Serratia marcescens* fue seleccionada como potencial agente de biocontrol de *Rs* por presentar una alta capacidad de colonización *in planta*, aun cuando su actividad antagonista *in vitro* frente a diferentes cepas de *Rs* fue variable. Esto también se demostró en otros estudios en los que, a pesar de que algunos de los aislamientos no presentaron *a priori* actividad antibacteriana *in vitro*, sí demostraron la capacidad de controlar el marchitamiento en ensayos de invernadero (Nakahara et al., 2016).

La cepa bacteriana XY21 demostró ser efectiva frente a dos cepas diferentes del patógeno *Rs* en ensayos de campo, incluso cuando fue aplicada en diferentes ambientes (dos localidades) y en diferentes tipos de cultivo (pimentón y tomate). Sin embargo, la actividad biocontroladora de *S. marcescens* en ensayos de invernadero frente a diferentes cepas de *Rs* fue variable (entre 19,5 % y 70,3 %), probablemente debido a la gran diversidad y plasticidad genética de *Ralstonia* (Jackson, 2009; Grover et al., 2006; Xue et al., 2009). Otros estudios de las comunidades microbianas también señalan fuertes cambios en la estructura de estas en respuesta a la adición de compost, gracias a lo cual se genera una disminución de *Rs*, además del establecimiento en la rizosfera de algunas bacterias dominantes relacionadas tales como *Variovorax paradoxus* y *Aquaspirillum psychrophilum*, presentes en el compost previamente a su adición (Schönfeld et al., 2003).

Estos ensayos demuestran la importancia de los estudios del microbioma, ya que el agente inoculado puede promover cambios en la composición de la microbiota de la rizosfera, cambios que, a su vez, definen la permanencia o la considerable disminución del fitopatógeno. De hecho, existen estudios que señalan que la capacidad de invasión y supervivencia del patógeno se ve reducida en ambientes con una alta diversidad microbiana (Van Elsas et al., 2012), aunque estudios previos realizados por Messiha et al. (2009, 2007) señalan que la alta diversidad bacteriana propicia en algunos casos una menor eficiencia del agente de biocontrol: en suelos con baja diversidad bacteriana, la abundancia del patógeno se ve disminuida rápidamente, posiblemente debido a que el antagonista presenta mayor rizocompetencia. Sucede lo contrario cuando el inóculo es aplicado en suelos agrícolas orgánicos, con una riqueza bacteriana mayor, en los cuales las tasas de disminución del patógeno y, por ende, el control de la enfermedad pueden ser menores, debido a una menor rizocompetencia del antagonista

Estudios realizados para evaluar la eficacia de la inoculación de plantas de tomate con diversos consorcios microbianos y en diferente concentración frente a *Rs* mostraron que el número de bacterias del consorcio estuvo correlacionado negativamente con el número de plantas en estado de marchitez (Irikiin, Nishiyama, Otsuka, & Senoo, 2006). Además, se encontró que si las combinaciones de bacterias inoculadas de este consorcio eran capaces de metabolizar un mayor espectro de fuentes de carbono, esto se correlacionaba con un retardo en el proceso de la marchitez (Irikiin et al., 2006). Lo anterior indica que probablemente comunidades con un espectro metabólico más amplio tendrían menor solapamiento de nicho (nicho por competencia de recursos) y que, al mismo tiempo, al cubrir un amplio rango metabólico, probablemente el nicho de alguna de las cepas se solaparía con el del patógeno, lo cual impediría que este colonice la raíz.

Wei et al. (2015) realizaron un estudio sobre las redes tróficas y la diversidad bacteriana en relación con la capacidad invasiva de *Rs*, y demostraron que al enfrentar con el patógeno diferentes combinaciones de cepas no virulentas de *R. solanacearum*, en ensayos *in vitro* y en invernadero, los modelos de redes tróficas resultaron tener una mejor capacidad de predicción que los basados en la diversidad en los ensayos desarrollados en microcosmos. No obstante, en los ensayos *ad planta*, una alta diversidad microbiana estuvo directamente correlacionada con una mayor resistencia a la invasión del patógeno. De igual manera, la estructura de las redes tróficas también permitió predecir la capacidad invasiva de *Rs*. En dicha estructura, una alta conectividad y un bajo anidamiento de las comunidades residentes estuvieron asociados con una resistencia a la capacidad invasiva del patógeno. Por otra parte, comunidades muy anidadas fueron más vulnerables a la invasión y dispersión del patógeno, quizás porque estas presentaron una menor estabilidad. Wei et al. (2015) también sugieren que la relación entre una alta diversidad y una menor capacidad invasiva del patógeno puede estar condicionada por una mayor capacidad rizocompetente de las bacterias biocontroladoras o por la inducción de resistencia sistémica en la planta.

Estudios recientes realizados por Elsayed, Nour, Jacquiod, Sørensen y Smalla (2017), quienes incorporaron las ciencias ómicas como herramienta para investigar el efecto de los agentes de biocontrol sobre la composición de las comunidades microbianas en la rizosfera y su efectividad frente al patógeno *Rs*, utilizaron endófitos como potenciales agentes de biocontrol para combatir la marchitez bacteriana en estudios *ad planta* en tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill. cv. Money-maker). En este estudio, se realizó un pretratamiento de semillas y un tratamiento de las plántulas con antagonistas (STEN-215 *Pseudomonas helmanticensis*, DS2EC-299 *Pseudomonas koreensis*, AL2YTEN-142 *Pseudomonas brassicacearum*, B63 *Bacillus vallismortis* y B74 *Pseudomonas chlororaphis*) antes de su transferencia a suelo conductivo. En esta experiencia —al igual que en el estudio de Götz et al. (2006)— resultó ser más efectiva la inoculación del antagonista directamente en la raíz (cuando se aplicó en esta una suspensión bacteriana) que el tratamiento único de semillas, lo cual demuestra, una vez más, que el tipo de inoculación define en gran medida la eficacia del antagonista.

Dos de las cepas estudiadas (B63 B. *vallismortis* y AL2YTEN-142 *P. brassicacearum*) presentaron una mayor eficacia en el control biológico de *Ralstonia* (figura 4.4): solo el 20 % de las plantas tratadas

con estas presentaron síntomas de marchitamiento, frente a un 59 % de las que fueron tratadas con otras cepas. Los análisis realizados con microscopía confocal de barrido por láser (CLSM) confirmaron, además, la presencia de la cepa AL2YTEN-142 *P. brassicacearum* (marcada con *green fluorescent protein* o GFP) en la raíz e incluso en el xilema, lo cual demostró su característica endofítica (figura 4.5).

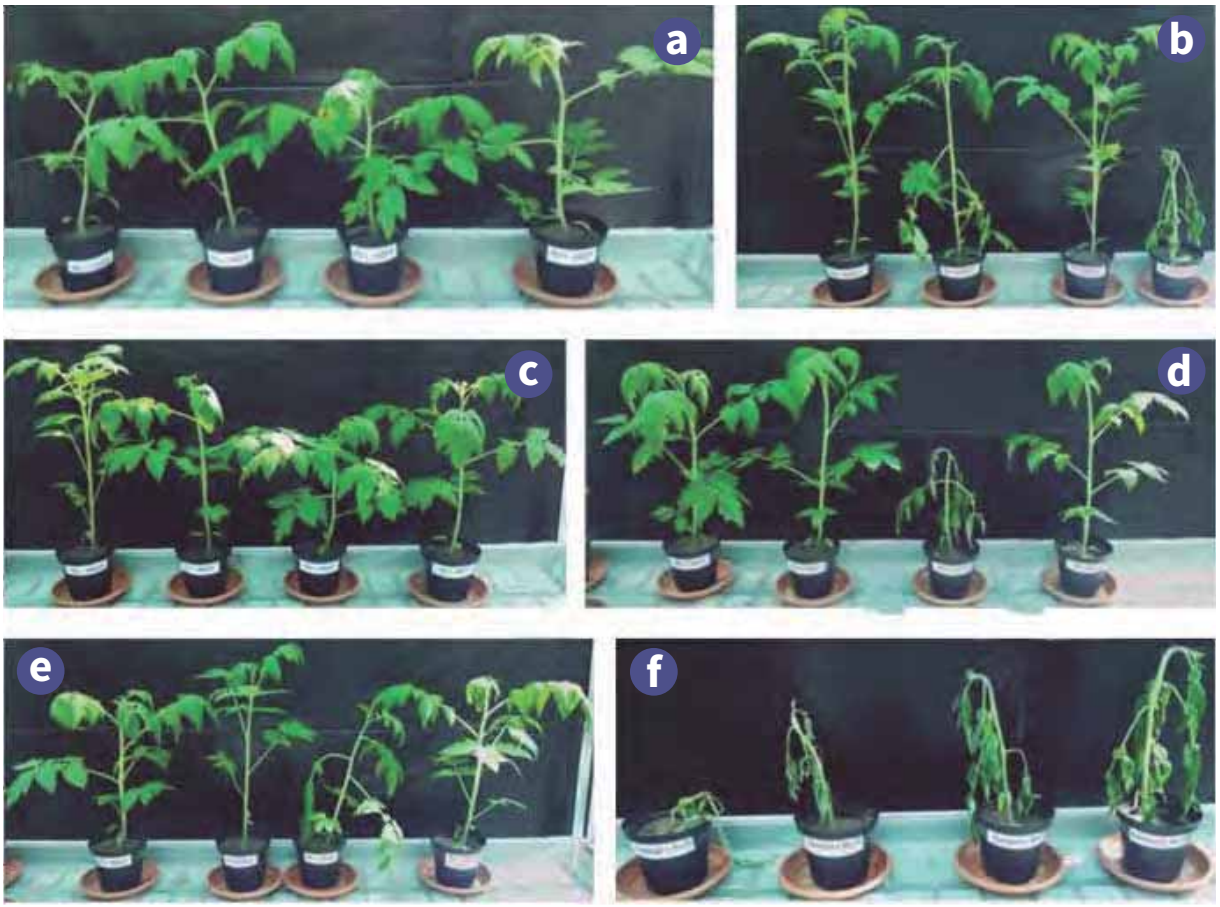


Foto: Tarek Sayed Ragab Elsayed

Figura 4.4. Síntomas de marchitamiento en plantas de tomate, 14 días después de ser infectadas con el patógeno. Plantas tratadas con los antagonistas: a. AL2YTEN-142 *P. brassicacearum*; b. B74 *P. chlororaphis*; c. B63 *B. vallismortis*; d. STEN-215 *P. helmanticensis*; e. DS2EC-299 *P. koreensis*; f. Plantas control infectadas con el patógeno *Ralstonia solanacearum* 1,7810^6 UFC/g suelo.

Los análisis de secuenciación (16s RNA gene) revelaron fuertes cambios en la comunidad bacteriana de la rizosfera en respuesta a la infección con *Ralstonia*, lo cual tuvo lugar con una disminución de la diversidad bacteriana. Asimismo, las plantas tratadas con los dos antagonistas mencionados presentaron una reducción clara del patógeno en la rizosfera (0,1 %), datos que están correlacionados con la carencia de síntomas en las plantas. Los dos antagonistas provocaron fuertes cambios en las comunidades bacterianas nativas, así como aumentos de la abundancia relativa de géneros de bacterias que podrían estar asociadas con actividades de biocontrol (*Arthrobacter*) y de promoción del crecimiento (*Sphingomonas*).

Lo anterior demuestra que tanto la concentración del inóculo de los agentes de control biológico como la forma de aplicación y los cambios en la estructura del microbioma que estos provocan están relacionados con su efectividad. De este modo, se confirma que los estudios de biocontrol deben orientarse hacia la creación de comunidades microbianas que limiten o que no permitan la invasión del patógeno, para lo cual, los estudios del microbioma son indispensables.

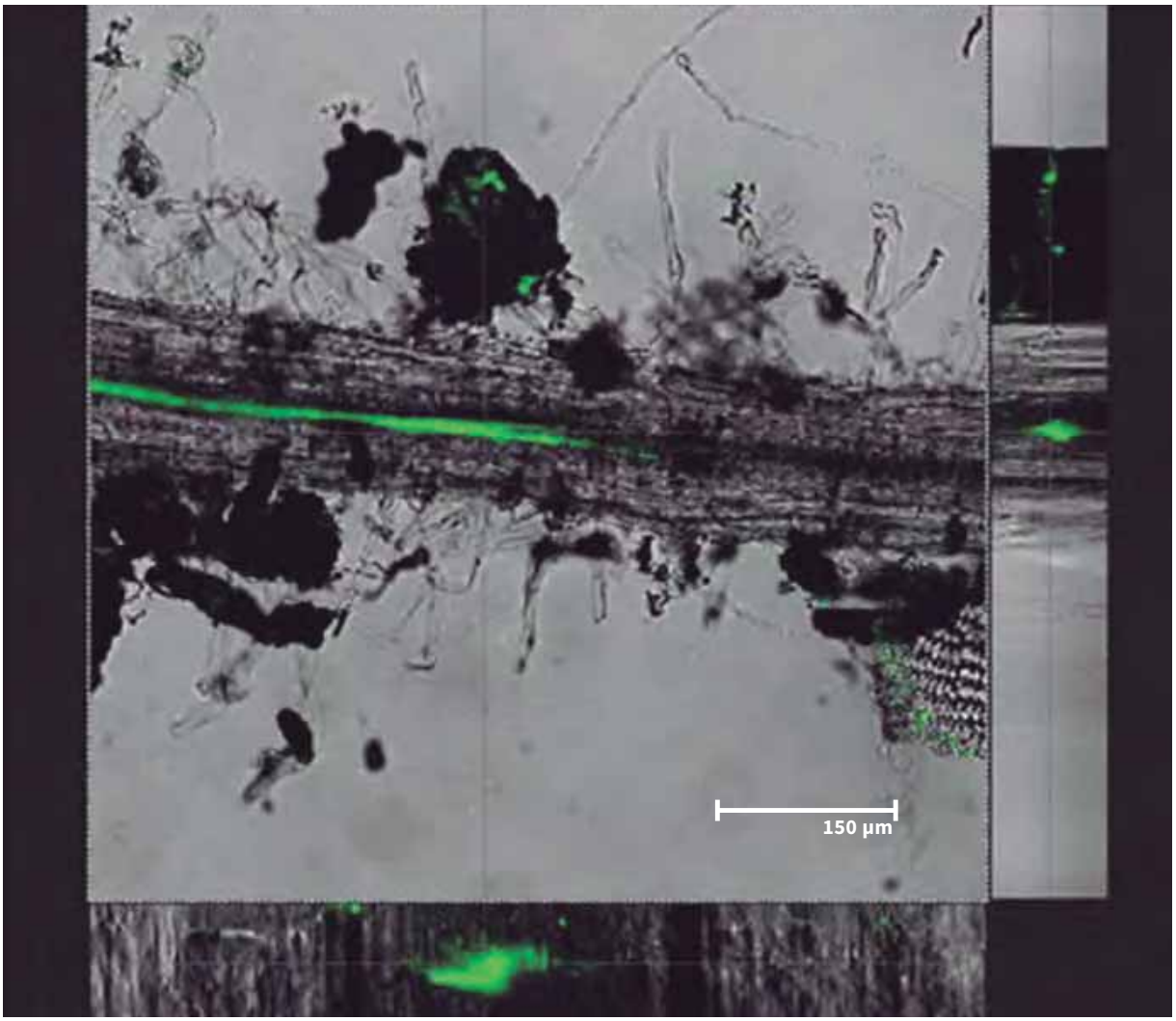


Foto: Tarek Tarek Sayed Ragab Elsayed

Figura 4.5. CLSM de la raíz de la planta del tomate infectada con *Ralstonia solanacearum*. *Ralstonia* se propaga en el sistema vascular de la planta, donde produce sustancias poliméricas extracelulares que terminan colapsando el xilema e impidiendo su buen funcionamiento, lo que produce el marchitamiento de la planta y finalmente su muerte.

Suelos supresivos como una fuente de microorganismos para el control de *Fusarium oxysporum* en uchuva

La uchuva (*Physalis peruviana* L.) es una fruta perteneciente a la familia de las solanáceas. El género al que pertenece cuenta con más de ochenta especies que se encuentran en estado silvestre y se caracterizan porque sus frutos están encerrados dentro de un cáliz o capacho. *P. peruviana* es la especie más conocida de este género y se caracteriza por tener un fruto azucarado y un buen contenido de vitaminas A y C, además de hierro y fósforo (Corporación Colombia Internacional, 2007). Es originaria de los Andes y se cultiva principalmente en Perú, Ecuador y Colombia. Debido a la demanda de esta fruta en los mercados internacionales, su cultivo se ha extendido a otros países del continente (p. ej., Chile y Brasil) y de otros continentes (India, Zimbabue, Kenia, Australia, Nueva Zelanda y Sudáfrica) (Fischer, Almanza-

Merchán, & Miranda, 2014). En Colombia, los principales departamentos con mayor producción de uchuva son Boyacá, Cundinamarca, Antioquia y Nariño (Arias, Gómez, Suárez, & Rendón, 2015), los cuales han logrado posicionarla como uno de los frutos frescos de exportación más importantes del mercado nacional, con los que se han obtenido cerca de 23,5 millones de dólares en exportaciones durante el periodo de enero a diciembre de 2015 (Redacción Economía, 2016).

Una de las principales dificultades del cultivo de la uchuva es la presencia del hongo *Fusarium oxysporum*, agente causal del marchitamiento vascular (Fischer et al., 2014; González & Barrero, 2011), que ha llevado a la disminución de la producción en las regiones de Cundinamarca, Boyacá (Fischer et al., 2014; González & Barrero, 2011) y Antioquia, con pérdidas de más del 50 % (Smith 2012). Esta enfermedad se manifiesta con la obstrucción de los haces vasculares, lo cual se traduce en la pérdida de turgencia de las hojas, debilitamiento y clorosis, que llevan a la muerte total de las plantas (Armstrong & Armstrong, 1981; Balaguera, Ramírez, & Herrera, 2014; González & Barrero, 2011; Obregón, Lancheros, Forero de La-Rotta, Miranda, & Chávez, 2007). La principal limitante para el control de esta enfermedad es la presencia del patógeno en el suelo o en los residuos de las cosechas infectadas, así como su persistencia en suelo debido a su capacidad de formar esporas de resistencia o clamidosporas (Michielse & Rep, 2009; Zacky & Ting, 2013), las cuales germinan al entrar en contacto con exudados de las raíces de las plantas hospederas (Haglund & Kraft, 2001). Además, este hongo presenta una gran versatilidad fisiológica, lo que lo hace un microorganismo cosmopolita (Beckman, 1987; Gordon & Martyn, 1997).

Dentro de los métodos de control, se ha utilizado la rotación de cultivos, que no ha sido completamente efectiva debido a que las clamidosporas sobreviven mucho tiempo en el suelo. Se ha usado la fumigación del suelo, que suministra una buena intervención inicial, pero la recolonización aparece muy rápidamente. El uso de compost o compost enriquecido con microorganismos seleccionados también ha sido utilizado, pero infortunadamente, en muchos casos, sin resultados satisfactorios (Garibaldi, Gilardi, & Gullino, 2004; Pera & Calvet, 1989; Szczech, Rondomański, Brzeski, Smolińska, & Kotowski, 1993). Así, pues, encontrar estrategias que muestren efectividad y reproducibilidad para el control de este patógeno, y que sean de fácil adopción por los agricultores, es uno de los grandes retos en la investigación agrícola del cultivo de uchuva en Colombia.

Una de las posibles alternativas para el control de *F. oxysporum* es la búsqueda de suelos que por sus características biológicas o no biológicas eviten el desarrollo de la enfermedad: suelos supresivos. En el caso del control biológico, la identificación de suelos supresivos puede guiar la búsqueda de potenciales organismos o comunidades controladoras. Estrategias como esta han generado resultados promisorios en otros patosistemas, por ejemplo, en cultivos de *Musa acuminata*, en cuyos suelos con potencial de supresividad se logró reducir la población de *F. oxysporum* f. sp. *cubense* en un 86 % (Shen et al., 2015); y también, más recientemente, en cultivos de *Lycopersicon esculentum* cv. Chourouk, gracias a cuyos suelos se logró controlar la incidencia del marchitamiento producido por *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (Kouki et al., 2012).

El primer paso para el estudio de este tipo de suelos fue identificar aquellas regiones o zonas geográficas donde se observaba el fenómeno de supresividad. Estudios realizados por Corpoica identificaron varias regiones en el sur del país (Nariño) donde la incidencia de los síntomas en uchuva asociados a *F. oxysporum* fue más baja que la observada en otras zonas del país. Estos suelos con menor incidencia fueron, entonces, una interesante alternativa para identificar las razones bióticas y abióticas implicadas en reducir la incidencia del patógeno, y fueron también un punto de partida para intentar replicar este fenómeno de supresividad en otras regiones del país.

Para aprovechar este fenómeno e identificar y propagar las comunidades supresivas en la raíz (ya que el rizobioma es la primera línea de defensa para controlar el desarrollo de la enfermedad), en Corpoica se realizaron estudios iniciales que permitieron el análisis del microbioma de la raíz y del suelo circundante. En dichos estudios se encontró (mediante el uso del marcador 16SrRNA) que las comunidades de bacterias asociadas a las raíces de

plantas de uchuva en distintas localidades de Nariño estaban enriquecidas con organismos cercanamente relacionados con las bacterias del filo Actinobacteria, 34 % frente a 14 % en suelo circundante (figura 4.2), mientras que los suelos circundantes presentaban un mayor número de bacterias del filo Acidobacteria 17 % frente a 7 % en rizosfera.

Por otra parte, reportes previos en remolacha han encontrado una asociación de la supresividad con la presencia de actinobacterias, comunidades supresivas enriquecidas en los mismos grupos taxonómicos (Mendes et al., 2011). Esta información llevó a varias alternativas interesantes que permitieron reproducir estas comunidades microbianas en otros suelos. Una de ellas fue mediante el trasplante de microbioma, mezclando el suelo conductivo con un 10 % del suelo supresivo. También se aislaron de forma dirigida grupos presentes en la rizosfera y se evaluaron en consorcios de 5 o 10 microorganismos, algunos de los cuales han logrado hasta el momento reducir la incidencia de la enfermedad.

Ambos trabajos se encuentran actualmente en desarrollo por el equipo de trabajo que realiza investigación sobre el control biológico de la marchitez vascular de la uchuva, en el Centro de Investigación Tibaitatá de Agrosavia.

Conclusiones y perspectivas

El aislamiento de los microorganismos biocontroladores, así como las técnicas de tamizado o *screening* para determinar su potencial antagonista, dependieron en el pasado de técnicas de cultivo, que en muchos casos condujeron a la obtención de agentes de biocontrol exitosos. Sin embargo, en repetidas ocasiones, el control obtenido ha sido inconsistente, pues aún se desconoce cómo actúan realmente estos microorganismos cuando son aplicados en campo, dada la multiplicidad de interacciones que pueden tener con la planta, con el patógeno y con la comunidad microbiana asociada, sobre la cual hay un gran desconocimiento en cuanto a los factores que determinan el éxito.

Una de las vías para lograr mayores niveles de control y consistencia con los bioinsumos basados en microorganismos ha sido el uso de técnicas independientes de cultivo y de alto rendimiento, que permiten una rápida caracterización multiómica. Su utilización ha permitido demostrar el impacto de determinados agentes de biocontrol sobre la composición de la comunidad microbiana presente en el suelo o asociada a la planta, y obtener información más detallada sobre cómo responde el microbioma de la planta a la presencia del patógeno o a los de agentes de biocontrol.

Los estudios del microbioma de plantas son una pieza clave para el desarrollo de bioproductos o para la implementación de estrategias de control biológico, por varias razones: han permitido determinar el impacto de los agentes de biocontrol sobre la composición de la comunidad microbiana, han determinado la abundancia relativa del inóculo a lo largo del tiempo, han llevado al monitoreo de los procesos de competencia que ocurren en respuesta a la introducción de agentes exógenos en el sistema y han permitido conocer el impacto ambiental de la aplicación de agentes exógenos en medios naturales y sus posibles riesgos. Gracias a esto último, se han logrado determinar las posibles repercusiones de la aplicación de agentes de biocontrol a gran escala o a lo largo de extensos periodos de tiempo.

Contar hoy en día con genomas secuenciados de macro- y microorganismos, con colecciones de cultivo y con transcriptomas y metabolomas facilita el desarrollo de sistemas modelo de microbiomas de plantas, los cuales permitirán un mayor entendimiento de las interacciones planta-microbioma y la generación de una base de conocimientos necesaria para una agricultura sostenible.

Además de las propiedades genéticas del microbioma, es importante considerar un método y una estrategia de inoculación que aseguren el éxito de su ensamblaje. Los esfuerzos para maximizar la capacidad de colonización deben asegurar que las comunidades inoculadas no sean tan agresivas, al punto que invadan los ecosistemas locales y afecten negativamente la sanidad del suelo, las plantas vecinas o los cultivos futuros. Por esta razón, para cualquier manejo de microbiomas agrícolas, hay que tener en cuenta todos los factores abióticos (temperatura, luz, acidez, nutrientes y disponibilidad de agua) y bióticos (competencia, predación, parasitismo y mutualismo) que puedan influir.

Además de considerar los factores bióticos o abióticos a la hora de aplicar los estudios de microbioma para mejorar la salud y el rendimiento de los cultivos, es muy importante considerar los efectos de las interacciones entre el genotipo del hospedero y el ambiente, la capacidad competitiva en relación con la comunidad microbiana circundante y las prácticas de manejo. Es así como el conocimiento del microbioma de la planta se convierte en una pieza clave para el desarrollo de nuevas estrategias de control biológico, pues este es un componente fundamental del fitobioma (el cual está conformado por las plantas, su medioambiente y los macro- y microorganismos asociados —que interactúan a través de mecanismos de señalización—). El conocimiento integrado y la comprensión de estos mecanismos de señalización de cada uno de los miembros del fitobioma y de las redes que se originan entre ellos son en realidad la alternativa que conducirá a nuevas estrategias tanto de control como de mejoramiento de la sanidad vegetal y de la productividad agrícola.

Agradecimientos

Los autores agradecen al equipo de investigación de AGROSAVIA que trabaja sobre el control biológico de la marchitez vascular de uchuva; en especial, a Diana García, Cindy Nayibe Mejía y Lizeth Lorena Dávila, por sus contribuciones en el tema de suelos supresivos como fuente de microorganismos para el control de *Fusarium oxysporum*.

Referencias

Abdelfattah, A., Wisniewski, M., Droby, S., & Schena, L. (2016). Spatial and compositional variation in the fungal communities of organic and conventionally grown apple fruit at the consumer point-of-purchase. *Horticulture Research*, *3*, 16047. doi:10.1038/hortres.2016.47.

Adesemoye, A. O., Torbert, H. A., & Kloepper, J. W. (2009). Plant growth-promoting rhizobacteria allow reduced application rates of chemical fertilizers. *Microbial Ecology*, *58*(4), 921-929. doi:10.1007/s00248-009-9531-y.

Agler, M. T., Ruhe, J., Kroll, S., Morhenn, C., Kim, S.-T., Weigel, D., & Kemen, E. M. (2016). Microbial hub taxa link host and abiotic factors to plant microbiome variation. *PLoS Biology*, *14*(1), 1002352. doi:10.1371/journal.pbio.1002352.

Alavi, P., Starcher, M. R., Thallinger, G. G., Zachow, C., Muller, H., & Berg, G. (2014). *Stenotrophomonas* comparative genomics reveals genes and functions that differentiate beneficial and pathogenic bacteria. *BMC Genomics*, *15*, 482. doi:10.1186/1471-2164-15-482.

Alavi, P., Starcher, M. R., Zachow, C., Müller, H., & Berg, G. (2013). Root-microbe systems: the effect and mode of interaction of Stress Protecting Agent (SPA) *Stenotrophomonas rhizophila* DSM14405(T). *Frontiers in Plant Science*, *4*, 141. doi:10.3389/fpls.2013.00141.

Alivisatos, A. P., Blaser, M. J., Brodie, E. L., Chun, M., Dangl, J. L., Donohue, T. J., ... Taha, S. A. (2015). A unified initiative to harness Earth's microbiomes. *Science 350*(6260), 507-508. doi:10.1126/science.aac8480.

Aliye, N., Fininsa, C., & Hiskias, Y. (2008). Evaluation of rhizosphere bacterial antagonists for their potential to bioprotect potato (*Solanum tuberosum*) against bacterial wilt (*Ralstonia solanacearum*). *Biological Control*, *47*(3), 282-288. doi:10.1016/j.biocontrol.2008.09.003.

Andrews, J. H. (1992). Biological control in the phyllosphere. *Annual Review of Phytopathology*, *30*, 603-635. doi:10.1146/annurev.py.30.090192.003131.

Arias, F., Gómez, L., Suárez, E., & Rendón, S. (2015). Inteligencia de mercados para la cadena de uchuva colombiana (*Physalis peruviana*). *Revista Oidles*, *9*(18). Recuperado de http://www.eumed.net/rev/oidles/18/uchuva.html.

Armstrong, G., & Armstrong, J. K. (1981). Formae speciales and races of *Fusarium oxysporum* causing wilt diseases. In P. E. Nelson, T. A. Toussoun, & R. J. Cook (Eds.), *Fusarium: diseases, biology, and taxonomy* (pp. 391-399). Pensilvania: Penn State University Press.

Badri, D. V., & Vivanco, J. M. (2009). Regulation and function of root exudates. *Plant, Cell & Environment*, 32(6), 666-681. doi:10.1111/j.1365-3040.2008.01926.x.

Bakken, L. R. (1997). Culturable and nonculturable bacteria in soil. En J. D. Van Elsas, J. T. Trevors, & E. M. H. Wellington (Eds.), *Modern soil microbiology* (pp. 47-61). Nueva York, EE. UU.: CRC Press.

Bakker, M. G., Manter, D. K., Sheflin, A. M., Weir, T. L., & Vivanco, J. M. (2012). Harnessing the rhizosphere microbiome through plant breeding and agricultural management. *Plant and Soil*, *360*(1-2), 1-13. doi:10.1007/s11104-012-1361-x.

Balaguera, L. H. E., Ramírez, L. V., & Herrera, A. (2014). Fisiología y bioquímica del fruto de uchuva (*Physalis peruviana* L.) durante la maduración y poscosecha. En C. P. Pássaro Carvalho & D. A. Moreno (Eds.), *Physalis peruviana L.: fruta andina para el mundo* (pp. 113-131). Murcia, España: Cebas - CSIC.

Barak, J. D., & Schroeder, B. K. (2012). Interrelationships of food safety and plant pathology: the life cycle of human pathogens in plants. *Annual Review of Phytopathology*, *50*, 241-266. doi:10.1146/annurev-phyto-081211-172936.

Barnard, R. L., Osborne, C. A., & Firestone, M. K. (2013). Responses of soil bacterial and fungal communities to extreme desiccation and rewetting. *The ISME Journal*, *7*(11), 2229-2241. doi:10.1038/ismej.2013.104.

Beckman, C. H. (1987). *The nature of wilt diseases of plants*. Maryland, EE. UU.: APS Press.

Berendsen, R. L., Pieterse, C. M. J., & Bakker, P. A. (2012). The rhizosphere microbiome and plant health. *Trends in Plant Science*, *17*(8), 478-486. doi10.1016/j.tplants.2012.04.001.

Berg, G. (2009). Plant–microbe interactions promoting plant growth and health: perspectives for controlled use of microorganisms in agriculture. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *84*(1), 11-18. doi:10.1007/s00253-009-2092-7.

Berg, G., Eberl, L., & Hartmann, A. (2005). The rhizosphere as a reservoir for opportunistic human pathogenic bacteria. *Environmental Microbiology*, *7*(11), 1673-1685. doi:10.1111/j.1462-2920.2005.00891.x.

Berg, G., Erlacher, A., Smalla, K., & Krause, R. (2014a). Vegetable microbiomes: is there a connection among opportunistic infections, human health and our 'gut feeling'? *Microbial Biotechnology*, *7*(6), 487-495. doi:10.1111/1751-7915.12159.

Berg, G., Grube, M., Schloter, M., & Smalla, K. (2014b). The plant microbiome and its importance for plant and human health. *Frontiers in Microbiology*, *5*, 491. doi:10.3389/fmicb.2014.00491.

Berg, G., Grube, M., Schloter, M., & Smalla, K. (2014c). Unraveling the plant microbiome: looking back and future perspectives. *Frontiers in Microbiology*, *5*, 148. doi:10.3389/fmicb.2014.00148.

Berg, G., Hartenberger, K., Liebminger, S., & Zachow, C. (2012). Antagonistic endophytes from mistletoes as bio-resource to control plant as well as clean room pathogens. *IOBC/WPRS Bulletin*, *78*, 29-32. Recuperado de https://goo.gl/QSKqM1.

Berg, G., Rybakova, D., Grube, M., & Köberl, M. (2016). The plant microbiome explored: implications for experimental botany. *Journal of Experimental Botany*, *67*(4), 995-1002. doi:10.1093/jxb/erv466.

Berg, G., & Smalla, K. (2009). Plant species and soil type cooperatively shape the structure and function of microbial communities in the rhizosphere. *FEMS Microbiology Ecology*, *68*(1), 1-13. doi:10.1111/j.1574-6941.2009.00654.x.

Berg, G., Zachow, C., Müller, H., Philipps, J., & Tilcher, R. (2013). Next-generation bio-products sowing the seeds of success for sustainable agriculture. *Agronomy*, *3*(4), 648. doi:10.3390/agronomy3040648.

Bernal, P. (10 de junio de 2016). Microbioma: el 'nuevo órgano' del cuerpo humano que compartimos con la mayoría de seres. *El Diario*. Recuperado de https://goo.gl/xVVLRw.

Bhatti, K. H., Ahmed, N.-u.-D., Shah, A., Iqbal, M., Iqbal, T., & Jiahe, W. (2011). Transgenic tobacco with rice zinc-finger gene OsLOL2 exhibits an enhanced resistance against bacterial-wilt. *Australasian Plant Pathology*, *40*(2), 133-140. doi:10.1007/s13313-010-0022-x.

Blaser, M., Bork, P., Fraser, C., Knight, R., & Wang, J. (2013). The microbiome explored: recent insights and future challenges. *Nature Reviews Microbiology*, *11*(3), 213-217. doi:10.1038/nrmicro2973.

Bloemberg, G. V., & Lugtenberg, B. J. J. (2001). Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. *Current Opinion in Plant Biology*, *4*(4), 343-350. doi:10.1016/S1369-5266(00)00183-7.

Bulgarelli, D., Rott, M., Schlaeppi, K., Ver Loren van Themaat, E., Ahmadinejad, N., Assenza, F., ... Schulze-Lefert, P. (2012). Revealing structure and assembly cues for Arabidopsis root-inhabiting bacterial microbiota. *Nature*, *488*(7409), 91-95. doi:10.1038/nature11336.

Bulgarelli, D., Schlaeppi, K., Spaepen, S., Ver Loren van Themaat, E., & Schulze-Lefert, P. (2013). Structure and functions of the bacterial microbiota of plants. *Annual Review of Plant Biology*, *64*, 807-838. doi:10.1146/annurev-arplant-050312-120106.

Busby, P. E., Peay, K. G., & Newcombe, G. (2016). Common foliar fungi of *Populus trichocarpa* modify Melampsora rust disease severity. *New Phytologist*, *209*(4), 1681-1692. doi:10.1111/nph.13742.

Busby, P. E., Soman, C., Wagner, M. R., Friesen, M. L., Kremer, J., Bennett, A., ... Dangl, J. L. (2017). Research priorities for harnessing plant microbiomes in sustainable agriculture. *PLoS Biology*, *15*(3), e2001793. doi:10.1371/journal.pbio.2001793.

Caitilyn, A., Prior, P., & Hayward, A. C. (Eds.). (2005). *Bacterial wilt disease and the Ralstonia solanacearum species complex*. Saint Paul, EE. UU.: American Phytopathological Society.

Camatti-Sartori, V., Da Silva-Ribeiro, R. T., Valdebenito-Sanhueza, R. M., Pagnocca, F. C., Echeverrigaray, S., & Azevedo, J. L. (2005). Endophytic yeasts and filamentous fungi associated with southern Brazilian apple (*Malus domestica*) orchards subjected to conventional, integrated or organic cultivation. *Journal of Basic Microbiology*, *45*(5), 397-402. doi:10.1002/jobm.200410547.

Cardenas, P. A., Cooper, P. J., Cox, M. J., Chico, M., Arias, C., Moffatt, M. F., & Cookson, W. O. (2012). Upper airways microbiota in antibiotic-naïve wheezing and healthy infants from the tropics of rural Ecuador. *PLoS One*, *7*(10), e46803. doi:10.1371/journal.pone.0046803.

Cellier, G., & Prior, P. (2010). Deciphering phenotypic diversity of *Ralstonia solanacearum* strains pathogenic to potato. *Phytopathology*, *100*(11), 1250-1261. doi:10.1094/PHYTO-02-10-0059.

Cook, R. J. (2007). Tell me again what it is that you do. *Annual Review of Phytopathology*, *45*, 1-23. doi:10.1146/annurev.phyto.45.062806.094415.

Copeland, J. K., Yuan, L., Layeghifard, M., Wang, P. W., & Guttman, D. S. (2015). Seasonal community succession of the phyllosphere microbiome. *Molecular Plant-Microbe Interactions Journal*, *28*(3), 274-285. doi:10.1094/MPMI-10-14-0331-FI.

Corporación Colombia Internacional. (2007). *Sistema de inteligencia de mercados* (Perfil producto N°. 34).

Recuperado de http://bibliotecadigital.agronet.gov.co/bitstream/11348/5287/2/2006327162612_uchuva_CCI_actualizaci%C3%B3n.pdf.

Darwin, C. (2010). Chapter I. Domestic dogs and cats. En *The variation of animals and plants under domestication* (pp. 15-48). Cambridge, Inglaterra: Cambridge University Press. doi:10.1017/CBO9780511709500.

DeAngelis, K. M., Pold, G., Topçuoğlu, B. D., Van Diepen, L. T. A., Varney, R. M., Blanchard, J. L., ... Frey, S. D. (2015). Long-term forest soil warming alters microbial communities in temperate forest soils. *Frontiers in Microbiology*, *6*. doi:10.3389/fmicb.2015.00104.

De Carvalho, M. P., Gulotta, G., Do Amaral, M. W., Lünsdorf, H., Sasse, F., & Abraham, W.-R. (2016). Coprinuslactone protects the edible mushroom *Coprinus comatus* against biofilm infections by blocking both quorum-sensing and MurA. *Environmental Microbiology*, *18*(11), 4254-4264. doi:10.1111/1462-2920.13560.

Dominguez-Bello, M. G., Costello, E. K., Contreras, M., Magris, M., Hidalgo, G., Fierer, N., & Knight, R. (2010). Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, *107*(26), 11971-11975. doi:10.1073/pnas.1002601107.

Doornbos, R. F., Van Loon, L. C., & Bakker, P. A. H. M. (2012). Impact of root exudates and plant defense signaling on bacterial communities in the rhizosphere. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, *32*(1), 227-243. doi:10.1007/s13593-011-0028-y.

Egamberdieva, D., Kucharova, Z., Davranov, K., Berg, G., Makarova, N., Azarova, T., ... Lugtenberg, B. (2011). Bacteria able to control foot and root rot and to promote growth of cucumber in salinated soils. *Biology and Fertility Soils*, *47*(2), 197-205. doi:10.1007/s00374-010-0523-3.

Elsayed, T. R., Nour, E. H., Jacquiod, S., Sørensen, S. J., & Smalla, K. (en prensa). Deciphering the complex interaction between *Ralstonia solanacearum* and antagonists during tomato wilt biocontrol: rhizosphere microbiome shifts as mode of action? *Frontiers in Microbiology*.

Elser, J. J., Bracken, M. E. S., Cleland, E. E., Gruner, D. S., Harpole, W. S., Hillebrand, H., ... Smith, J.E. (2007). Global analysis of nitrogen and phosphorus limitation of primary producers in freshwater, marine and terrestrial ecosystems. *Ecology Letters*, *10*(12), 1135-1142. doi:10.1111/j.1461-0248.2007.01113.x.

Fischer, G., Almanza-Merchán, P. J., & Miranda, D. (2014). Importancia y cultivo de la uchuva (*Physalis peruviana* L.). *Revista Brasileira de Fruticultura*, *36*(1), 01-15. doi:10.1590/0100-2945-441/13.

Friesen, M. L., Porter, S. S., Stark, S. C., Von Wettberg, E. J., Sachs, J. L., & Martínez-Romero, E. (2011). Microbially mediated plant functional traits. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, *42*, 23-46. doi:10.1146/annurev-ecolsys-102710-145039.

Fungal Barcoding. (2017). *Fungal Barcoding Database*. Recuperado de http://www.fungalbarcoding.org.

Garibaldi, A., Gilardi, G., & Gullino, M. L. (2004). First report of *Fusarium oxysporum* causing vascular wilt of lamb's lettuce (Valerianella olitoria) in italy. *Plant Disease*, *88*(1), 83-83. doi:10.1094/PDIS.2004.88.1.83C.

Gilbert, J. A., Jansson, J. K., & Knight, R. (2014). The Earth Microbiome project: successes and aspirations. *BMC Bioloy*, *12*, 69. doi:10.1186/s12915-014-0069-1.

Gilbert, J. A., Meyer, F., Jansson, J., Gordon, J., Pace, N., Tiedje, ... Knight, R. (2010). The earth microbiome project: Meeting report of the "1st EMP meeting on sample selection and acquisition" at argonne national laboratory october 6(th) 2010. *Standards in Genomic Sciences 3*,(3), 249-253. doi:10.4056/aigs.1443528.

González, C., & Barrero, M. (Eds.). (2011). *Estudio de la marchitez vascular de la uchuva para el mejoramiento genético del cultivo*. Bogotá: Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica) y Cámara de Comercio de Bogotá.

Google Académico. (s. f.). *Estadisticas*. Recuperado de https://scholar.google.com/citations?view_op=metrics_intro&hl=es#d=gs_hdr_drw&p=&u=.

Gordon, T. R., & Martyn, R. D. (1997). The evolutionary biology of *Fusarium oxysporum*. *Annual Review of Phytopathology*, *35*, 111-128. doi:10.1146/annurev.phyto.35.1.111.

Götz, M., Gomes, N. C. M., Dratwinski, A., Costa, R., Berg, G., Peixoto, ... Smalla, K. (2006). Survival of GFP-tagged antagonistic bacteria in the rhizosphere of tomato plants and their effects on the indigenous bacterial community. *FEMS Microbiology Ecology*, *56*(2), 207-218. doi:10.1111/j.1574-6941.2006.00093.x.

Grey, B. E., & Steck, T. R. (2001). The viable but nonculturable state of *Ralstonia solanacearum* may be involved in long-term survival and plant infection. *Applied and Environmental Microbiology*, *67*(9), 3866-3872. doi:10.1128/AEM.67.9.3866-3872.2001.

Grover, A., Azmi, W., Gadewar, A. V., Pattanayak, D., Naik, P. S., Shekhawat, G. S., & Chakrabarti, S. K. (2006). Genotypic diversity in a localized population of Ralstonia solanacearum as revealed by random amplified polymorphic DNA markers. *Journal of Applied Microbiology*, *101*(4), 798-806. doi:10.1111/j.1365-2672.2006.02974.x.

Grube, M., Cardinale, M., De Castro, J. V., Jr., Müller, H., & Berg, G. (2009). Species-specific structural and functional diversity of bacterial communities in lichen symbioses. *The ISME journal*, *3*(9), 1105. doi:10.1038/ismej.2009.63.

Guo, J.-H., Qi, H.-Y., Guo, Y.-H., Ge, H.-L., Gong, L.-Y., Zhang, L.-X., & Sun, P.-H. (2004). Biocontrol of tomato wilt by plant growth-promoting rhizobacteria. *Biological Control*, *29*(1), 66-72. doi:10.1016/S1049-9644(03)00124-5.

Haglund, W., & Kraft, J. (2001). Fusarium wilt. In J. M. Kraft, & F. L. Pfleger (Eds.), *Compendium of pea diseases and pests* (pp. 13-14). Saint Paul, EE. UU.: APS Press.

Haichar, F. Z., Marol, C., Berge, O., Rangel-Castro, J. I., Prosser, J. I., Balesdent, J., ... Achouak, W. (2008). Plant host habitat and root exudates shape soil bacterial community structure. *The ISME Journal*, *2*(12), 1221-1230.

Haiser, H. J., Gootenberg, D. B., Chatman, K., Sirasani, G., Balskus, E. P., & Turnbaugh, P. J. (2013). Predicting and manipulating cardiac drug inactivation by the human gut bacterium *Eggerthella lenta*. *Science*, *341*(6143), 295-298. doi:10.1126/science.1235872.

Hartmann, A., Rothballer, M., & Schmid, M. (2008). Lorenz Hiltner, a pioneer in rhizosphere microbial ecology and soil bacteriology research. *Plant and Soil 312*(1-2), 7-14. doi:10.1007/s11104-007-9514-z.

Hashem, M., Alamri, S. A., Hesham, A. E.-L., Al-Qahtani, F. M. H., & Kilany, M. (2014). Biocontrol of apple blue mould by new yeast strains: *Cryptococcus albidus* KKUY0017 and Wickerhamomyces anomalus KKUY0051 and their mode of action. *Biocontrol Science and Technology*, *24*(10), 1137-1152. doi:10.1080/09583157.2014.926857.

Hayward, A. C. (1991). Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas Solanacearum*. *Annual Review of Phytopathology*, *29*, 65-87. doi:10.1146/annurev.py.29.090191.000433.

Heckman, D. S., Geiser, D. M., Eidell, B. R., Stauffer, R. L., Kardos, N. L., & Hedges, S. B. (2001). Molecular evidence for the early colonization of land by fungi and plants. *Science*, *293*(5532), 1129-1133. doi:10.1126/science.1061457.

Holden, N., Pritchard, L., & Toth, I. (2009). Colonization outwith the colon: plants as an alternative environmental reservoir for human pathogenic enterobacteria. FEMS *Microbiology Review*, *33*(4), 689-703. doi:10.1111/j.1574-6976.2008.00153.x.

Hu, H. Q., Li, X. S., & He, H. (2010). Characterization of an antimicrobial material from a newly isolated *Bacillus amyloliquefaciens* from mangrove for biocontrol of Capsicum bacterial wilt. *Biological Control*, *54*(3), 359-365. doi:10.1016/j.biocontrol.2010.06.015.

Human Microbiome Project Consortium. (2012). Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature*, *486*(7402), 207-214. doi:10.1038/nature11234.

Irikiin, Y., Nishiyama, M., Otsuka, S., & Senoo, K. (2006). Rhizobacterial community-level, sole carbon source utilization pattern affects the delay in the bacterial wilt of tomato grown in rhizobacterial community model system. *Applied Soil Ecology*, *34*(1), 27-32. doi:10.1016/j.apsoil.2005.12.003.

Jackson, R. W. (Ed.). (2009). *Plant pathogenic bacteria: Genomics and molecular biology*. Norfolk, Reino Unido: Caister Academic Press.

Kaestli, M., Schmid, M., Mayo, M., Rothballer, M., Harrington, G., Richardson, L., ... Currie, B. J. (2012). Out of the ground: aerial and exotic habitats of the melioidosis bacterium Burkholderia pseudomallei in grasses in Australia. *Environmental Microbiology*, *14*(8), 2058-2070. doi:10.1111/j.1462-2920.2011.02671.x.

Kembel, S. W., O'Connor, T. K., Arnold, H. K., Hubbell, S. P., Wright, S. J., & Green, J. L. (2014). Relationships between phyllosphere bacterial communities and plant functional traits in a neotropical forest. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *111*(38), 13715-13720. doi:10.1073/pnas.1216057111.

Köberl, M., Müller, H., Ramadan, E. M., & Berg, G. (2011). Desert farming benefits from microbial potential in arid soils and promotes diversity and plant health. *PLoS One*, *6*(9), e24452. doi:10.1371/journal.pone.0024452.

Köberl, M., Schmidt, R., Ramadan, E. M., Bauer, R., & Berg, G. (2013). The microbiome of medicinal plants: diversity and importance for plant growth, quality and health. *Frontiers in Microbiology*, *4*, 400. doi:10.3389/fmicb.2013.00400.

Kouki, S., Saidi, N., Ben Rajeb, A., Brahmi, M., Bellila, A., Fumio, M., ... Ouzari, H. (2012). Control of *Fusarium* wilt of tomato caused by *Fusarium oxysporum* F. sp. *radicis-lycopersici* using mixture of vegetable and *Posidonia oceanica* compost. *Applied and Environmental Soil Science*, *2012*, 1-11. doi:10.1155/2012/239639.

Leach, J. E., Triplett, L. R., Argueso, C. T., & Trivedi, P. (2017). Communication in the Phytobiome. *Cell*, *169*(4), 587-596. doi:10.1016/j.cell.2017.04.025.

Lebeis, S. L. (2015). Greater than the sum of their parts: characterizing plant microbiomes at the community-level. *Current Opinion in Plant Biology*, *24*, 82-86. doi:10.1016/j.pbi.2015.02.004.

Lebeis, S. L., Rott, M., Dangl, J. L., & Schulze-Lefert, P. (2012). Culturing a plant microbiome community at the cross-Rhodes. *New Phytologist*, *196*(2), 341-344. doi:10.1111/j.1469-8137.2012.04336.x.

Lehman, R., Cambardella, C., Stott, D., Acosta-Martinez, V., Manter, D., Buyer, J., ... Karlen, D. (2015). Understanding and enhancing soil biological health: The solution for reversing soil degradation. *Sustainability*, *7*(1), 988-1027. doi:10.3390/su7010988.

Leveau, J. H. J. (2007). The magic and menace of metagenomics: prospects for the study of plant growth-promoting rhizobacteria. *European Journal of Plant Pathology*, *119*(3), 279-300. doi:10.1007/s10658-007-9186-9.

Lindow, S. E., & Brandl, M. T. (2003). Microbiology of the Phyllosphere. *Applied and Environmental Microbiology*, *69*(4), 1875-1883. doi:10.1128/aem.69.4.1875-1883.2003.

Lugtenberg, B., & Kamilova, F. (2009). Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria. *Annual Review of Microbiology*, *63*, 541-556. doi:10.1146/annurev.micro.62.081307.162918.

Lugtenberg, B. J. J., Chin-A-Woeng, T. F. C., & Bloemberg, G. V. (2002). Microbe–plant interactions: principles and mechanisms. *Antonie Van Leeuwenhoek*, *81*(1-4), 373-383. doi:10.1023/A:1020596903142.

Lundberg, D. S., Lebeis, S. L., Paredes, S. H., Yourstone, S., Gehring, J., Malfatti, S., ... Dangl, J. L. (2012). Defining the core Arabidopsis thaliana root microbiome. *Nature 488*, 86-90. doi:10.1038/nature11237.

Lyte, M. (2013). Microbial endocrinology in the microbiome-gut-brain axis: How bacterial production and utilization of neurochemicals influence behavior. *PLoS Pathogens*, *9*(11), e1003726. doi:10.1371/journal.ppat.1003726.

Mann, C. (1991). Lynn Margulis: Science's unruly earth mother. *Science*, *252* (5004), 378-381. doi:10.1126/science.252.5004.378.

Massart, S., Martínez-Medina, M., & Jijakli, M. H. (2015). Biological control in the microbiome era: Challenges and opportunities. *Biological Control*, *89*, 98-108. doi:10.1016/j.biocontrol.2015.06.003.

Mendes, L. W., Kuramae, E. E., Navarrete, A. A., Van Veen, J. A., & Tsai, S. M. (2014). Taxonomical and functional microbial community selection in soybean rhizosphere. *The ISME Journal*, *8*(8), 1577-1587. doi:10.1038/ismej.2014.17.

Mendes, L. W., Tsai, S. M., Navarrete, A. A., De Hollander, M., Van Veen, J. A., & Kuramae, E. E. (2015). Soil-borne microbiome: Linking diversity to function. *Microbial Ecology*, *70*(1), 255-265. doi:10.1007/s00248-014-0559-2.

Mendes, R., Kruijt, M., De Bruijn, I., Dekkers, E., Van der Voort, M., Schneider, J. H. M., ... Raaijmakers, J. M. (2011). Deciphering the rhizosphere microbiome for disease-suppressive bacteria. *Science*, *332*(6033), 1097-1100. doi:10.1126/science.1203980.

Menzies, J. D. (1959). Occurrence and transfer of abiological factor in soil that suppresses potato scab. *Phytopathology*, *49*, 648-652.

Messiha, N. A. S., Van Bruggen, A. H. C., Franz, E., Janse, J. D., Schoeman-Weerdesteijn, M. E., Termorshuizen, A. J., & Van Diepeningen, A. D. (2009). Effects of soil type, management type and soil amendments on the survival of the potato brown rot bacterium Ralstonia solanacearum. *Applied Soil Ecology*, *43*(2-3), 206-215. doi:10.1016/j.apsoil.2009.07.008.

Messiha, N. A. S., Van Diepeningen, A. D., Farag, N. S., Abdallah, S. A., Janse, J. D., & Van Bruggen, A. H. C. (2007). *Stenotrophomonas maltophilia*: a new potential biocontrol agent of *Ralstonia solanacearum*, causal agent of potato brown rot. *European Journal of Plant Pathology*, *118*(3), 211-225. doi:10.1007/s10658-007-9136-6.

Michielse, C. B., & Rep, M. (2009). Pathogen profile update: *Fusarium oxysporum*. *Molecular Plant Pathology*, *10*(3), 311-324. doi:10.1111/j.1364-3703.2009.00538.x.

Morriën, E., Hannula, S. E., Snoek, L. B., Helmsing, N. R., Zweers, H., de Hollander, M., ... Van der Putten, W. H. (2017). Soil networks become more connected and take up more carbon as nature restoration progresses. *Nature Communications*, *8*, 14349. doi:10.1038/ncomms14349.

Mueller, U. G., & Sachs, J. L. (2015). Engineering microbiomes to improve plant and animal health. *Trends in Microbiology*, *23*(10), 606-617. doi:10.1016/j.tim.2015.07.009.

Muyzer, G., & Smalla, K. (1998). Application of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) and temperature gradient gel electrophoresis (TGGE) in microbial ecology. *Antonie Van Leeuwenhoek*, *73*(1), 127-141. doi:10.1023/A:1000669317571.

Nakahara, H., Mori, T., Sadakari, N., Matsusaki, H., & Matsuzoe, N. (2016). Selection of effective non-pathogenic *Ralstonia solanacearum* as biocontrol agents against bacterial wilt in eggplant. *Journal of Plant Diseases and Protection*, *123*(3), 119-124. doi:10.1007/s41348-016-0019-y.

NCBI. (2017). *GenBank*. Recuperado de https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/.

Nguyen, M. T., & Ranamukhaarachchi, S. L., (2010). Soil-borne antagonists for biological control of bacterial wilt disease caused by *Ralstonia solanacearum* in tomato and pepper. *Journal of Plant Pathology*, *92*(2), 395-405. doi:10.4454/jpp.v92i2.183.

Nion, Y. A., & Toyota, K. (2015). Recent trends in control methods for bacterial wilt diseases caused by *Ralstonia solanacearum*. *Microbes Environments*, *30*(1), 1-11. doi:10.1264/jsme2.ME14144.

Nogales, A., Nobre, T., Valadas, V., Ragonezi, C., Döring, M., Polidoros, A., Arnholdt-& Schmitt, B. (2016). Can functional hologenomics aid tackling current challenges in plant breeding? *Briefings in Functional Genomics*, *15*(4), 288-297. doi:10.1093/bfgp/elv030.

Obregón, D., Lancheros, O., Forero de La-Rotta, M.C., Miranda, D., & Chavez, B. (2007). *Efecto de los tratamientos químicos y biológicos sobre el marchitamiento vascular de la uchuva (Physalis peruviana L.), ocasionada por el hongo Fusarium oxysporum Schlecht*. Ponencia presentada en 2.° Congreso Colombiano de Horticultura. Bogotá, Colombia.

Ofek, M., Hadar, Y., & Minz, D. (2012). Ecology of root colonizing *Massilia* (Oxalobacteraceae). PLOS *One*, *7*(7), e40117. doi:10.1371/journal.pone.0040117.

Opelt, K., Berg, C., & Berg, G. (2007). The bryophyte genus *Sphagnum* is a reservoir for powerful and extraordinary

antagonists and potentially facultative human pathogens. *FEMS Microbiology Ecology*, *61*(1), 38-53. doi:10.1111/j.1574-6941.2007.00323.x.

Ortiz, N., Armada, E., Duque, E., Roldán, A., & Azcón, R. (2015). Contribution of arbuscular mycorrhizal fungi and/or bacteria to enhancing plant drought tolerance under natural soil conditions: Effectiveness of autochthonous or allochthonous strains. *Journal of Plant Physiology*, *174*, 87-96. doi:10.1016/j.jplph.2014.08.019.

Palmer, C., Bik, E. M., DiGiulio, D. B., Relman, D. A., & Brown, P. O. (2007). Development of the human infant intestinal microbiota. *PLoS Biology*, *5*(7), e177. doi:10.1371/journal.pbio.0050177.

Panke-Buisse, K., Poole, A. C., Goodrich, J. K., Ley, R. E., & Kao-Kniffin, J. (2015). Selection on soil microbiomes reveals reproducible impacts on plant function. *The ISME Journal*, *9*(4), 980-989. doi:10.1038/ismej.2014.196.

Pera, J., & Calvet, C. (1989). Suppression of *Fusarium* wilt of carnation in a composted pine bark and a composted olive pumice. *Plant Disease*, *73*(8), 699-700. doi:10.1094/PD-73-0699.

Philippot, L., Hallin, S., Börjesson, G., & Baggs, E. M. (2009). Biochemical cycling in the rhizosphere having an impact on global change. *Plant and Soil, 321*, 61-81. doi:10.1007/s11104-008-9796-9.

Phytobiomes (2016). *Phytobiomes: A roadmap for research and translation*. Recuperado de https://goo.gl/haofjs.

Ramesh, R., Joshi, A. A., & Ghanekar, M. P. (2009). Pseudomonads: major antagonistic endophytic bacteria to suppress bacterial wilt pathogen, *Ralstonia solanacearum* in the eggplant (*Solanum melongena* L.). *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *25*(1), 47-55. doi:10.1007/s11274-008-9859-3.

Ravel, J., Gajer, P., Abdo, Z., Schneider, G. M., Koenig, S. S. K., McCulle, S. L., ... Forney, L. J. (2011). Vaginal microbiome of reproductive-age women. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 108*(Suppl. 1), 4680-4687. doi:10.1073/pnas.1002611107.

Redacción Economía (4 de febrero de 2016). Frutas que ProColombia ofrecerá a los alemanes. *El Espectador*. Recuperado de https://goo.gl/X5q4so.

Reid, A., & Greene, S. E. (2013). *How microbes can help feed the world*. Recuperado de https://goo.gl/GpqkQD.

Reuveni, M., Sheglov, D., Sheglov, N., Ben-Arie, R., & Prusky, D. (2002). Sensitivity of red delicious apple fruit at various phenologic stages to infection by *Alternaria alternata* and moldy-core control. *European Journal of Plant Pathology*, *108*(5), 421-427. doi:10.1023/A:1016063626633.

Roder, A., Hoffmann, E., Hagemann, M., & Berg, G. (2005). Synthesis of the compatible solutes glucosylglycerol and trehalose by salt-stressed cells of *Stenotrophomonas* strains. *FEMS Microbiology Letters*, *243*(1), 219-226. doi:10.1016/j.femsle.2004.12.005.

Rout, M. E., & Southworth, D. (2013). The root microbiome influences scales from molecules to ecosystems: The unseen majority. *American Journal of Botany*, *100*(9), 1689-1691. doi:10.3732/ajb.1300291.

Ryan, R. P., Monchy, S., Cardinale, M., Taghavi, S., Crossman, L., Avison, M. B., ... Dow, J. M. (2009). The versatility and adaptation of bacteria from the genus *Stenotrophomonas*. *Nature Reviews. Microbiology*, *7*(7), 514-525. doi:10.1038/nrmicro2163.

Santhanam, R., Luu, V. T., Weinhold, A., Goldberg, J., Oh, Y., & Baldwin, I. T. (2015). Native root-associated bacteria rescue a plant from a sudden-wilt disease that emerged during continuous cropping. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *112*(36), E5013-E5020. doi:10.1073/pnas.1505765112.

Scherwinski, K., Grosch, R., & Berg, G. (2008). Effect of bacterial antagonists on lettuce: active biocontrol of *Rhizoctonia solani* and negligible, short-term effects on nontarget microorganisms. *FEMS Microbiology Ecology*, *64*(1), 106-116. doi:10.1111/j.1574-6941.2007.00421.x.

Schlaeppi, K., & Bulgarelli, D. (2014). The plant microbiome at work. *Molecular Plant-Microbe Interactions MPMI*, *28*(3), 212-217. doi:10.1094/MPMI-10-14-0334-FI.

Schmid, F., Moser, G., Müller, H., & Berg, G. (2011). Functional and structural microbial diversity in organic and conventional viticulture: Organic farming benefits natural biocontrol agents. *Applied and Environmental Microbiology*, *77*(6), 2188-2191. doi:10.1128/aem.02187-10.

Schönfeld, J., Gelsomino, A., Van Overbeek, L. S., Gorissen, A., Smalla, K., & Van Elsas, J. D. (2003). Effects of compost addition and simulated solarisation on the fate of *Ralstonia solanacearum* biovar 2 and indigenous bacteria in soil. *FEMS Microbiology Ecology*, *43*(1), 63-74. doi:10.1111/j.1574-6941.2003.tb01046.x.

Selosse, M.-A., Bessis, A., & Pozo, M. J. (2014). Microbial priming of plant and animal immunity: symbionts as developmental signals. *Trends in Microbiology*, *22*(11), 607-613. doi:10.1016/j.tim.2014.07.003.

Sender, R., Fuchs, S., & Milo, R. (2016). Revised estimates for the number of human and bacteria. Cells in the Body. *PLoS Biology*, *14*(8), e1002533. doi:10.1371/journal.pbio.1002533.

Shen, Z., Ruan, Y., Xue, C., Zhong, S., Li, R., & Shen, Q. (2015). Soils naturally suppressive to banana *Fusarium* wilt disease harbor unique bacterial communities. *Plant and Soil*, *393*(1), 21-33. doi:10.1007/s11104-015-2474-9.

Singh, B. K., Bardgett, R. D., Smith, P., & Reay, D. S. (2010). Microorganisms and climate change: terrestrial feedbacks and mitigation options. *Nature Reviews. Microbiology*, *8*(11), 779-790. doi:10.1038/nrmicro2439.

Soman, C., Li, D., Wander, M. M., & Kent, A. D. (2017). Long-term fertilizer and crop-rotation treatments

differentially affect soil bacterial community structure. *Plant and Soil*, *413*(1-2), 145-159. doi:10.1007/s11104-016-3083-y.

Stulberg, E., Fravel, D., Proctor, L. M., Murray, D. M., LoTempio, J., Chrisey, L., ... Records, A. (2016). An assessment of US microbiome research. *Nature Microbiology*, *1*(1), 1-7. doi:10.1038/nmicrobiol.2015.15.

Swanson, J. K., Yao, J., Tans-Kersten, J., & Allen, C. (2005). Behavior of *Ralstonia solanacearum* race 3 biovar 2 during latent and active infection of geranium. *Phytopathology*, *95*(2), 136-143. doi:10.1094/PHYTO-95-0136.

Szczech, M., Rondomański, W., Brzeski, M. W., Smolińska, U., & Kotowski, J. F. (1993). Suppressive effect of a commercial earthworm compost on some root infecting pathogens of cabbage and tomato. *Biological Agriculture & Horticulture*, *10*(1), 47-52. doi:10.1080/01448765.1993.9754650.

Tan, H. M., Cao, L. X., He, Z. F., Su, G. J., Lin, B., & Zhou, S. N. (2006). Isolation of endophytic actinomycetes from different cultivars of tomato and their activities against *Ralstonia solanacearum* in vitro. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *22*(12), 1275-1280. doi:10.1007/s11274-006-9172-y.

Tang, W. H. W., Wang, Z., Levison , B. S., Koeth , R. A., Britt , E. B., Fu, X., ... Hazen , S.L. (2013). Intestinal microbial metabolism of Phosphatidylcholine and cardiovascular risk. *The New England Journal of Medicine*, *368*(17), 1575-1584. doi:10.1056/NEJMoa1109400.

Teplitski, M., Warriner, K., Bartz, J., & Schneider, K. R. (2011). Untangling metabolic and communication networks: interactions of enterics with phytobacteria and their implications in produce safety. *Trends in Microbiology*, *19*(3), 121-127. doi:10.1016/j.tim.2010.11.007.

Theis, K. R., Dheilly, N. M., Klassen, J. L., Brucker, R. M., Baines, J. F., Bosch, T. C. G., ... Bordenstein, S. R. (2016). Getting the hologenome concept right: an ecoevolutionary framework for hosts and their microbiomes. *mSystems*, *1*(2), e00028-16. doi:10.1128/mSystems.00028-16.

Toju, H., Tanabe, A. S., Yamamoto, S., & Sato, H. (2012). High-Coverage ITS primers for the DNA-based identification of ascomycetes and basidiomycetes in environmental samples. *PLoS One*, *7*(7), e40863. http://doi.org/10.1371/journal.pone.0040863

Turnbaugh, P. J., Ley, R. E., Hamady, M., Fraser-Liggett, C., Knight, R., & Gordon, J. I. (2007). The human microbiome project: exploring the microbial part of ourselves in a changing world. *Nature*, *449*(7164), 804-810. doi:10.1038/nature06244.

Turner, T. R., James, E. K., & Poole, P. S. (2013). The plant microbiome. *Genome Biology*, *14*(6), 209. doi:10.1186/gb-2013-14-6-209.

Tyler, H. L., & Triplett, E. W. (2008). Plants as a habitat for beneficial and/or human pathogenic bacteria. *Annual Review of Phytopathology*, *46*(1), 53-73. doi:10.1146/annurev.phyto.011708.103102.

Van Baarlen, P., Van Belkum, A., Summerbell, R. C., Crous, P. W., & Thomma, B. P. (2007). Molecular mechanisms of pathogenicity: how do pathogenic microorganisms develop cross-kingdom host jumps? *FEMS Microbiology Reviews*, *31*(3), 239-277. doi:10.1111/j.1574-6976.2007.00065.x.

Van Elsas, J. D., Chiurazzi, M., Mallon, C. A., Elhottovā, D., Krištůfek, V., & Salles, J. F. (2012). Microbial diversity determines the invasion of soil by a bacterial pathogen. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *109*(4), 1159-1164. doi:10.1073/pnas.1109326109.

Van Elsas, J. D., Kastelein, P., De Vries, P. M., & Van Overbeek, L. S. (2001). Effects of ecological factors on the survival and physiology of *Ralstonia solanacearum* bv. 2 in irrigation water. *Canadian Journal of Microbiology*, *47*(9), 842-854. doi:10.1139/w01-084.

Van Overbeek, L. S., Van Doorn, J., Wichers, J. H., Van Amerongen, A., Van Roermund, H. J., & Willemsen,

P. T. (2014). The arable ecosystem as battleground for emergence of new human pathogens. *Frontiers in Microbiology*, *5*, 104. doi:10.3389/fmicb.2014.00104.

Vandenkoornhuyse, P., Quaiser, A., Duhamel, M., Le Van, A., & Dufresne, A. (2015). The importance of the microbiome of the plant holobiont. *The New Phytologist*, *206*(4), 1196-1206. doi:10.1111/nph.13312.

Vorholt, J. A. (2012). Microbial life in the phyllosphere. *Nature Reviews. Microbiology*, *10*(12), 828-840. doi:10.1038/nrmicro2910.

Wagner, M. R., Lundberg, D. S., Coleman-Derr, D., Tringe, S. G., Dangl, J. L., & Mitchell-Olds, T. (2014). Natural soil microbes alter flowering phenology and the intensity of selection on flowering time in a wild *Arabidopsis* relative. *Ecology Letters*, *17*(6), 717-726. doi:10.1111/ele.12276.

Wei, Z., Huang, J., Tan, S., Mei, X., Shen, Q., & Xu, Y. (2013). The congeneric strain *Ralstonia pickettii* QL-A6 of *Ralstonia solanacearum* as an effective biocontrol agent for bacterial wilt of tomato. *Biological Control*, *65*(2), 278-285. doi:10.1016/j.biocontrol.2012.12.010.

Wei, Z., Yang, T., Friman, V.-P., Xu, Y., Shen, Q., & Jousset, A. (2015). Trophic network architecture of root-associated bacterial communities determines pathogen invasion and plant health. *Nature Communications*, *6*, 8413. doi:10.1038/ncomms9413.

Weller, D. M., Raaijmakers, J. M., Gardener, B. B., & Thomashow, L. S. (2002). Microbial populations responsible for specific soil suppressiveness to plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology 40*, 309-348. doi:10.1146/annurev.phyto.40.030402.110010.

Whitman, W. B., Coleman, D. C., & Wiebe, W. J. (1998). Prokaryotes: The unseen majority. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *95*(12), 6578-6583. doi:10.1073/pnas.95.12.6578.

Widder, S., Allen, R. J., Pfeiffer, T., Curtis, T. P., Wiuf, C., Sloan, W. T., ... Soyer, O. S. (2016). Challenges in microbial ecology: building predictive understanding of community function and dynamics. *The ISME Journal*, *10*(11), 2557-2568. doi:10.1038/ismej.2016.45.

Wisniewski, M., Droby, S., Norelli, J., Liu, J., & Schena, L. (2016). Alternative management technologies for postharvest disease control: The journey from simplicity to complexity. *Postharvest Biology and Technology*, *122*, 3-10. doi:10.1016/j.postharvbio.2016.05.012.

Wubs, E. R. J., Van der Putten, W. H., Bosch, M., & Bezemer, T. M. (2016). Soil inoculation steers restoration of terrestrial ecosystems. *Nature Plants*, *2*(8), 16107. doi:10.1038/nplants.2016.107.

Xue, Q.-Y., Chen, Y., Li, S.-M., Chen, L.-F., Ding, G.-C., Guo, D.-W., Guo, J.-H. (2009). Evaluation of the strains of *Acinetobacter* and *Enterobacter* as potential biocontrol agents against *Ralstonia* wilt of tomato. *Biological Control*, *48*(3), 252-258. doi:10.1016/j.biocontrol.2008.11.004.

Yabuuchi, E., Kosako, Y., Yano, I., Hotta, H., & Nishiuchi, Y. (1995). Transfer of two *Burkholderia* and an *Alcaligenes* species to *Ralstonia* gen. *Microbiology and Immunology*, *39*(11), 897-904. doi:10.1111/j.1348-0421.1995.tb03275.x.

Yatsunenko, T., Rey, F. E., Manary, M. J., Trehan, I., Dominguez-Bello, M.G., Contreras, M., ... Gordon, J. I. (2012). Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature*, *486*(7402), 222-227. doi:10.1038/nature11053.

Zachow, C., Berg, C., Müller, H., Meincke, R., Komon-Zelazowska, M., Druzhinina, I. S., ... Berg, G. (2009). Fungal diversity in the rhizosphere of endemic plant species of Tenerife (Canary Islands): relationship to vegetation zones and environmental factors. *The ISME Journal*, *3*(1), 79. doi:10.1038/ismej.2008.87.

Zacky, F. A., & Ting, A. S. Y. (2013). Investigating the bioactivity of cells and cell-free extracts of *Streptomyces griseus* towards *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense race 4. *Biological Control*, *66*(3), 204-208. doi:10.1016/j.biocontrol.2013.06.001.

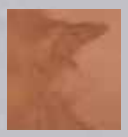
Sección II

Control biológico de insectos plagas

Capítulo 5
Bacterias entomopatógenas en
el control biológico de insectos

Capítulo 6
Hongos entomopatógenos en
el control biológico de insectos plagas

Capítulo 7
Virus entomopatógenos
en el control biológico de insectos


Capítulo 8
Las feromonas
en el control de insectos

Capítulo 9
Uso de depredadorescomo agentes
de control biológico para insectos plaga

Capítulo 10
Uso de parasitoides en el
control biológico de insectos
plagas en Colombia

Capítulo 5

Bacterias entomopatógenas en el control biológico de insectos

Chapter 5

Entomopathogenic bacteria in insect biological control

Erika Grijalba,[1] Mark Hurst,[2] Jorge E. Ibarra,[3]
Juan Luis Jurat-Fuentes,[4] Trevor Jackson[2]

[1] Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA)

[2] AgResearch, Lincoln Research Centre y Bio-Protection Research Centre

[3] Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN (CINVESTAV)

[4] Departament of Entomology and Plant Pathology, University of Tennessee.

Contenido

Introducción 300

Historia 301

Clasificación, huéspedes y uso en control biológico 302

- Bacterias Gram-positivas 302
- Bacterias Gram-negativas 316

Historias de éxito y aplicación 322

Limitaciones en el uso de bacterias entomopatógenas 324

Conclusiones y perspectivas 325

Agradecimientos 325

Referencias 326

Resumen

Este capítulo presenta una revisión de las bacterias entomopatógenas que han sido utilizadas para el control microbiológico de insectos considerados como plaga, incluyendo su identificación, modo de acción y uso en el control de plagas. En general, las bacterias entomopatógenas deben ser ingeridas y actúan mediante la liberación de toxinas o penetración de las células del intestino medio, antes de la invasión del hemocele para multiplicarse en el cadáver del insecto. Las bacterias entomopatógenas Gram-positivas tienen la capacidad de formar esporas, dentro de las que se encuentra el bien conocido *Bacillus thuringiensis* (Bt), así como patógenos de insectos de los géneros *Paenibacillus* y *Lysinibacillus*. En contraste, los entomopatógenos Gram-negativos no forman esporas e incluyen aislamientos de los géneros *Serratia*, *Yersinia*, *Photorhabdus*, *Chromobacterium*, entre otros. Muchas bacterias entomopatógenas pueden ser producidas por fermentación, y se ha logrado llevar a cabo su producción masiva y comercialización. Por su parte, Bt ha sido el caso más exitoso de todos los controles microbianos con cepas activas sobre lepidópteros, coleópteros y dípteros, utilizadas en el control de plagas a gran escala; además, sus genes de toxinas han sido usados para la protección de plantas en cultivos transgénicos. Asimismo, los bioplaguicidas bacterianos también han sido el pilar para la producción de cultivos orgánicos. Aunque las bacterias entomopatógenas han sido los agentes de control microbiológico más exitosos a la fecha, el enorme rango de diversidad microbiana sugiere que aún hay muchas cepas y toxinas por descubrir.

Palabras clave

Bacillus thuringiensis, bacteria, entomopatógeno, *Serratia entomophila*, *Yersinia entomophaga*

Abstract

This chapter reviews entomopathogenic bacteria that have been used in microbial control of insect pests and covers their identification, mode of action and aspects of their use in pest control. In general, entomopathogenic bacteria must be ingested and act by release of toxins and/or penetration of the midgut cells before invasion of the haemocoel to multiply in the insect cadaver. The Gram-positive entomopathogenic bacteria are sporeformers and include the well-known *Bacillus thuringiensis* (Bt) as well as insect pathogens from the genera *Paenibacillus* and *Lysinibacillus*. The Gram-negative entomopathogens are non-sporeformers and include isolates from the genera *Serratia, Yersinia, Photorhabdus, Chromobacterium* and others. Most bacterial entomopathogens can be produced by fermentation and have been amenable to mass production and commercialisation. Bt has been the most successful of all microbial controls with lepidopteran, coleopteran and dipteran active strains used in large scale pest control operations and toxin genes used for protection of transgenic crop plants. Bacterial biopesticides have also been the mainstay of organic crop production. While bacterial entomopathogens have been the most successful of all microbial control agents to date, the enormous range of bacterial diversity suggests that there are many strains and toxins yet to be discovered.

Keywords

Bacillus thuringiensis, bacteria, entomopathogenic, *Serratia entomophila*, *Yersinia entomophaga*

Introducción

Las bacterias y arqueobacterias, los organismos unicelulares más abundantes, tienen en su mayoría un tamaño de 1 a 7 μm y, a pesar de su tamaño y arquitectura simple sin núcleo y organelos (Murray, Rosentahl, & Pfaller, 2009), son fábricas bioquímicas, críticas para la ecología de la tierra (Lodish et al., 2006). Después de millones de años de evolución, estos seres tan pequeños, que de no ser por sus efectos podrían pasar desapercibidos, se han especializado y conformado en ecosistemas complejos con interacciones bien definidas y vitales para la vida de todos los seres vivos.

Los microorganismos rara vez se encuentran como una única especie en una población en el medio ambiente. Los estudios muestran una enorme riqueza en diferentes hábitats, detectada en pequeñas muestras de suelo, sedimento, animales, plantas (Braga, Dourado, & Araújo, 2016) y aún en insectos, siendo esta última una relación que ha coevolucionado por más de 250 millones de años, abarcando desde el comensalismo al parasitismo o patogénesis (Jurat-Fuentes & Jackson, 2012). Los insectos están íntimamente relacionados con las bacterias en todos los estados de su vida; por ejemplo, sus huevos están rodeados por películas bacterianas y, cuando las larvas nacen, ingieren estas bacterias, llegándose a establecer distintas comunidades bacterianas en su tracto gastrointestinal (Jurat-Fuentes & Jackson, 2012). Estas comunidades residentes intestinales continúan enriqueciéndose a lo largo del desarrollo del insecto, a través de los alimentos que consumen (Krishnan et al., 2014). Las bacterias que se localizan en el interior de los insectos pueden producir feromonas en los adultos, y después de la muerte del insecto participan en el proceso de descomposición (Jurat-Fuentes & Jackson, 2012).

Las bacterias entomopatógenas son capaces de entrar al huésped y evadir sus defensas para proliferar y multiplicarse, causando enfermedad, mediada por factores de patogenicidad como toxinas y enzimas. Tras causar la muerte del insecto, la nueva progenie de las bacterias sale para infectar nuevos huéspedes. En algunos casos, como *Bacillus* spp., las bacterias esporulan produciendo un estado de vida resistente a factores ambientales, lo que les da una gran ventaja al considerar la limitada disponibilidad de huéspedes viables y la dispersión pasiva de las bacterias entomopatógenas (Jurat-Fuentes & Jackson, 2012).

Históricamente, las bacterias Gram-negativas han sido separadas de las Gram-positivas por su incapacidad para absorber el colorante cristal violeta, propiedad que se debe a la estructura de su pared celular. Por su parte, las bacterias Gram-positivas (*Firmicutes*), como *Bacillus thuringiensis*, *B. subtilis* y *Lysinibacillus sphaericus*, poseen una pared celular gruesa que consta de varias capas y que está formada principalmente por peptidoglicano, mientras que las Gram-negativas (*Gracilicutes*), como *Pseudomonas* spp., *Serratia entomophila* y *Yersinia entomophaga*, poseen una membrana externa que mantiene su estructura y constituye una barrera para las moléculas de gran tamaño (Murray et al., 2009).

En la búsqueda de alternativas que permitan el manejo de cultivos sostenibles, muchos expertos promueven el manejo integrado de plagas como la mejor opción; para ello, herramientas como los plaguicidas microbianos son una excelente alternativa (Mnif & Ghribi, 2015). Los microorganismos utilizados como ingrediente activo de bioplaguicidas no son tóxicos, ni patógenos para la vida silvestre, humana o de otros organismos no relacionados con la plaga a controlar, salvaguardando a insectos benéficos (incluyendo predadores o parasitoides) en las áreas tratadas (Chakoosari, 2013; Chandler et al., 2011). Sin embargo, esta alta especificidad puede ser al mismo tiempo una debilidad, ya que su potencial de mercado puede limitarse mucho (Chandler et al., 2011). Dentro de sus ventajas, también vale la pena mencionar que, en algunos casos, los microorganismos pueden establecerse en una población plaga o en su hábitat, permitiendo su control en generaciones subsiguientes (Chakoosari, 2013; Chandler et al., 2011), o pueden promover el crecimiento de las raíces y de las plantas al favorecer la microflora benéfica del suelo (Berg, 2009),

lo que permite un incremento en la productividad del cultivo (Mnif & Ghribi, 2015).

El mercado global de los biopesticidas fue valorado en el 2011 en 1,3 billones de dólares, y se proyectaba que para el 2017 alcanzaría los 3,2 billones de dólares, al incrementarse la demanda por cultivos libres de residuos químicos y por alimentos orgánicos (Dutta, 2015). Dentro de los bioinsecticidas para todos los tipos de cultivos, los basados en bacterias entomopatógenas comprenden el 74% del valor de mercado (Thakore, 2006), lo que no sería de extrañar dadas las diversas maneras en que las bacterias se encuentran estrechamente relacionadas con los insectos. No obstante, solo unas pocas bacterias patógenas de insectos han sido utilizadas como agentes de control biológico (Mnif & Ghribi, 2015), siendo *Bacillus thuringiensis* (Bt) (Berliner) la más común y frecuentemente utilizada como ingrediente activo de bioinsecticidas (Jisha, Smitha, & Benjamin, 2013). Este dominio de Bt en el mercado de bioinsecticidas bacterianos se da, posiblemente, debido a su mayor estabilidad en los procesos de producción, formulación y aplicación en campo, al utilizar como ingrediente activo las esporas y los cristales proteicos Cry. Pero la amplia diversidad de bacterias, incluidos los recombinantes naturales y manipulados, proporciona un excelente recurso para el desarrollo de nuevos bioplaguicidas. Quizás el mayor desafío para la comercialización de estos plaguicidas sea el desarrollo de procesos de fermentación y formulación, no solo en laboratorio, sino en la etapa de escalamiento, que permitan obtener bioinsecticidas estables y eficaces durante su almacenamiento y aplicación en campo, a base de bacterias entomopatógenas no necesariamente esporuladas.

Historia

La bacteria entomopatógena más estudiada y utilizada es *B. thuringiensis*, cuyo descubrimiento y usos han sido a veces rodeados de controversias, desinformación y especulaciones. No hay duda de que el primer caso documentado de la existencia de *B. thuringiensis* lo registró el investigador japonés Shigetane Ishiwata en 1901, al lograr aislar la bacteria de una colonia de gusanos de la seda (*Bombyx mori*) y comprobar que era la causante de la enfermedad que en esa época se le denominaba "flacheria" (de la palabra francesa *flacherie*). Ishiwata denominó a la bacteria como "sottokin" o "sotto bacillus", proveniente del vocablo japonés *sotto* que significa "muerte súbita" o "colapso", aduciendo a la rapidez con la que las larvas morían después de alimentarse con esta (Beegle & Yamamoto, 1992).

La primera incertidumbre sobre este caso se presentó por el hecho de que Louis Pasteur, entre 1865 y 1870, en su famoso rescate de la industria sericícola francesa por el descubrimiento y elaboración de un protocolo de desinfección de colonias enfermas, descubrió dos enfermedades infecciosas del gusano de seda: una plenamente identificada hasta hoy como pebrina (pébrine), causada por el microsporidio *Nosema bombycis*; otra, la flacheria (flacherie), causada por bacterias. Aquí reside la incertidumbre. Los dibujos de su cuaderno de trabajo contenían diversos tipos de bacterias, incluyendo evidentes formas bacilares. Debido a que la flacheria posteriormente se asoció también a la presencia de virus, el dilema de corroborar si Pasteur fue el primero en trabajar con *B. thuringiensis* sigue sin resolverse (Steinhaus, 1975).

El segundo caso de controversia ocurre cuando el microbiólogo alemán Ernst Berliner recibe, en 1911, una muestra de larvas muertas de la palomilla de los graneros (*Ephestia kuehniella*), encontradas en la región de Turingia (Alemania Oriental). En esta muestra, Berliner descubrió (en realidad redescubrió) la bacteria causante de tales infecciones, a la que aisló, corroboró su patogenicidad y, como debió hacerlo en su momento Ishiwata, describió para darle un nombre científico: *Bacillus thuringiensis*, aduciendo a su origen geográfico. Ishiwata y sus sucesores, a pesar de haber seguido el estudio de la bacteria, no consideraron describir y nombrar formalmente a lo que posteriormente llamaron *Bacillus sotto*. Ya era tarde, y el nombre formal quedó aceptado como *Bacillus thuringiensis*.

Examinando en detalle la historia de *B. thuringiensis*, se pueden encontrar otros datos interesantes —por no decir, controvertidos—. Cuando Berliner describió formalmente la bacteria en 1915, la Primera Guerra Mundial interrumpió su línea de investigación y, desafortunadamente desde el punto de vista taxonómico, llevó a la pérdida de la cepa Berliner original. No fue sino hasta 1927 cuando un

estudiante de Berliner, Otto Mattes, aisló una cepa de *B. thuringiensis*, a partir del mismo insecto del que se había servido Berliner, y substituyó la cepa original perdida, un aspecto controvertido en taxonomía, ya que se "asume" que es la misma cepa de Berliner. Esta cepa es la que se utiliza en las primeras pruebas de campo en Hungría y Yugoslavia, y de la que se obtuvo el primer producto comercial de origen francés en 1938: Sporeine (Steinhaus, 1975).

La irrupción de la Segunda Guerra Mundial interrumpió de nuevo el estudio de la bacteria como agente de control biológico, y no es sino hasta la década de los años cincuenta cuando Edward Steinhaus reactivó la misma cepa (guardada en su refrigerador), para convertirla en el más exitoso y más utilizado agente de control biológico. Este desarrollo disparó una efervescente investigación sobre la bacteria, lo que permitió el aislamiento de una gran cantidad de nuevas cepas y el avance para que, en la década de los años sesenta, diversas compañías alrededor del mundo se interesaran en su comercialización (Lambert & Peferoen, 1992; Lisansky & Coombs, 1994).

Después de Sporeine, en 1961 se registró Thuricide en Estados Unidos, mientras que en Europa, grandes compañías de agroquímicos comenzaron su producción y desarrollo, como Solvay en Bélgica o Sandoz en Suiza. En 1970 alcanzaron el mercado Dipel y Bactospein (Ravensberg, 2011).

Otra de las bacterias pioneras fue *Paenibacillus popilliae*, utilizada para el control de las larvas del escarabajo japonés *Popillia japónica* en pasturas (Klein, 1988). El Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA, por su sigla en inglés) desarrolló y registró en ese país un bioinsecticida (Milky Spore Powder) a base de *P. popilliae*, en 1948, producido por laboratorios Fairfax (Lord, 2005). En este caso, dado que la bacteria es un patógeno obligado, al no poder completar su ciclo vital fuera del huésped tuvo limitada producción y éxito comercial.

Clasificación, huéspedes y uso en control biológico

Bacterias Gram-positivas

Las bacterias Gram-positivas se encuentran ampliamente distribuidas en el medio ambiente, con forma de bacilos y cocos, y como especies de aerobios y anaerobios facultativos o estrictos. Una característica única dentro de las bacterias Gram-positivas es la facultad de poder formar esporas de resistencia frente a condiciones adversas, lo que las hace más estables frente a procesos de producción, formulación y almacenamiento, así como en los resultados obtenidos a nivel biológico cuando son aplicadas en invernadero o campo. El modo de acción de este grupo de bacterias entomopatogénicas está casi siempre asociado a la producción de toxinas que destruyen la barrera del epitelio intestinal para favorecer el paso de la bacteria a la hemolinfa, donde normalmente se suceden ciclos de esporulación y división, causando septicemia y muerte del insecto (figura 5.1). Además, diferentes especies de bacterias Gram-positivas producen distintas toxinas, aunque algunas especies producen toxinas comunes, como las toxinas Cry de *B. thuringiensis* (figura 5.2), que son a veces producidas por cepas de otras especies de *Bacillus*, *Lysinibacillus* y *Paenibacillus*.

Bacillus thuringiensis (Bt)

El *B. thuringiensis* es una bacteria aerobia facultativa, esporulante, ubicua en su distribución, que ha sido aislada en diferentes partes del mundo, y de sistemas muy diversos como suelo, agua, hojas de plantas, insectos muertos, telarañas y granos almacenados, entre otros (De Maagd, Bosch, & Stiekema, 1999). La mayoría de las cepas de Bt producen cristales proteicos durante la esporulación, que exhiben actividad específica contra larvas de lepidópteros, dípteros, coleópteros, hemípteros, himenópteros y malófagos (Schnepf et al., 1998) y células humanas cancerígenas (Lee et al., 2000; Mizuki et al., 2000). Los cristales son liberados al medio ambiente después de la lisis del esporangio, durante el final de la etapa de esporulación (figura 5.3) (Jisha et al., 2013). Estos cristales pueden presentar distintas morfologías y clasificarse en bipiramidales, cúbicos, cuadrados, aplanados, esféricos y otras formas más atípicas (figura 5.4) (Khetan, 2001).

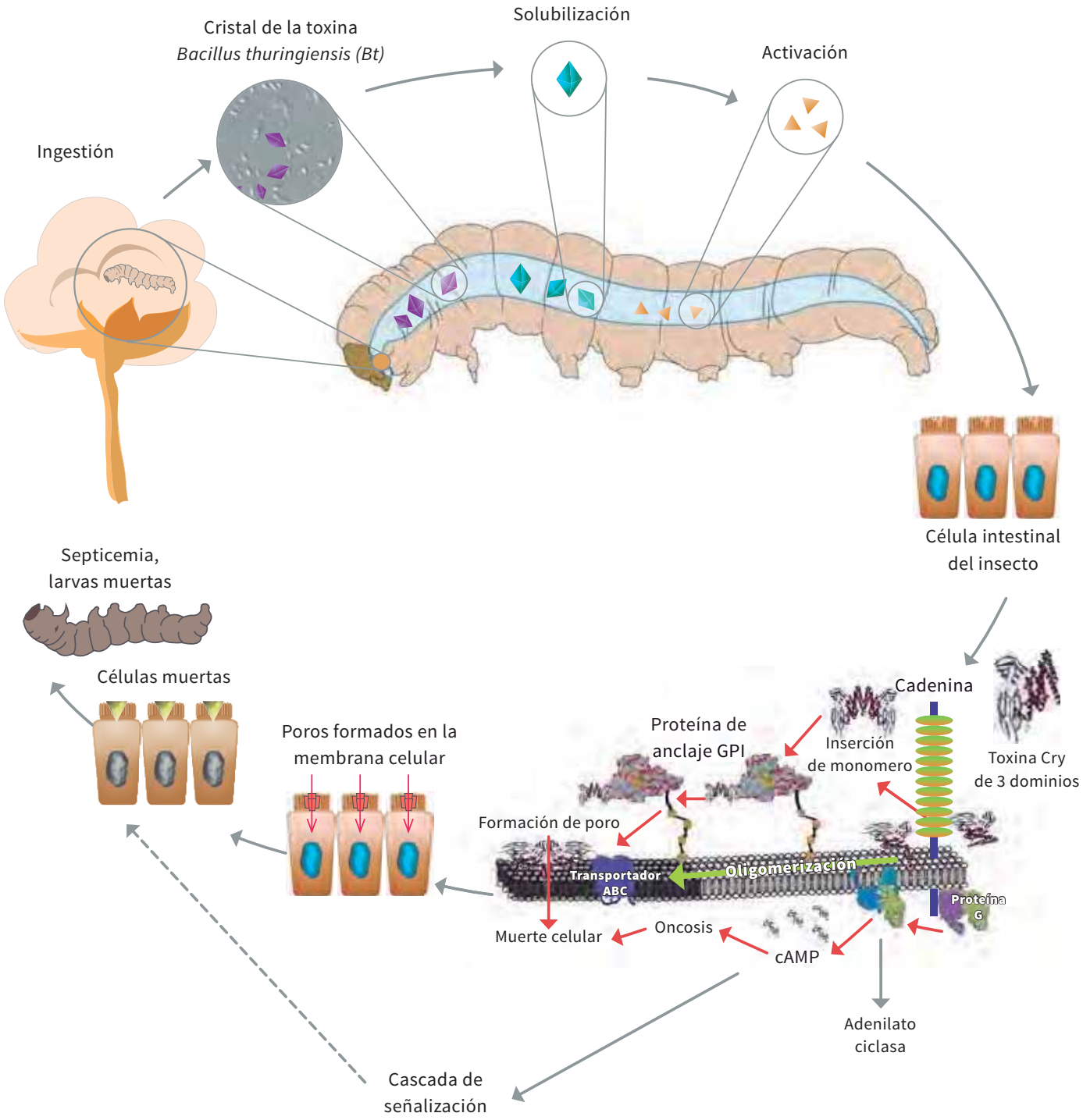


Figura 5.1. Modo de acción de las toxinas Cry de *Bacillus thuringiensis*.

Fuente: Adaptada de Adang, Crickmore y Jurat-Fuentes (2014)

Su actividad insecticida es específica para un grupo reducido de especies huéspedes, generalmente cercanas taxonómicamente, y pueden causar la muerte en 48 horas o menos (Jisha et al., 2013). El cristal proteico de Bt se compone, principalmente, de una o varias toxinas llamadas comúnmente δ-*endotoxinas*, de entre 70 y 140 kDa, de las cuales se conocen dos familias: las proteínas Cry (del inglés *Crystal*) y Cyt (del inglés *Cytolitic*), que varían en número y tipo, dependiendo de la cepa de la bacteria (Adang, Crickmore, & Jurat-Fuentes, 2014).

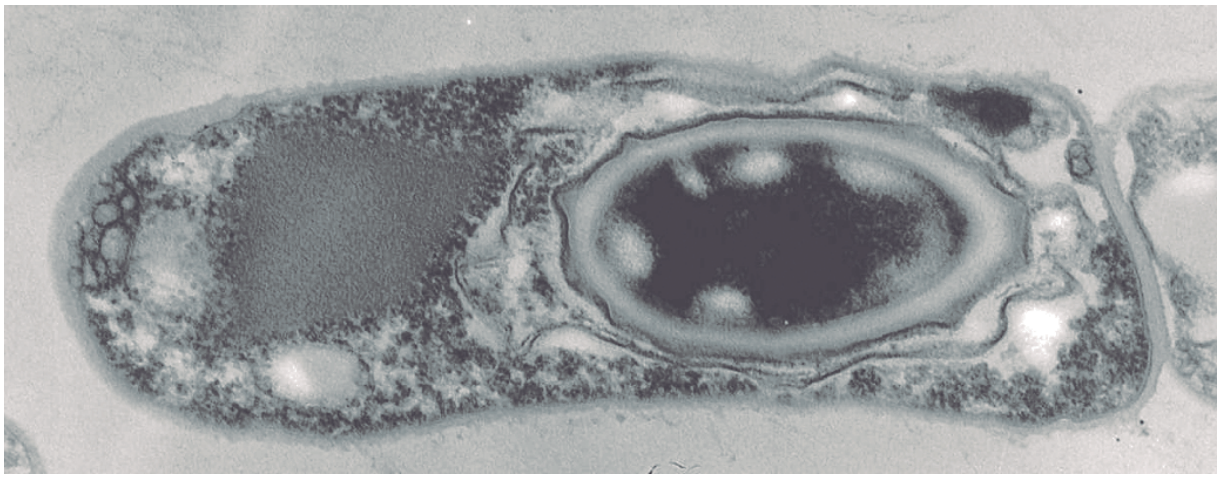
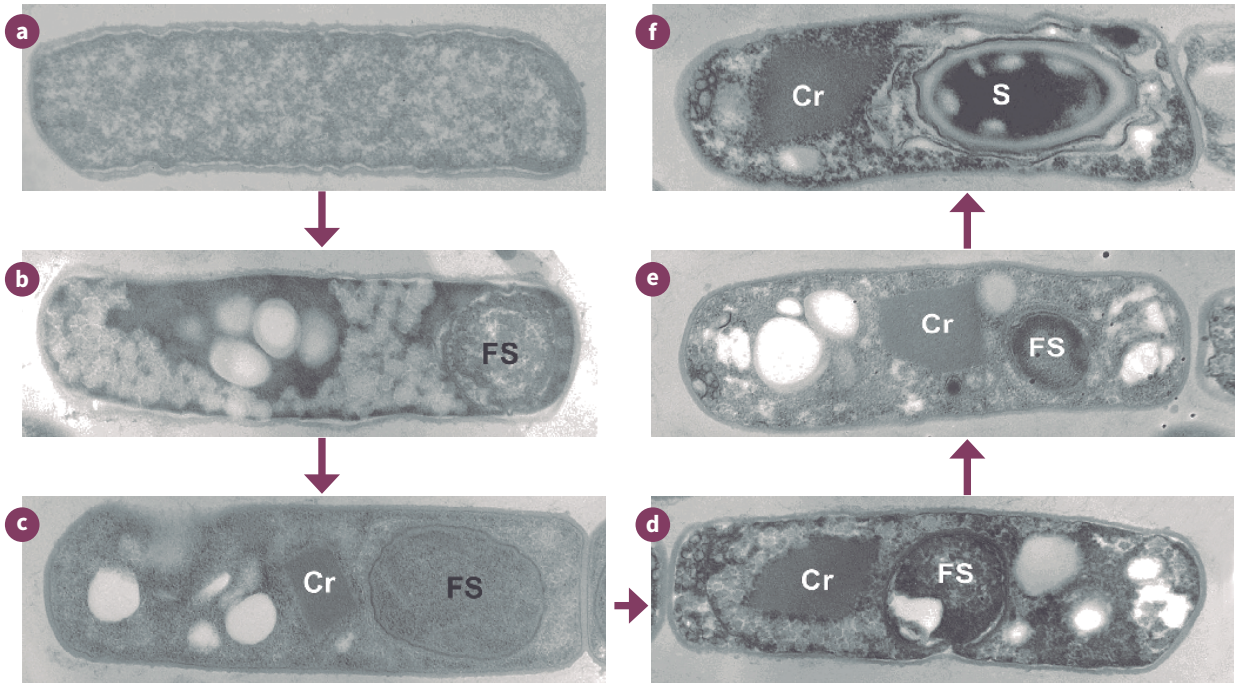


Foto: Jorge E. Ibarra

Figura 5.2. Microfotografía electrónica de transmisión de un esporangio de *Bacillus thuringiensis* var. Kurstaki. Imagen tomada con un microscopio Phillips Morgani, operado a un voltaje de aceleración de 70 kV y 5600X de magnificación.



Fotos: Jorge E. Ibarra

Figura 5.3. Ciclo de *Bacillus thuringiensis*. a. Célula vegetativa; b. Inicio de la formación de la protospora en el incipiente esporangio FS = protospora; c. Formación de la primera capa de la protospora (FS) y el inicio de la formación del cristal parasporal (Cr); d. Acumulación de capas de la protospora (FS) y aumento del tamaño del cristal (Cr); e. Inicio de la formación del exosporium en la protospora (FS) y aumento de tamaño del cristal (Cr); f. Estado final de la esporulación S = espora, Cr = cristal.

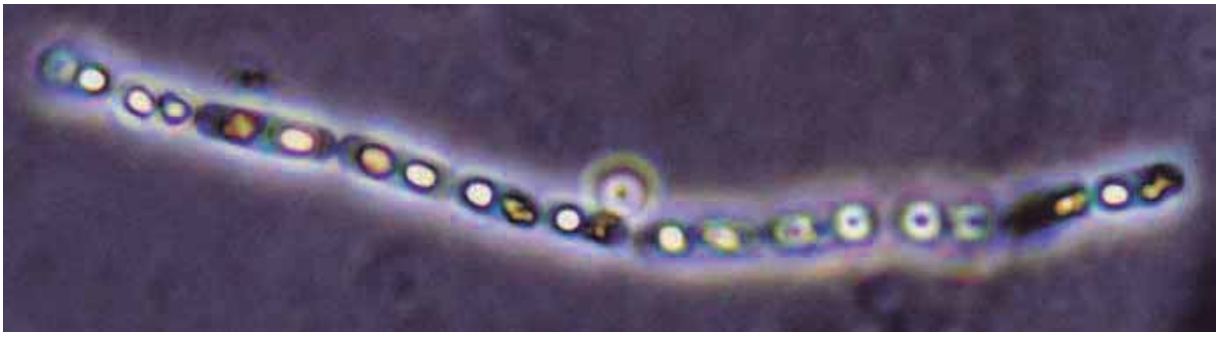


Foto: Jorge E. Ibarra

Figura 5.4. Microfotografía de contraste de fases de esporangios maduros concatenados de *Bacillus thuringiensis* var. Kurstaki. Cada esporangio muestra una espora (refringente) y un cristal parasporal (un poco amarillento). La siguiente fase es la autolisis, cuando la pared del esporangio se degrada y libera las esporas y cristales, separadamente.

Inicialmente, la clasificación de las δ-endotoxinas fue realizada por Höfte y Whiteley (1989), con base en la especificidad de la actividad insecticida. En esta, las proteínas se dividían en cuatro clases: (I) para lepidópteros, (II) específico para lepidópteros y dípteros, (III) específico para coleópteros y (IV) específico para dípteros. Sin embargo, se presentaron inconsistencias al encontrar discrepancias entre genes que tenían una alta homología, pero codificaban toxinas con espectro de acción distinto, lo que dio lugar a la revisión de la nomenclatura. En la nueva nomenclatura se asignaron nombres a miembros de superfamilias de genes, de acuerdo con su grado de homología en la secuencia proteica.

Asimismo, los números romanos fueron cambiados a números arábigos (Crickmore et al., 1998). Siguiendo esta nomenclatura, hasta la fecha se han reportado más de 700 toxinas Cry (LifeSci, 2017), agrupadas en 282 holotipos. El criterio principal para incluir una toxina en esta nueva nomenclatura es que tenga una secuencia significativamente similar a una o más toxinas dentro de la nomenclatura, o que sea una inclusión proteica paraesporal que exhiba actividad pesticida o algún efecto tóxico verificable experimentalmente sobre un organismo diana o blanco (LifeSci, 2017). La mayor parte de estas proteínas son tóxicas para lepidópteros, aunque algunas despliegan actividad dual como las toxinas Cry1Ca o Cry2A, que son activas contra lepidópteros y dípteros (figura 5.5) (Bravo, 2004). En la tabla 5.1 se presenta una lista de los órdenes de los insectos susceptibles a las diferentes familias de toxinas Cry. Cabe señalar que algunos reportes sobre la actividad tóxica de estas proteínas están sujetos a corroboración, tanto por su especificidad como por sus niveles de toxicidad.

Foto: Jorge E. Ibarra

Figura 5.5. Larva de primer instar del gusano de cuerno del tabaco, *Manduca sexta*, atacado por las toxinas de *Bacillus thuringiensis* var. Kurstaki HD-1. Se puede observar la melanización defensiva a nivel del mesenterón, tratando (infructuosamente) de contrarrestar la invasión de las bacterias presentes en el intestino de la larva.

La mayoría de toxinas Cry muestra una estructura tridimensional caracterizada por la presencia de tres dominios con distintos roles en el modo de acción, aunque otras toxinas presentan estructuras más diversas (Adang et al., 2014). El dominio I está compuesto de un grupo de siete hélices anfipáticas; el dominio II contiene tres láminas β-antiparalelas, y el dominio III está formado por un sándwich de dos láminas β-antiparalelas.

Tabla 5.1. Efecto de las familias de toxinas Cry sobre órdenes de insectos

Familia de la toxina cristalina	Orden del insecto diana	Ejemplos
Cry1A	Lepidoptera	*Manduca sexta* (gusano del tabaco), *Heliothis virescens* (gusano bellotero), *Trichoplusia ni* (oruga de la col o gusano falso medidor)
Cry1B	Coleoptera, Diptera, Lepidoptera	*Anthonomus grandis* (gorgojo del algodón), *Musca domestica* (mosca doméstica), *Plutella xylostella* (palomilla dorso de diamante)
Cry1C	Diptera, Lepidoptera	*Aedes aegypti* (mosquito de la fiebre amarilla), *Spodoptera exigua* (gusano soldado)
Cry1F	Lepidoptera	Spodoptera spp., *Helicoverpa armígera* (gusano del algodón), *Trichoplusia ni* (oruga de la col o gusano falso medidor)
Cry1G	Lepidoptera	*Agrotis ipsilon* (gusanos grises), *Ostrinia nubilalis* (taladro del maíz), *Trichoplusia ni* (oruga de la col o gusano falso medidor)
Cry1I	Coleoptera	*Leptinotarsa decemlineata* (escarabajo de la patata)
Cry2A	Diptera, Hemiptera, Lepidoptera	*Aedes aegypti* (mosquito de la fiebre amarilla), *Macrosiphum euphorbiae* (pulgón de la patata), *Pectinophora gossypiella* (gusano rosado del algodonero)
Cry3A	Coleoptera, Hemiptera, Hymenoptera	*Tenebrio molitor* (gusano de la harina), *Macrosiphum euphorbiae* (pulgón de la patata), *Solenopsis invicta* (hormiga roja de fuego)
Cry3B	Coleoptera	*Diabrotica virgifera* (gusano de la raíz del maíz)
Cry4	Diptera	*Anopheles gambiae* (mosquito), *Aedes aegypti* (mosquito de la fiebre amarilla), *Culex quinquefasciatus* (mosquito)
Cry5	Hymenoptera, especie de nematodos	*Diprion pini* (mosca de sierra del pino), *Meloidogyne hapla* (nematodo del nudo de la raíz)
Cry6A	Especies de nematodos	*Pristionchus pacificus*, *Acrobeloides* spp., *Pratylenchus* spp. (nematodos de lesión)
Cry7A	Coleoptera	*Leptinotarsa decemlineata* (escarabajo de la patata)
Cry7B	Lepidoptera	*Plutella xylostella* (palomilla dorso de diamante)
Cry8A	Coleoptera	*Leptinotarsa decemlineata* (escarabajo de la patata)
Cry8B	Coleoptera	*Diabrotica virgifera* (gusano de la raíz del maíz)
Cry8D	Coleoptera, Lepidoptera	*Popillia japonica* (escarabajo japonés)

(Continúa)

(Continuación tabla 5.1)

Familia de la toxina cristalina	Orden del insecto diana	Ejemplos
Cry9	Lepidoptera	*Phthorimaea operculella* palomilla de la papa), *Bombyx mori* (gusano de seda), *Agrotis segetum* (gusanos grises)
Cry10	Diptera, Coleoptera	Mosquitos, *Hypothenemus hampei* (broca del café) y *Anthonomus grandis* (picudo del algodón)
Cry11B	Diptera	*Aedes aegypti* (mosquito de la fiebre amarilla), *Anopheles stephensi* (mosquito), *Culex pipiens* (mosquito trompetero)
Cry12A	Especies de nematodos	*Pratylenchus* spp. (nematodo lesionador)
Cry18A	Coleoptera	*Melolontha melolontha* (escarabajo de mayo)
Cry19A	Diptera	*Anopheles stephensi* (mosquito), *Culex pipiens* (mosquito trompetero)
Cry20A	Diptera	*Aedes aegypti* (mosquito de la fiebre amarilla)
Cry22A	Coleoptera, Lepidoptera	*Anthonomus grandis* (gorgojo del algodón), *Plutella xylostella* (palomilla dorso de diamante)
Cry23A	Coleoptera	*Tribolium castaneum* (gorgojo castaño de la harina)
Cry24C	Diptera	*Aedes aegypti* (mosquito de la fiebre amarilla)
Cry32A	Lepidoptera	*Plutella xylostella* (palomilla dorso de diamante)
Cry32B	Diptera	*Aedes aegypti* (mosquito de la fiebre amarilla)
Cry34/Cry35 Cry36A	Coleoptera	*Diabrotica virgifera* (gusano de la raíz del maíz)
Cry37A	Coleoptera	*Popillia japonica* (escarabajo japonés)
Cry39A	Diptera	*Anopheles stephensi* (mosquito), Culex pipiens (mosquito trompetero)
Cry43	Coleoptera	*Anomala cuprea* (escarabajo de junio)
Cry47A	Diptera	*Lucilia cuprina* (mosca australiana de las ovejas)
Cry48A/Cry49A	Diptera	*Culex quinquefasciatus* (mosquito)
Cry51A	Lepidoptera	*Bombyx mori* (gusano de seda)
Cry55A	Coleoptera, especie de nematodos	*Phyllotreta cruciferae* (escarabajo de la pulga crucífero), *Meloidogyne hapla* (nematodo del nudo de la raíz)

Fuente: adaptada de Jurat-Fuentes y Jackson (2012); los ejemplos de especies susceptibles fueron obtenidos a partir de la base de datos de especificidad de las toxinas de *B. thuringiensis* de Van Frankenhuyzen y Nystrom (2011) y revisiones publicadas por Van Frankenhuyzen (2009).

El modo de acción de las toxinas incluye una serie de pasos, que pueden dictaminar su especificidad (Jurat-Fuentes & Crickmore, 2017). Una vez que el insecto ingiere el cristal, este es solubilizado por las condiciones alcalinas en el intestino, y es proteolíticamente transformado en un fragmento tóxico (Zalunin, Elpidina, & Oppert, 2015).

Durante la activación proteolítica, un corto péptido de unos 28-45 aminoácidos del extremo N-terminal y la mayoría del extremo C-terminal (~500 aminoácidos) son escindidos de la proteína completa (protoxina). La toxina activa resultante se une a receptores localizados sobre las microvellosidades de la membrana apical de las células del epitelio del intestino medio, favoreciendo un nuevo procesamiento por proteasas, que resulta en la oligomerización de la toxina (Gómez, Sánchez, Miranda, Bravo, & Soberón, 2002). Este paso de la unión a receptores es aparentemente uno de los más críticos para la toxicidad, ya que los casos de altos niveles de resistencia a toxinas Cry están siempre ligados a la alteración de al menos uno de los receptores, con la consecuente reducción de la unión de la toxina a la membrana epitelial (Ferré & Rie, 2002).

Diferentes proteínas han sido propuestas como receptores de las toxinas Cry; es el caso, por ejemplo, de las caderinas, aminopeptidasas, fostasas alcalinas e, incluso, lípidos (Pigott & Ellar, 2007). Sin embargo, los estudios más recientes identifican proteínas de la familia de las "ATP binding cassette" (ABC) como los receptores más relevantes para la toxicidad, y cuya modificación resulta en los más altos niveles de resistencia (Heckel, 2012).

Estudios recientes sugieren que las proteínas ABC están involucradas en la formación del oligómero y su inserción en la membrana para formar poros (Bretschneider, Heckel, & Pauchet, 2016). El influjo de iones a través del poro de la toxina Cry y el flujo de agua que lo acompaña resultan en la muerte celular por *shock* osmótico (Endo, Azuma, Adegawa, Kikuta & Sato, 2017). La muerte de células intestinales resulta en la desaparición de la barrera epitelial, con lo cual las bacterias residentes en el intestino invaden la hemolinfa para causar la muerte del insecto por septicemia (Raymond, Johnston, Nielsen-LeRoux, Lereclus & Crickmore, 2010). Los síntomas que se observan en las larvas de insectos contaminadas son cese de la ingesta, parálisis del intestino, vómito, diarrea, parálisis total y, finalmente, la muerte (Aronson, Beckman, & Dunn, 1986; Gupta, Dow, Hall, & Harvey, 1985).

Otra de las proteínas interesantes de Bt son las denominadas *Vegetative insecticidal proteins* (VIP), proteínas insecticidas que se producen durante la fase vegetativa de la bacteria. Dentro de este grupo se incluyen las toxinas binarias Vip1 y Vip2, con actividad específica sobre coleópteros, y Vip3, con un amplio rango contra lepidópteros (Yu et al., 2011). Shingote et al. (2013) reportaron la potencia insecticida de Vip1/Vip2 contra *Sitophilus zeamais*, con un 60% de mortalidad. Estudios realizados por Fang et al. (2007) con Vip3Ac1 mostraron una alta actividad insecticida de estas proteínas contra las larvas de los lepidópteros *Spodoptera frugiperda* (Noctuidae), gusano cogollero del maíz, y *Helicoverpa zea* (Noctuidae), gusano elotero.

Técnicas de identificación subespecífica de *B. thuringiensis*

Con el objeto de clasificar la gran cantidad de cepas de Bt, que desde su redescubrimiento se iban aislando, varios investigadores sugirieron —y pusieron a prueba— diversas técnicas de identificación subespecífica. Va-rias de estas técnicas se basaron en el cristal parasporal típico de la especie, al que unos años antes Angus (1954) había atribuido el factor insecticida de la bacteria. Así, la incipiente electroforesis y la reacción cruzada con anticuerpos de las proteínas del cristal se propusieron para clasificar las diferentes cepas de *B. thuringiensis*. Finalmente, la técnica desarrollada por de De Barjac y Bonnefoi (1962), basada en la serotipificación flagelar de las cepas, fue aceptada ampliamente. Esta clasificación aún persiste hasta la fecha, pero sus limitantes (ver más adelante) y el desarrollo de técnicas moleculares han estimulado el desarrollo de otras técnicas más eficientes, rápidas e informativas.

Serotipificación flagelar

Como se mencionó, De Barjac y Bonnefoi (1962) desarrollaron la técnica de serotipificación flagelar, iniciando con 24 cepas de Bt. La técnica se basa en la reacción cruzada de anticuerpos específicos contra

Tabla 5.2. Serovariedades de *Bacillus thuringiensis* conocidas hasta la fecha

Antígeno H	Serovar	Antígeno H	Serovar
1	*thuringiensis*	30	*medellin*
2	*finitimus*	31	*toguchini*
3a, 3c	*alesti*	32	*cameroun*
3a,3b, 3c	*kurstaki*	33	leesis
3a, 3b, 3d	*mogi*	34	konkukian
3a, 3d	*sumiyoshiensis*	35	*seoulensis*
3a, 3d, 3e	*fukuokaensis*	36	*malayensis*
4a, 4b	*sotto*	37	*andaluciensis*
4a, 4c	*kenyae*	38	*oswaldocruzi*
5a, 5b	*galleriae*	39	*brasiliensis*
5a, 5c	*canadienses*	40	*huashongensis*
6	*entomocidus*	41	*soocheon*
7	*aizawai*	42	*jinghongiensis*
8a, 8b	*morrisoni*	43	*guiyangiensis*
8a, 8c	*ostriniae*	44	*higo*
8b, 8d	*nigeriensis*	45	*roskildiensis*
9	*tolworthi*	46	*chanpaisis*
10a, 10b	*darmnsadiensis*	47	*wratislaviensis*
10a, 10c	*londrina*	48	*balearica*
11a, 11b	*toumanoffi*	49	*muju*
11a, 11c	*kyushuensis*	50	*navarriensis*
12	*thopmsoni*	51	*xiaguangiensis*
13	*pakistani*	52	*kim*
14	*israelensis*	53	*asturiensis*
15	*dakota*	54	*poloniensis*
16	*indiana*	55	*palmanyoliensis*
17	*tohokuensis*	56	*rongseni*
18a, 18b	*kumamotoensis*	57	*pirenaica*
18a, 18c	*yosso*	58	*argentinensis*
19	*tochigiensis*	59	iberica
20a, 20b	*yunnanensis*	60	*pingluonsis*
20a, 20c	*pondicheriensis*	61	*sylvestriensis*
21	*colmeri*	62	*zhaodongiensis*
22	*shadongiensis*	63	*bolivia*
23	*japonensis*	64	*azorensis*
24a, 24b	*neoleonensis*	65	*pulsiensis*
24a, 24c	*novosivirsk*	66	*graciosensis*
25	*coreanensis*	67	*vazensis*
26	*silo*	68	*thailandensis*
27	*mexicanensis*	69	*pahangli*
28a, 28b	*monterrey*	70	*sinensis*
28a, 28c	*jegathesan*	71	*jordanica*
29	*amagiensis*		

Fuente: Adaptada de Lecadet (1998) y Khyami-Horani, Hajaij y Charles (2003)

proteínas (flagelinas) de los flagelos de la bacteria. Es decir, la proteína de los flagelos de una nueva cepa de Bt es inyectada a un conejo que desarrolla anticuerpos específicos contra los flagelos (flagelinas) de esa cepa. Al mezclar el antisuero extraído de ese conejo con la cepa original, la suspensión precipitaría por la reacción cruzada antígeno-anticuerpo. Esa cepa recibiría un nombre subespecífico y, cada vez que se observara una reacción cruzada de ese mismo antisuero con una cepa desconocida, se le asignaría el mismo nombre subespecífico. Si ninguno de los antisueros desarrollados hasta ese momento presentaba reacción cruzada con alguna cepa desconocida, se iniciaría el proceso de inmunización de un conejo para obtener el antisuero respectivo y se le asignaría un nuevo nombre a esa nueva cepa.

De esta forma, el Instituto Pasteur en París posee la más amplia colección de antisueros y se le ha considerado el centro internacional de acopio para la serotipificación de nuevas cepas de Bt, así como también para la asignación de nuevos nombres a las cepas que no presenten reacción cruzada con los antisueros acumulados. Otro centro de serotipificación de cepas de Bt es el laboratorio del doctor Michio Ohba (Kyushu University) en Japón, que también posee una amplia colección de antisueros que normalmente coinciden con los del Instituto Pasteur. En la actualidad, el Instituto Pasteur mantiene una colección de 71 serotipos diferentes, pero debido a que algunos presentan varios sub-serotipos (tabla 5.2) el número de nombres subespecíficos es de 85 (Khyami-Horani, Hajaij, & Charles, 2003). Por otro lado, debido al gran número de serotipos y a la frecuencia con que se añadían nuevos nombres, se decidió utilizar el término "serovariedad" (o serovar) por el de "subespecie" (Lecadet et al., 1999) y al antisuero correspondiente (designado por un número arábigo) como antígeno H.

Si bien este sistema sigue funcionando, en la actualidad se están desarrollando nuevas técnicas moleculares (ver más adelante), pero siguiendo la clasificación desarrollada por la serotipificación. De este modo, a pesar de que estas técnicas no utilizan antisueros, se les continúa llamando "serovariedades" a los diferentes grupos de entidades subespecíficas de *B. thuringiensis*. Las limitaciones de la serotipificación (detalladas en la tabla 5.3) hacen necesario el desarrollo de nuevas técnicas de identificación subespecífica, enfocadas en aumentar la confiabilidad y ofrecer más información (Xu & Côté, 2008). Las principales técnicas moleculares desarrolladas hasta la fecha se detallan en secciones subsecuentes.

Tabla 5.3. Limitaciones de la serotipificación de cepas de *B. thuringiensis* conocidas hasta la fecha

• Reactividad cruzada con cepas de *B. cereus*
• Algunas cepas son "autoaglutinables" (reaccionan sin antisuero)
• Existen cepas no flageladas (no hay reacción)
• No se puede elaborar una relación filogenética entre las cepas
• Se clausuró parcialmente el IEBC-IP (International Entomopathogenic Bacteria Center-Institut Pasteur)

Fuente: Elaboración propia

Secuenciación de las flagelinas

La técnica más rápida, eficiente y confiable, así como la mejor alternativa para sustituir a la serotipificación, es la secuenciación parcial de uno de los genes de las flagelinas. Una de las principales bondades de esta técnica es que guarda relación directa con la técnica de serotipificación, dado que son precisamente las flagelinas las que tienen reacción cruzada con los anticuerpos de cada serotipo. La estrategia desarrollada por Xu y Côté (2008) propone diferenciar cepas de Bt, utilizando los mismos nombres subespecíficos de la serotipificación. Además, este método elimina la limitante que presentan las cepas autoaglutinantes, pues se basa en la comparación de las secuencias de las proteínas del flagelo, específicamente del gen *hag*, a pesar de que se han reportado cinco secuencias de los genes del flagelo de Bt: *hag*, *fliC*, *flaA*, *flaB* y *flaC*.

Es importante anotar que la flagelina Hag es la que provoca la reacción inmunológica en la técnica de serotipificación.

La técnica se basa en la amplificación parcial (aunque casi es el ORF completo) por PCR de la flagelina, utilizando los cebadores para la flagelina FlaA y para la flagelina Hag descritos por Santos-Mendoza, Ibarra, Delecluse y Juárez-Pérez (2002). Una vez obtenido el amplicón respectivo, es secuenciado y traducido a la secuencia de aminoácidos, que se somete a análisis Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) para identificar a qué serovariedad corresponde. Si bien no existe una base de datos específica para realizar este análisis, el BLAST en línea es suficientemente confiable. Una de las ventajas de esta técnica es que se pueden predecir las relaciones filogenéticas de las diferentes serovariedades de Bt. En la figura 5.6 se presenta un dendrograma desarrollado a partir de la comparación de las secuencias del gen *flaA* de casi todas las cepas tipo de Bt.

Identificación por secuenciación multilocus

La identificación por secuenciación multilocus o MLST (por sus siglas en inglés) es una poderosa herramienta reciente en la determinación de relaciones genéticas y se emplea en taxonomía bacteriana. Es un método de caracterización de aislados microbianos por medio de la secuenciación de fragmentos internos de genes esenciales para el metabolismo (*house keeping genes*) y se diseñó inicialmente para estudios epidemiológicos. Esta técnica tiene la ventaja de que los datos obtenidos se pueden compartir a través de Internet, sin necesidad de intercambiar cultivos vivos. Para realizar la MLST, fragmentos de aproximadamente 500 pb de longitud de 6 o 7 genes son secuenciados; a cada secuencia se le asigna un marcador alélico y a cada combinación alélica o perfil alélico se le asigna un número de secuencia tipo (Jolley, Chan, & Maiden, 2004). Actualmente, existen bases de datos de combinaciones alélicas de bacterias y hongos para el análisis y comparación de microorganismos que son muy útiles, lo que se ha demostrado para el estudio las bacterias del grupo *cereus* (Soufiane & Côté, 2013).

Para cepas de Bt se utilizan cebadores que amplifican fragmentos de los siguientes genes: *glpF* (glycerol facilitator), *gmk* (guanylate kinase), *ilvD* (dihydroxy-acid dehydratase), *pta* (phosphate acetyltransferase), *pur* (pyruvate carboxylase), *pycA* (pyruvate carboxylase ATP-binding subunit) y *tpi* (triosephosphate isomerase). Una vez que los amplicones han sido secuenciados, se analizan en línea en el sitio http://pubmlst.org/bcereus/, que contiene una base de datos de muchas cepas de Bt, así como de otras especies del grupo *cereus*. Si bien esta es una herramienta altamente confiable, desafortunadamente la base de datos no está completa y deberán incluirse las secuencias de todas las cepas tipo, así como de otras cepas importantes. Sin embargo, es muy útil si se trata de serovariedades frecuentes.

Patrones de plásmidos

Una característica común de muchas cepas de Bt es la presencia de moléculas extra-cromosómicas y auto-replicables o plásmidos, en los que normalmente se localizan los genes de las toxinas Cry. El número y tamaño de estos plásmidos varía considerablemente entre diferentes cepas, oscilando desde un único plásmido hasta 17, y con un tamaño que va desde 1,4 hasta más de 130 kb (Baum & Gonzalez, 1992; Gonzalez & Carlton, 1980). Los plásmidos de Bt se pueden clasificar en dos grupos: 1) plásmidos de bajo peso molecular (< 50 kb), con un alto número de copias, y 2) plásmidos de elevado peso molecular o megaplásmidos (> 50 kb), que comparten secuencias de ADN homólogas (Lereclus, Lecadet, Ribier & Dedonder, 1982). Los plásmidos pequeños afectan la sensibilidad de las esporas a la luz ultravioleta (UV) y están involucrados en la regulación de la temperatura de la síntesis del cristal proteico (Benoit, Wilson, Bull, & Aronson, 1990). Por otro lado, algunos plásmidos pequeños han sido estudiados para el desarrollo de vectores de clonación (López-Meza, Barboza-Corona, Del Rincón-Castro, & Ibarra, 2003). Los megaplásmidos normalmente contienen los genes *cry* que codifican para las proteínas insecticidas que forman el cristal parasporal; sin embargo, son los plásmidos pequeños los que son muy útiles en la discriminación de serovariedades y cepas.

Siendo Bt una bacteria Gram-positiva, la obtención de plásmidos es más complicada que para una Gram-negativa; sin embargo, se han reportado varios métodos de extracción (Ibarra & Federici, 1986; Pérez-García, Basurto Ríos, & Ibarra, 2010).

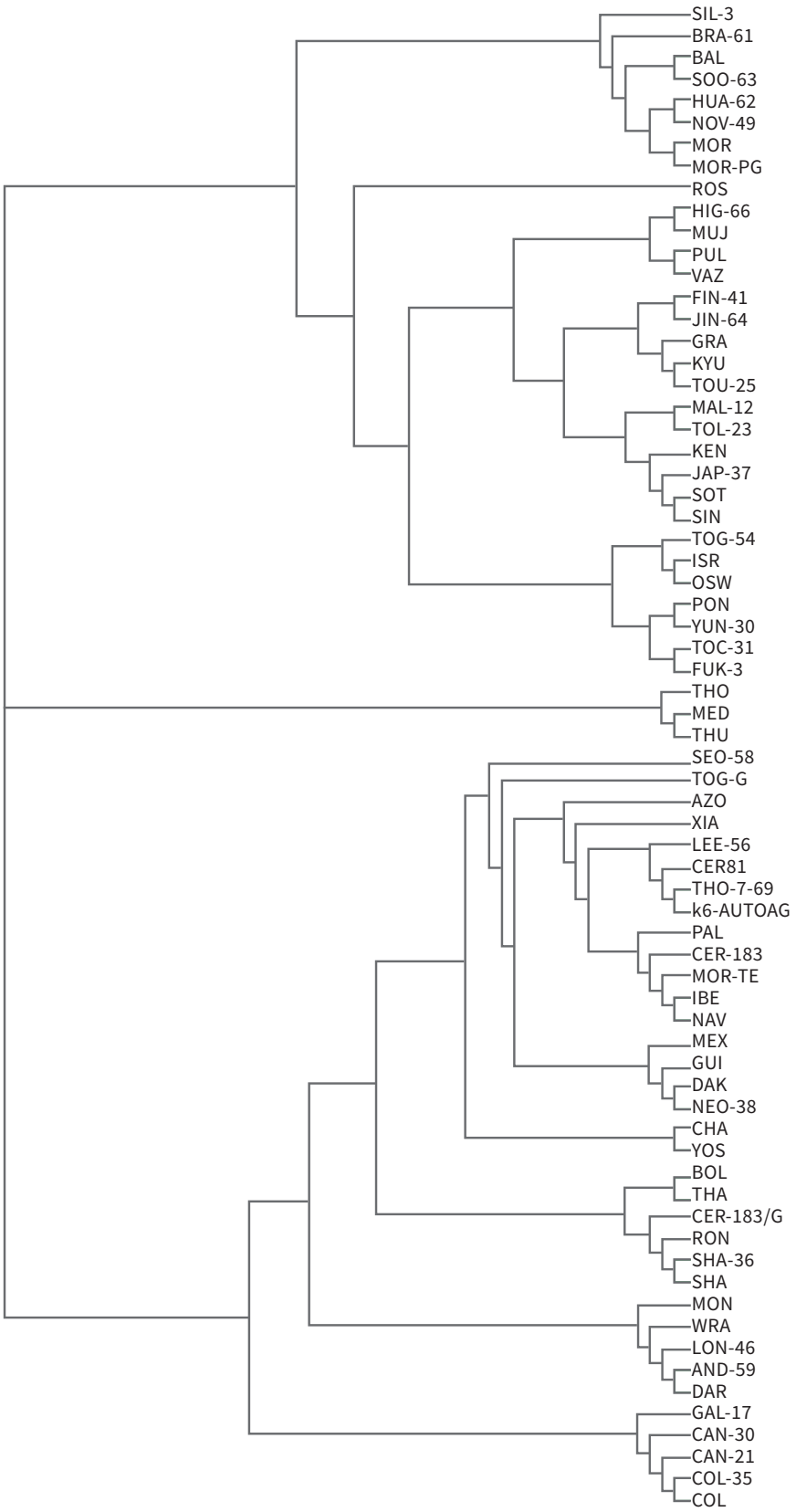


Figura 5.6. Relación filogenética entre cepas tipo de *Bacillus thuringiensis*, obtenida a partir de las secuencias del gen *flaA*.

Fuente: Santos-Mendoza et al., 2002

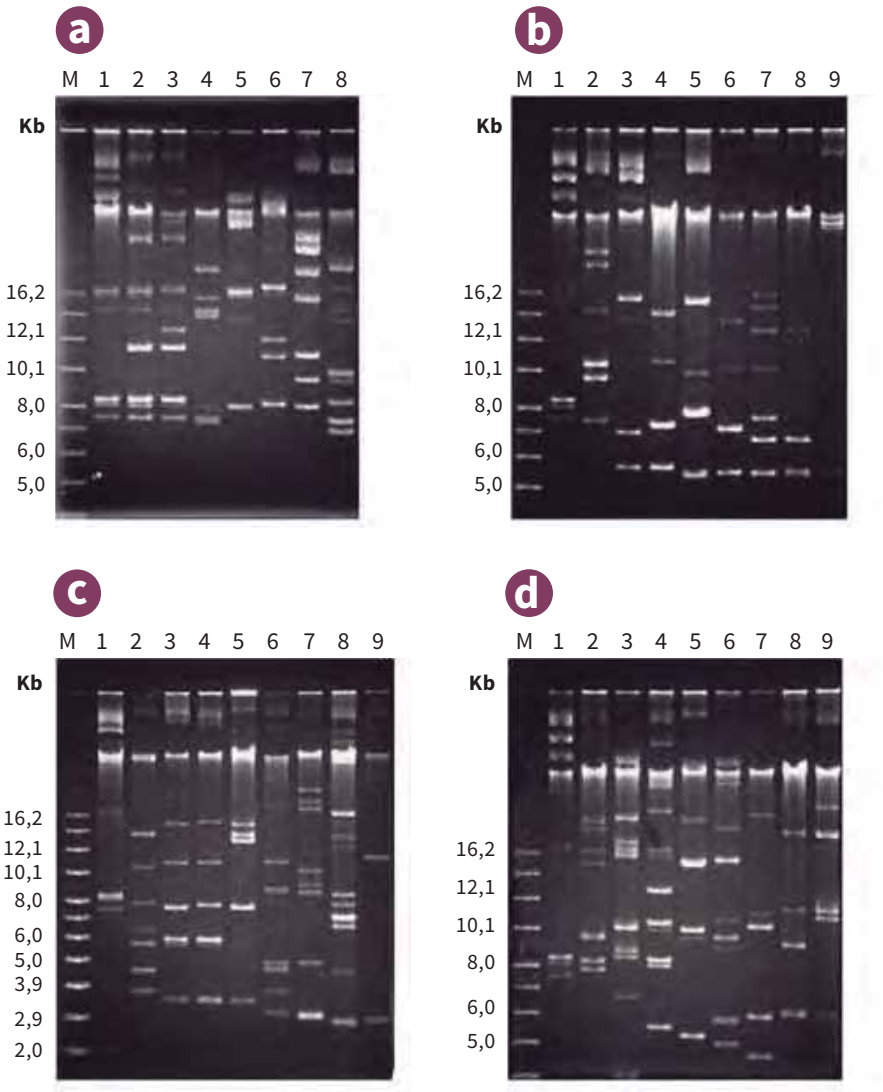


Figura 5.7. Patrón de plásmidos de cepas tipo de *Bacillus thuringiensis*. a. 1. *kurstaki* HD1, 2. *kurstaki* HD73, 3. *tolworthi*, 4. *kenyae*, 5. *galleriae*, 6. *toumanoffi*, 7. *thuringiensis*, 8. *alesti*. b. 1. *kurstaki* HD1. 2. *azorensis* 3. *amagiensis*, 4. *yunnanensis*, 5. *roskildiensis*, 6. *muju*, 7. *israelensis*, 8. *malaysiensis*, 9. *jinghongiensis*. c. 1. *kurstaki* HD1, 2. *chanpaisis*, 3. *colmeri*, 4. *iberica*, 5. *palmanyolensis*, 6. *coreanensis*, 7. *cameroun*, 8. *kyushuensis*, 9. *guiyangiensis*. d. 1. *kurstaki* HD1, 2. *zhaodongensis*, 3. *seoulensis*, 4. *aizawai*, 5. *kumamotoensis*, 6. *neoleonensis*, 7. *canadensis*, 8. *pakistani*, 9. *medellin*. M. Marcador de peso molecular supercoiled DNA (Invitrogen).

Fuente: Elaboración propia

Una vez obtenidos los plásmidos de alguna cepa, se separan por electroforesis en geles de agarosa, obteniéndose un patrón de bandas (plásmidos) que es característico de la serovariedad o de la cepa. En un estudio sobre la obtención de los patrones de plásmidos de todas las cepas tipo (Reyes-Ramírez & Ibarra, 2008), se llegó a la conclusión de que no existe una clara correspondencia entre los patrones de plásmidos y las diferentes serovariedades. Más aún, no fue posible obtener bandas polimórficas, que permitieran elaborar un dendrograma entre las diferentes cepas. Sin embargo, aun cuando los patrones de plásmidos no fueran idénticos entre cepas de la misma serovariedad, estos al menos comparten algunos plásmidos, lo que no ocurre entre cepas de diferente serovariedad. Por otro lado, existen patrones de plásmidos que son únicos para una determinada cepa de Bt, lo que tiene gran importancia en la determinación de derechos de propiedad. Un ejemplo se presenta en la figura 5.7.

Paenibacillus sp.

Las bacterias del grupo *Paenibacillus* se caracterizan por mostrar una espora elipsoide que deforma el esporangio por su tamaño relativamente grande y por ser patógenos obligados, con lo que en el medio ambiente solo se encuentran en su forma esporulada. La falta de crecimiento vegetativo en caldo de cultivo nutritivo ha dificultado el desarrollo comercial de insecticidas basados en estas bacterias. Dos especies principalmente estudiadas, *Paenibacillus* (*Bacillus*) *popilliae* y *Paenibacillus* (*Bacillus*) *lentimorbus* (Dutky, 1963), son las causantes de la "enfermedad láctea" en larvas del escarabajo japonés (*Popillia japonica*) y en otras especies de escarabajos (Klein & Jackson, 1992). Inicialmente, la diferenciación de las dos especies se basó en la presencia de un cristal paraesporal en *P. popilliae* y su ausencia en *P. lentimorbus*. Posteriormente, la tipificación molecular confirmó los dos grupos de especies, pero indicó que la diferenciación con base en el cristal paraesporal no era adecuada, ya que este puede estar presente o ausente en ambas especies (Harrison, Patel, & Yousten, 2000). El análisis molecular también mostró variación intraespecífica, que puede ser relacionada con el lugar geográfico del aislamiento y con la especificidad del huésped (Dingman, 2009; Rippere, Tran, Yousten, Hilu, & Klein, 1998).

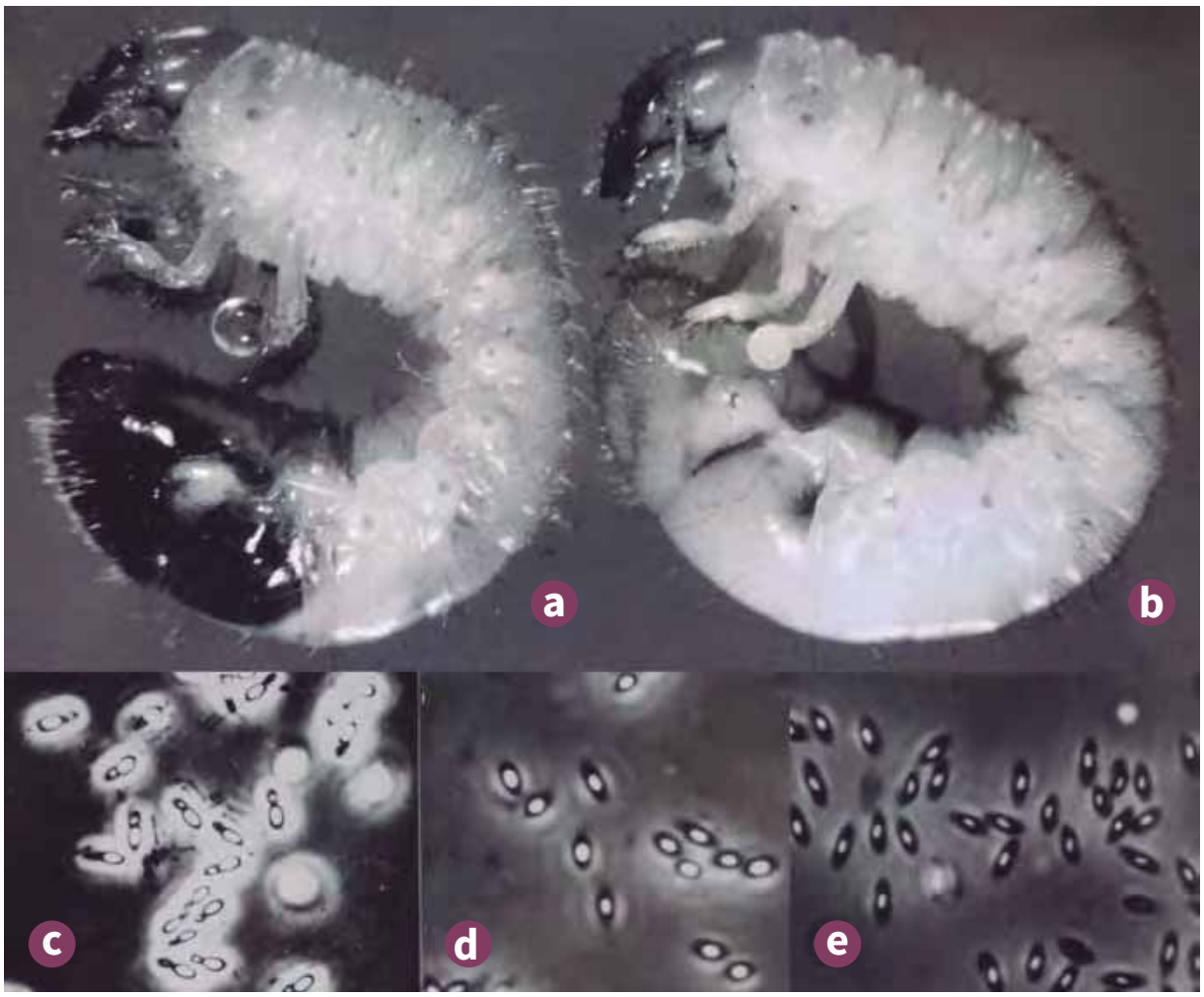


Figura 5.8. Enfermedad láctea en larvas del escarabajo, *Popillia japonica*, causada por *Paenibacillus popilliae*. a. Larva sana con hemolinfa clara; b. Larva infectada de color blanco y hemolinfa blanquecina; c. Esporas típicas Tipo A1 con espora y paraespora (Tipo huella); d.B1; e. B2 sin paraespora.

Fuente: Adaptada de Klein y Jackson (1992)

Tras la ingestión por la larva huésped, las esporas de *P. popilliae* germinan en los fluidos intestinales y las células vegetativas producidas logran llegar a la base del epitelio intestinal, donde comienzan a proliferar (Splittstoesser, Tashiro, Lin, Steinkraus, & Fiori, 1973). Las toxinas que acompañan al cristal parasporal pueden tener importancia para la disrupción del epitelio intestinal (Zhang, Hodgman, Krieger, Schnetter, & Schairer, 1997), facilitando la invasión de la hemolinfa por la bacteria, aun cuando las cepas sin cristal pueden ser tan patogénicas como las que lo tienen. Luego de este paso, suceden episodios de esporulación y germinación en la hemolinfa del huésped hasta que la acumulación de esporas da lugar al característico color blanquecino de la hemolinfa, que da nombre a la enfermedad (*láctea*). Las esporas son liberadas del cadáver y permanecen listas para un nuevo episodio de infección en el suelo (figura 5.8).

Otra especie del mismo género, *Paenibacillus larvae*, es reconocida como la causa de la Loque Americana de abejas melíferas, que se ha distribuido con las abejas domésticas en muchas partes del mundo (James & Li, 2012).

Lysinibacillus sphaericus

La bacteria *Lysinibacillus sphaericus* (figura 5.9), anteriormente denominada como *Bacillus sphaericus*, es generalmente reconocida por la producción de una espora esférica localizada en posición terminal de un esporangio que aparece deformado. La bacteria ha sido comúnmente aislada de muestras de suelo (Monnerat et al., 2004; Monnerat, Nicolas, Frachon, & Hamon, 1992), estanques eutróficos (Yousten, Fretz, & Jelley, 1985), e insectos (Kellen et al., 1965). *L. sphaericus* probablemente se compone de una serie de especies relacionadas (Gómez-Garzón, Hernández-Santana, & Dussán, 2016), que pueden ser agrupadas por la homología del ADN (*L. sphaericus* DNA homology group IIA), pero no son fácilmente distinguibles a nivel morfológico (Krych, Johnson, & Yousten, 1980). La evaluación realizada a 35 cepas indicó que estas eran casi clonales (Ge, Hu, Zheng, Wu & Yuan, 2011). Los mayores niveles de toxicidad de las cepas de *L. sphaericus* se presentan contra los mosquitos *Culex*, *Anopheles* y *Mansonia*, con niveles de toxicidad variable contra los géneros *Aedes* y *Ochlerotatus* (Berry, 2012). También se ha reportado actividad contra las moscas de arena, *Phlebotomus* sp. (Robert et al., 1997; Wahba, 2000; Wermelinger, Zanuncio, Rangel, Cecon & Rabinovitch, 2000) y otros invertebrados (Bone & Tinelli, 1987; Key & Scott, 1992).

La actividad insecticida de la bacteria se debe mayormente a la producción de toxinas binarias (Bin) durante la esporulación, incluyendo algunas toxinas Cry de *B. thuringiensis* como la Cry48-Cry49, y toxinas mosquitocidas (Mtx) durante la fase vegetativa. Estas toxinas reconocen receptores específicos en el intestino (Silva-Filha, Nielsen-LeRoux, & Jean-François, 1999), y su acción provoca la destrucción del epitelio intestinal (Singh & Gill, 1988), facilitando la invasión de la hemolinfa y septicemia. El aislamiento de nuevas cepas de *L. sphaericus* con alta eficacia

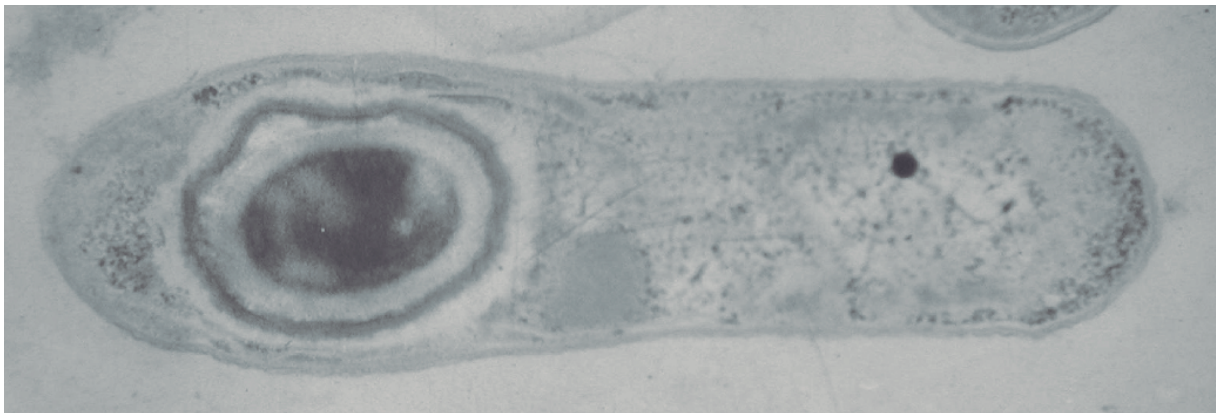


Foto: Jorge Ibarra

Figura 5.9. Micrografía de microscopía electrónica de transmisión de *Lysinibacillus sphaericus*. Imagen tomada con un microscopio Phillips Morgani operado a un voltaje de aceleración de 70 kV y 5600X de magnificación.

contra mosquitos (Hire, Hadapad, Vijayalakshmi & Dongre, 2010; Park, Mangum, Zhong, & Hayes, 2007), sugiere el potencial de poder desarrollar productos mosquitocidas más eficaces basados en esta bacteria.

Bacterias Gram-negativas

Como grupo, las bacterias Gram-negativas se caracterizan por la ausencia de esporas y pueden encontrarse en forma de bacilos y cocos, como especies de aerobios y anaerobios facultativos. Asimismo, las bacterias Gram-negativas están ampliamente distribuidas y son abundantes en el medio ambiente; de esta manera, no es sorpresivo encontrarlas y siempre pueden ser aisladas de insectos muertos o enfermos. Cuando comenzó el desarrollo de la patología de insectos, los investigadores dedicaron considerables esfuerzos al aislamiento y diagnóstico de enfermedades asociadas a bacterias Gram-negativas (Bucher, 1981; d'Herelle, 1911). No obstante, estos estudios fueron perdiendo credibilidad, debido a la inestabilidad de las bacterias, ya que no poseen estructuras de resistencia como las esporas; además, se presentaron inconsistencias en la obtención de efectos patogénicos y en la mortalidad del insecto, probablemente debido a que la mayoría de especies son patógenos oportunistas. En contraste con la diversidad de bacterias entomopatógenas del género *Bacillus*, solo unas cuantas especies de bacterias no formadoras de esporas se han confirmado como entomopatógenas.

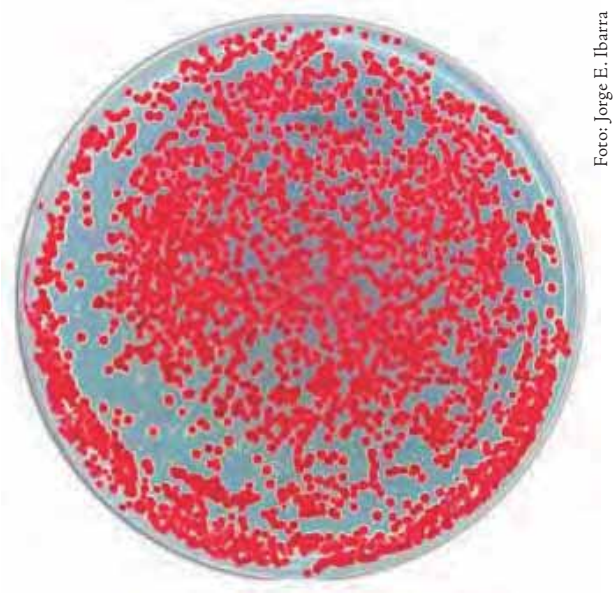


Foto: Jorge E. Ibarra

Figura 5.10. Vista macroscópica de colonias de *Serratia marcescens*, mostrando su típico pigmento de prodigiosina.

Serratia sp.

Algunos miembros del género *Serratia* pueden infectar un amplio rango de huéspedes, incluyendo plantas, vertebrados e invertebrados (Grimont & Grimont, 1978; Hejazi & Falkiner, 1997; Inglis & Lawrence, 2001). Los primeros registros de *Serratia* como patógeno de insectos se realizaron a partir de cadáveres de gusanos de seda que tenían un color rojizo (Steinhaus, 1941). La bacteria causante, *Serratia marcescens* (figura 5.10), produce grandes cantidades de enzimas degradadoras como lecitinasas, quitinasas (Lysenko, 1976) y proteasas (Kaška, 1976), que ayudan a la invasión de la cavidad hemocélica en la que la bacteria se multiplica rápidamente y el insecto muere por septicemia (figura 5.11) (Podgwaite & Cosenza, 1976). Muchas cepas de *S. marcescens* son activas por vía oral contra un gran número de especies de insectos, incluyendo la mosca tsetse (*Glossina* spp.) (Poinar, Wassink, Leegwater-van der Linden, & van der Geest, 1979), el gusano bellotero del maíz (*Helicoverpa zea*) (Robert, Farrar, Phyllis, Martin, & Ridgway, 2001), la mosca voladora (*Lucilia sericata*) (O'Callaghan, Garnham, Nelson, Baird, & Jackson, 1996) y los escarabajos de mayo (*Melolontha melolontha*) (Jackson & Zimmermann, 1996). Sin embargo, aunque en algunos experimentos se alcanzan altos niveles de patogenicidad, la variabilidad de las respuestas y la preocupación por su relación con patógenos humanos ha limitado la investigación sobre *S. marcescens* como un plaguicida microbiano.

En contraste, algunas cepas de *Serratia proteamaculans* y de una nueva especie, *Serratia entomophila*, causan la enfermedad ámbar en las larvas del gusano blanco de la hierba, *Costelytra zealandica* (Coleoptera: Scarabaeidae) (Grimont, Jackson, Ageron, & Noonan, 1988; Stucki, Jackson, & Noonan, 1984). C.

Fotos: Trevor Jackson

Figura 5.11. Larvas del escarabajo *Costelytra givenii*. a. Larva sana; b. Larva con infección crónica de *Serratia entomophila*; c. Larva muerta con septicemia causada por *Yersinia entomophaga*.

zealandica es una plaga endémica y ubicua en Nueva Zelanda, donde se alimenta de las raíces de hierbas, tréboles y de un amplio rango de plantas comerciales, incluyendo los cultivos de cereales. Las larvas suelen alcanzar niveles perjudiciales después de 2 a 4 años de la siembra, causando parches de daño en el pasto que se incrementan en tamaño año tras año (Kain & Atkinson, 1970). En algunos casos, se han registrado más de 400 larvas por m^2, lo que ocasiona pérdida en la producción e inhibición de la regeneración de las pasturas (Stucki et al., 1984).

A la fecha, solo otros tres aislamientos geográficamente distintos de *S. entomophila* han sido registrados en el mundo: 1) una cepa no patogénica aislada de un pozo de agua en Francia; 2) el aislamiento Mexicano Mor. 4.1, reportado para el control del gusano blanco *Phyllophaga blanchardi* (Núñez-Valdez et al., 2008) y 3) la cepa de *S. entomophila* AB2, aislada del gusano del algodón *Heliothis armigera* en India (Chattopadhyay, Gorthi, Chatterjee & Sen, 2011). Sin embargo, se necesita una alta dosis de *S. entomophila* para el control de *H. armigera*, el gusano africano del algodón (*Spodoptera littoralis*) y las larvas de la polilla dorso de diamante (*Plutella xylostella*) (Chattopadhyay, Chatterjee, Gorthi & Sen, 2012).

La enfermedad del gusano blanco de la hierba, denominada "enfermedad ámbar", fue identificada mediante el reconocimiento de una condición inusual: la aparición de una coloración crema o blanca en las larvas, asociada con la disminución de la población en los estudios en campo (Trought, Jackson & French, 1982). Después de que la larva ingiere las cepas patogénicas de *S. entomophila* o de *S. proteamaculans*, estas dejan de alimentarse de 2 a 5 días. El rápido inicio de la inanición de las larvas antes de morir evita nuevos daños en las pasturas. El intestino de las larvas, que normalmente es de color oscuro, cambia y las larvas toman una característica coloración ámbar (Jackson, Huger & Glare, 1993). Los niveles de las principales enzimas digestivas, tripsina y quimotripsina, disminuyen abruptamente al tiempo que el intestino cambia su color.

En contraste con muchas otras bacterias entomopatógenas, se ha observado que no hay destrucción o formación de ampollas en el epitelio del intestino medio dentro del tracto alimenticio (Jackson et al., 1993). Las larvas pueden permanecer en este estado de enfermedad por un período prolongado (1 a 3 meses) antes de que la bacteria eventualmente invada el hemocele, resultando en la rápida muerte del insecto

por septicemia (Jackson et al., 1993; Jackson, Boucias, & Thaler, 2001). En relación con el ciclo de vida de las larvas (aproximadamente 7 a 8 meses), el período de la enfermedad representa un tiempo extenso, denominándose entonces una infección crónica. La dosis letal media (DL_{50}) para *S. entomophila* cepa 154 contra la larva del gusano blanco de la hierba fue calculada entre $2x10^4$ a $4x10^4$ células/larva (Jackson et al., 2001).

La diferenciación de las formas patogénicas y no patogénicas, entre aislamientos de dos especies de *S. entomophila* y *S. proteamaculans* colectados en campo, fue resuelta mediante la identificación de un plásmido asociado con los aislamientos patogénicos (Glare, Corbett, & Sadler, 1993; Grkovic, Glare, Jackson, & Corbett, 1995). Los factores de virulencia de *S. entomophila* y de *S. proteamaculans* son codificados sobre un gran plásmido conjugativo denominado pADAP (por las siglas en inglés de "amber disease associated plasmid") o "plásmido asociado a la enfermedad ámbar" (Glare et al., 1993). El plásmido pADAP codifica dos regiones asociadas a la virulencia: 1) un complejo de toxinas (TC) activas en el insecto, denominadas *sepABC* ("*S. entomophila* pathogenicity" o "patogenicidad de *S. entomophila*") (Hurst, Glare, Jackson, & Ronson, 2000) y 2) el profago AFP (antifeeding prophage), que inhibe la alimentación. Los TC fueron identificados en el nematodo vector de la bacteria *Photorhabdus luminescens* (Bowen et al., 1998) y han sido identificados en un rango diverso de bacterias incluyendo *Bacillus* y algunas especies fúngicas. Generalmente, los TC están compuestos por tres proteínas denominadas TC-A, TC-B y TC-C, que se combinan para formar un complejo con actividad insecticida (Ffrench-Constant & Waterfield, 2005). Los aminoácidos que componen la proteína TC-A varían de acuerdo con el rango de hospederos (Sergeant, Jarrett, Ousley, & Morgan, 2003; Waterfield, Hares, Yang, Dowling, & Ffrench-Constant, 2005), mientras que los componentes de la proteína TC-C son los principales efectores de la toxina (Hurst et al., 2000).

El segundo factor de virulencia en el plásmido pADAP es el profago que inhibe la alimentación, región codificante AFP, formada por un grupo de 18 genes, cuyos productos se combinan para formar una estructura similar a un virus. La ingestión de este profago por la larva del gusano blanco de la hierba hace que cese su alimentación (Hurst, Glare, & Jackson, 2004; Hurst, Jones, Tan, & Jackson, 2007). Los productos traducidos de *afp1-afp16* forman la partícula de tipo fago AFP, mientras que se ha propuesto que *afp17* y *afp18* codifican los componentes de la toxina llevados por el AFP (Hurst et al., 2004). Ortólogos del gen AFP, denominados como PVC (de la sigla de *Photorhabdus virulence cassettes*) o "cassettes de virulencia de *Photorhabdus*", fueron identificados en el genoma de P. luminescens TTO1 (Hurst et al., 2004). Los genes PVC codifican para un rango de toxinas, incluyendo Mcf y LopT (Hurst et al., 2004; Yang, Dowling, Gerike, Ffrench-Constant, & Waterfield, 2006). Basados en datos bioinformáticos, estructurales y de predicción de función, el AFP ha sido descrito como una variante libre de células del sistema de secreción tipo VI (Bönemann, Pietrosiuk, & Mogk, 2010; Zhang, De Souza, Anantharaman, Iyer, & Aravind , 2012).

La capacidad de toxinas como AFP para detener la alimentación del insecto reduce la cantidad de materia orgánica que entra en su intestino, disminuyendo así la tasa de los procesos metabólicos en el insecto. La reducción en el paso de alimentos a través del intestino a su vez facilita el establecimiento de *S. entomophila* dentro de este. La cepa *S. proteamaculans* 143, que no contiene la AFP pero posee los ortólogos de Sep TC, muestra una patogenicidad variable hacia el gusano blanco de la hierba, del que aproximadamente un 65% de los insectos infectados sucumben a la enfermedad ámbar, mientras que el otro 35% permanecen saludables (Glare et al., 1993; Hurst, Becher, & O'Callaghan, 2011). Esto puede evidenciar que en esta instancia el patógeno es incapaz de establecerse en el subconjunto de larvas sanas.

Aislamientos patogénicos y no patogénicos de *S. entomophila* han sido descritos por Dodd, Hurst, Glare, O'Callaghan y Ronson (2006) y Glare et al. (1993); generalmente, estas bacterias se encuentran en niveles entre $1x10^3$ y $1x10^5$ bacterias/g de suelo de pasto (O'Callaghan, Young, Barlow & Jackson, 1999). En la evaluación de cepas de *Serratia* a partir de suelos relativamente desprovistos de larvas del gusano blanco de la hierba, se ha encontrado que la mayoría de los aislamientos no son patogénicos (O'Callaghan et al., 1999). En ausencia de patógenos o predación, las poblaciones del gusano blanco de la hierba se incrementarán año tras año, hasta que

eventualmente la enfermedad entre en el sistema. Este escenario es acorde con la epidemiología de las enfermedades, en la que las poblaciones de larvas de *C. zealandica* se incrementan por un período cercano a los 5 años antes de sufrir una disminución natural como resultado de la enfermedad. Durante este tiempo, hay un aumento simultáneo en el número de *S. entomophila* en campo (O'Callaghan et al., 1999). Por otra parte, la presencia de la enfermedad en un porcentaje mayor al 20% da como resultado una probabilidad mayor al 90% de su disminución (Jackson, Townsend, & Barlow, 1999). El impacto de las epizootias naturales de la enfermedad ámbar sobre las poblaciones del gusano blanco de la hierba estimuló la selección de una cepa y su desarrollo como un biocontrolador comercial (Jackson, Pearson, O'Callaghan, Mahanty, & Willcocks, 1992).

Yersinia entomophaga

En contraste con la naturaleza crónica y la especificidad del huésped de *S. entomophila*, el patógeno Gram-negativo *Yersinia entomophaga* puede actuar contra diversas especies de insectos y parece ser promisoria como un bioplaguicida. El género *Yersinia* es mejor conocido por *Yersinia pestis*, causante de la peste bubónica, y que coloniza el tracto alimenticio de la pulga de la rata, *Xenopsylla cheopis* (Jarrett et al., 2004). Las investigaciones más recientes sobre la actividad insecticida de *Yersinia* spp. se han focalizado en su posible papel en la virulencia cuando se administró oralmente a larvas neonatas o por inyección en el hemocele. Los resultados sugieren que estas cepas son solo débilmente patógenas. Por ejemplo, Champion et al. (2009) mostraron que $1x10^6$ unidades formadoras de colonia (UFC) de *Y. pseudotuberculosis* IP32953 fueron requeridas para causar una mortalidad del 53% cuando se inyectaron en larvas de *G. mellonella*. La secuenciación de los genes ha revelado que genes homólogos del TC son comunes entre aislamientos de *Yersinia* (Fuchs, Bresolin, Marcinowski, Schachtner, & Scherer, 2008), pero estos expresan alta varia-bilidad en términos de la actividad insecticida.

La mayor letalidad oral de las larvas del gusano del tabaco (*Manduca sexta*) fue obtenida con cepas de *Yersinia*, que contenían el determinante de patogenicidad de TC. Por su parte, Bresolin, Morgan, Ilgen, Scherer y Fuchs (2006) encontraron que la baja temperatura fue crítica para la inducción de la transcripción del gen TC y de la patogenicidad de extractos celulares completos de *Y. enterocolitica* hacia *M. sexta*.

La bacteria *Y. entomophaga*, aislada a partir del cadáver de *C. zealandica*, es patogénica por vía oral sobre un amplio rango de especies de coleópteros y lepidópteros, incluyendo especies no endémicas al país de origen, como la langosta migratoria (*Locusta migratoria*) (Hurst Becher, Young, Nelson, & Glare, 2011). La dosis letal media a los seis días por vía oral es aproximadamente $3x10^4$ células bacterianas de *Y. entomophaga* por larva de *C. zealandica*. Durante el proceso de infección, las larvas vomitan, expulsando frágiles gránulos y cambiando su apariencia de grisácea en su estado saludable a color ámbar y ya moribundas a color marrón. Este proceso de enfermedad está acompañado por una disminución en la alimentación. Las bacterias entran a la cavidad hemocélica 48 horas después de su ingestión; paso seguido, causan la rápida muerte del insecto (Hurst, van Koten, & Jackson, 2014). El principal determinante de virulencia de *Y. entomophaga* es un TC derivado activo en el insecto denominado como Yen-TC. Los componentes de Yen-TC son codificados sobre aproximadamente 32-kb y designados como $PAI_{Ye96.}$ La ausencia de algunos determinantes de mobilidad sugieren que PAI_{Ye96} puede ser heredado de forma estable y solo se transmite verticalmente (Hurst, Jones, et al., 2011).

Estudios histológicos en los que se evalúa el efecto de la toxina Yen-TC purificada o la bacteria sobre larvas de *C. zealandica* mostraron que el intestino medio de las larvas se deterioró en un período cercano a las 96 horas (Marshall et al., 2012). En el estado inicial de la enfermedad, *Y. entomophaga* puede ser observada en la membrana peritrófica, en el sitio de unión entre el intestino posterior y el saco de fermentación. Se cree que en esta región es donde las quitinasas asociadas a Yen-TC degradan la membrana peritrófica, permitiendo que la bacteria ingrese a la cavidad hemocélica (Hurst et al., 2014). La producción de Yen-TC es dependiente de la temperatura, ya que grandes cantidades se liberan a 25 °C, pero no a

37 ºC (Hurst, Jones, et al., 2011), una característica que afecta a la virulencia de la bacteria. La inyección de *Y. entomophaga* o un derivado en el que el grupo de genes Yen-TC ha sido eliminado reveló una dosis letal media a los 4 días de aproximadamente tres células bacterianas por larva. Este número de bacterias es similar al número que se requiere de *P. luminescens* para causar letalidad por inyección intra-hemocélica. El bajo valor requerido a nivel intra-hemocélico indica que la bacteria puede haber evolucionado para sobrevivir en la cavidad hemocélica del insecto (Hurst et al., 2015).

La rápida tasa de mortalidad de *Y. entomophaga* indica que la bacteria probablemente pueda ser usada como una medida curativa para el manejo de plagas de insectos. Investigaciones realizadas en campo sobre la eficacia y persistencia de la bacteria *Y. entomophaga*, aplicada como un cebo activo de porina (*Wiseana* spp.), han encontrado que el número de bacterias se reduce hasta ser indetectable, aproximadamente 160 días después de la aplicación en campo (Ferguson et al., 2012). Recientes ensayos de campo en los que se evaluó *Y. entomophaga* aplicada como un cebo presentaron un control entre el 70 y 80% sobre adultos del escarabajo negro (*Heteronychus arator*) (Hurst, datos sin publicar). Actualmente, la bacteria se encuentra en los estados finales de evaluación en campo y de su toxicidad, así como en pasos previos para su registro y comercialización. Sin embargo, el hecho de que algunas especies de *Yersinia* sean reconocidas como patógenos humanos, el uso de *Y. entomophaga* abre interrogantes sobre su uso como agente de control biológico (Jurat-Fuentes & Jackson, 2012).

Bacterias simbiontes de nematodos

Las bacterias entomopatógenas simbiontes de nematodos pertenecen al género *Photorhabdus* o *Xenorhabdus*, y requieren ser transportadas por el nematodo con el que se asocian (*Heterorhabditis* o *Steinernema*, respectivamente) para tener un efecto en el hemocele del insecto (Ffrench-Constant, Dowling, & Waterfield, 2007; Owuama, 2001). Una vez que se establece el contacto con un insecto, el nematodo penetra fisicamente la cutícula de este y regurgita la bacteria simbionte directamente en su hemocele. El rápido cambio en el medio ambiente durante la transición desde el nematodo al insecto objetivo desencadena la liberación a gran escala de metabolitos bacterianos y toxinas, incluidos los miembros de la familia TC. A la fecha, el uso comercial de estas bacterias endosimbiontes está relacionado con el uso de las especies de nematodos con las que se asocian (Lacey & Georgis, 2012).

Chromobacterium spp.

Chromobacterium subtsugae es una bacteria Gram-negativa con forma de bacilo, que pertenece a las betaproteobacterias (Hoshino, 2011). Se ha encontrado que posee alta actividad insecticida contra especies de insectos de diversos órdenes (Coleoptera, Lepidoptera, Hemiptera), en las que se incluye el escarabajo de la patata (*Leptinotarsa decemlineata*), el gusano de la raíz del maíz (*Diabrotica virgifera*) y la chinche apestosa (*Nezara viridula* L.) (Martin, Hirose, & Aldrich, 2007; Martin, Gundersen-Rindal, Blackburn & Buyer, 2007). El modo de acción de C. *subtsugae* es complejo, ya que emplea diferentes metabolitos que tienen efecto insecticida (Asolkar, Huang, Koivunen, & Marrone, 2015). La cepa PRAA4-1T de C. *subtsugae* ha sido desarrollada como ingrediente activo del insecticida Grandevo® (Marrone BioInnovations Incorporated, Davis, CA, USA) para usar contra un amplio espectro de especies de insectos masticadores y chupadores, incluyendo el ácaro de dos manchas (*Tetranychus urticae*) (orden Trombidiformes).

Pseudomonas spp.

Se han identificado varias *Pseudomonas* spp. asociadas a las raíces de las plantas que son activas contra insectos, como *Pseudomonas protegens*, *P. chlororaphis* y *P. entomophila* (Kupferschmied, Maurhofer & Keel, 2013). La bacteria *P. protegens* Pf-5 (comúnmente *Pseudomonas fluorescens* Pf-5) y *P. protegens* CHA0 fueron aisladas a partir de los llamados "suelos supresivos", en los que la enfermedad no ocurre bajo condiciones óptimas para el desarrollo de patógenos de las plantas (Kinkel, Bakker & Schlatter, 2011).

La cepa CHA0 de *P. protegens* es activa oralmente en numerosas especies de lepidópteros, tales como *S. littoralis*, el gusano del tabaco (*H. virescens*) y la polilla dorso de diamante (*P. xylostella*) (Ruffner et al., 2013). Ortólogos de la toxina activa contra insectos afectados por *Photorhabdus* se encuentran presentes en el genoma de *P. protegens* Pf-5 y *P. protegens* CHA0, incluyendo la toxina Mcf anteriormente mencionada de *Photorhabdus luminescens*. En el aislamiento CHA0 de *P. protegens*, un ortólogo de Mcf codificado por el gen *fitD* es parte de los componentes de un gran grupo de genes (*fitA-E*), que —según se ha propuesto—median en el transporte de FitD (Mcf) fuera de la célula bacteriana (Pechy-Tarr et al., 2013). Además, ortólogos de *fit* han sido identificados en los genomas de *P. protegens* Pf-5 y *P. chlororaphis* (Loper et al., 2012; Ruffner et al., 2013; Shen, Hu, Peng, Wang & Zhang, 2013). Tanto *P. protegens* como *P. chlororaphis* tienen actividad por vía oral contra *S. littoralis*, *H. virescens* y *P. xylostella*, mientras que las cepas de *P. protegens* CHA0 deficientes de *fit* no poseen actividad por vía oral (Ruffner et al., 2013).

La bacteria *P. protegens* CHA0 parece ser traslocada directamente dentro del hemocele del gusano de la col después de 24 horas de ingerirla por vía oral, mediante un mecanismo que aún no está definido (Kupferschmied et al., 2013). La bacteria es altamente letal aún en bajas dosis cuando se inyecta en el hemocele de larvas de *M. sexta* y G. *mellonella* (Péchy-Tarr et al., 2008). La capacidad de esta bacteria para sobrevivir dentro del hemocele sugiere que, al igual que las bacterias asociadas a nematodos *Photorhabdus* y *Xenorhabdus* o a *Y. entomophaga*, *P. protegens* CHA0 tiene la capacidad de suprimir, evadir o sobreponerse al sistema inmune del insecto.

Otro miembro de las Pseudomonadaceae es *P. entomophila*, una bacteria ubicua que infecta por vía oral larvas de insectos de diferentes órdenes, causando grandes daños en las células intestinales. *P. entomophila* es patogénica en larvas y adultos de la mosca de la fruta (*Drosophila melanogaster*) cuando se aplica en altas dosis (Vodovar et al., 2005). La bacteria codifica numerosos determinantes de virulencia entomo-activos (Vodovar et al., 2006), como la toxina proteica formadora de poros monalisina, que causa un daño particularmente significativo en las células intestinales de *D. melanogaster* (Opota et al., 2011). Además de la monalisina, *P. entomophila* también alberga toxinas relacionadas con TC, incluyendo hemolisinas y lipopéptidos (Vodovar et al., 2006).

Burkholderia spp.

Otro miembro de las Betaproteobacteria, *Burkholderia* sp. (familia Burkholderiaceae), ha sido recientemente reportado por afectar la oviposición y la fecundidad del insecto del fríjol (*Riptortus pedestris*) (Hemiptera) (Kil et al., 2014). Una nueva cepa de *Burkholderia* aislada en el suelo de Japón e identificada como *Burkholderia rinojensis* sp. nov. cepa A396 se estableció como entomopatogénica (Cordova-Kreylos et al., 2013). Se ha encontrado que los sobrenadantes estables al calor de lo caldos de cultivo de A396 tienen efecto tanto a nivel oral como por contacto contra el gusano común de la remolacha (*Spodoptera exigua*) y el ácaro de dos manchas (*Tetranychus urticae*).

Aunque los miembros de *Pseudomonas* y *Burkholderia* aún no han sido desarrollados como productos comerciales, las propiedades entomopatogénicas de estas bacterias sugieren su uso potencial como bioplaguicidas efectivos. No obstante, al no tener una etapa de reposo o dormancia, los patógenos Gram-negativos que no forman esporas son susceptibles a variables externas, limitando su uso en ambientes hostiles tales como aplicaciones foliares. La susceptibilidad a factores ambientales de las bacterias no formadoras de esporas afecta la persistencia y la eficacia de estos patógenos después de su aplicación en campo. Por lo tanto, el desarrollo de tecnologías mejoradas de formulación y aplicación podrían ayudar a superar dichos inconvenientes.

Recientemente, se han encontrado numerosas bacterias entomopatógenas Gram-negativas que pueden actuar como promotoras de crecimiento de plantas, con algunas cepas capaces de formar relaciones endosimbióticas con su planta de origen (Kergunteuil et al., 2016; Kupferschmied et al., 2013). Estas cepas, cuando se utilizan con el huésped apropiado y se aplican en el ambiente adecuado, deben mejorar a largo plazo la persistencia del microorganismo aplicado.

Historias de éxito y aplicación

El mejor ejemplo de éxito en el uso de bacterias entomopatógenas es *B. thuringiensis*, ya que aproximadamente el 95% de los bioplaguicidas a base de bacterias que se comercializan tienen como ingrediente activo Bt (Mnif & Ghribi, 2015); además, su mercado global estimado a finales del siglo sobrepasa los US$110 millones por año (Whalon & Wingerd, 2003) y continúa con un crecimiento progresivo. Se han desarrollado diferentes tipos de formulaciones, la gran mayoría utilizando como ingrediente activo esporas y cristales Cry a partir de diferentes cepas de *B. thuringiensis* var. Kurstaki (Btk) cepa HD1, que contiene las toxinas Cry1Aa, Cry1Ab, Cry1Ac y Cry2Aa; *B. thuringiensis* var. Aizawai cepa HD137, que contiene las toxinas Cry1Aa, Cry1B, Cry1Ca y Cry1Da; *B. thuringiensis* subsp. *san diego* y *B. thuringiensis* subsp. *tenebrionis*, que contienen la toxina Cry3Aa, y *B. thuringiensis* var. Israelensis con las toxinas Cry4A, Cry4B, Cry11A y Cyt1Aa (Schünemann, Knaak, & Fiuza, 2014).

Federici (2007) consideró que la principal razón para el éxito de Bt como bioplaguicida comercial ha sido la facilidad de su producción, lo que junto con la capacidad para escalar el proceso de fermentación ha permitido la obtención de los volúmenes requeridos para el control de insectos plaga en la agricultura y la salud pública.

En Colombia, actualmente se encuentran aproximadamente 20 productos registrados ante el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) a base de Bt (tabla 5.4), de los cuales tan solo el 15% corresponde a una formulación líquida, en tanto que el 85% restante corresponde a formulaciones de tipo sólido. Asimismo, ante la Environmental Protection Agency (EPA) el número de productos registrados a base de Bt sobrepasa los 90 (EPA, 2008). Para el cultivo de maíz, la formulación granulada había sido la forma más común de uso (Couch, 2000), hasta que fue reemplazado por el maíz Bt transgénico. Sin embargo, Bt sigue siendo ampliamente utilizado para plagas agrícolas, forestales y de plantación, pero principalmente como gránulos secos y dispersables, debido a sus mejores características de almacenamiento y distribución.

La bacteria *S. entomophila* tiene un único hospedero susceptible, el gusano blanco de la hierba de Nueva Zelanda (*C. zealandica*), lo que limita su uso solo a Nueva Zelanda. A pesar de esto, este ha sido un modelo interesante para el desarrollo de nuevos bioplaguicidas y cumple un papel importante dentro del país (Jackson, 2007). En los primeros experimentos en los que se realizó la aplicación de *S. entomophila* para *C. zealandica*, se aplicó en el suelo una suspensión de la bacteria en un alto volumen de agua (Jackson, Pearson, & Stucki, 1986).

Si bien estos ensayos fueron una buena "prueba de concepto" para la aplicación de las bacterias, inicio de la enfermedad y control de la población, los métodos de aplicación evidentemente no se podían llevar a la práctica y exponían a la bacteria al estrés ocasionado por la radiación ultravioleta y su desecación sobre la superficie del suelo. Como solución a este inconveniente, se aplicó una suspensión bacteriana directamente dentro del suelo a medida que el agua caía en el surco producido por una sembradora de semillas modificada. Este método fue adoptado comercialmente y *S. entomophila* fue aplicada como el producto biocontrolador de *C. zealandica* Invade™ entre 1990 y el 2002. Las limitaciones ocasionadas por la necesidad de usar un alto volumen de agua y la necesidad de utilizar un equipo especializado llevaron al desarrollo de una formulación a base de la bacteria correspondiente a un granulado seco, Bioshield™ (Johnson, Pearson, & Jackson, 2001), que ha sido utilizado en los años subsiguientes (Townsend et al., 2004).

Como un nuevo organismo, *S. entomophila* fue sometida a evaluaciones completas para determinar su seguridad y registro (Jackson et al., 1992) y ha sido comercializada por diferentes empresas en Nueva Zelanda. El éxito de *S. entomophila* se ha dado por su capacidad para establecerse en el suelo e iniciar el ciclo de la enfermedad en la población blanco, después de lo cual la bacteria patogénica persistirá en el suelo. Asimismo, se ha facilitado por la capacidad de convertir las bacterias en un producto estable a través de la fermentación y la formulación microbianas (Johnson et al., 2001; Visnovsky, Smalley, O'Callaghan, & Jackson, 2008). El producto Bioshield® en forma líquida o granular es ahora comercializado por Biostart™ (Bio-Start Limited, Auckland, New Zealand) como un control preventivo (Biostart, 2017).

Tabla 5.4. Productos a base de *Bacillus thuringiensis* registrados en Colombia

Nombre comercial	Ingrediente activo	Tipo de formulación	Actividad biológica
Dipel WP	Bt var. Kurstaki	Polvo mojable	No registra
Thuricide HP WP	Bt var. Kurstaki serotipo 3a3b	Polvo mojable	*Trichoplusia ni* (oruga de la col o gusano falso medidor), *Pseudoplusia* (*Chrysodeixis*) *includens* (gusano medidor), *Alabama argillacea* (gusano del algodón), *Spodoptera frugiperda* (gusano cogollero del maíz)
Dipel Se	Bt var. Kurstaki	Suspoemulsión	*Heliothis virescens* (gusano bellotero), *Alabama argillacea* (gusano del algodón), *Plutella xylostella* (palomilla dorso de diamante), *Ceramidia viridis* (gusano peludo de la hoja del banano)
Dipel 10G	Bt var. Kurstaki	Granulado	No registra
Dipel WG	Bt var. Kurstaki	Polvo mojable	*Alabama argillacea* (gusano del algodón), *Trichoplusia ni* (oruga de la col o gusano falso medidor), *Spodoptera frugiperda* (gusano cogollerod el maíz), *Pseudoplusia* (*Chrysodeixis*) *includens* (gusano medidor)
Turilav WP	Bt var. Kurstaki	Polvo mojable	*Heliothis virescens* (gusano bellotero), *Alabama argillacea* (gusano del algodón)
Ecotech Bio WP	Bt var. Kurstaki	Polvo mojable	*Alabama argillacea* (gusano del algodón), *Anticarsia gemmatalis* (gusano de las leguminosas)
Agree 50 WP	Bt var. Aizawai	Polvo mojable	No registra
Ecotech Pro	Bt var. Kurstaki	Suspoemulsión	*Alabama argillacea* (gusano del algodón), *Anticarsia gemmatalis* (gusano de las leguminosas)
Baton SC	Bt var. Kurstaki	Suspensión concentrada	*Anticarsia gemmatalis* (gusano de las leguminosas), *Trichoplusia ni* (oruga de la col o gusano falso medidor), *Omiodes indicata* (pegador de hojas)
Javelin WG	Bt var. Kurstaki serotipo 3a3b	Polvo mojable	*Plutella xylostella* (palomilla dorso de diamante)
Xentari WG	Bt var. Aizawai	Gránulos dispersables WP	*Alabama argillacea* (gusano de algodón) y *Spodoptera frugiperda* (gusano cogollero del maíz)
Bacillus agrogen WP	Bt var. Kurstaki	Polvo mojable	*Heliothis tergeminus* (gusano cogollero), *Manduca sexta* (gusano del tabaco)
Turivec	Bt var. Kurstaki cepa CIB-172-0451	Concentrado emulsionable	*Spodoptera frugiperda* (gusano cogollero del maíz)
Bassar WP	*Beauveria bassiana* y Bt	Polvo mojable WP	Larvas de *Copitarsia* sp. (copitarsia)
Bitoxibacillin WP	Bt var. Thuringiensis	Polvo mojable	*Spodoptera frugiperda* (gusano cogollero del maíz) y *Tetranychus urticae* (araña roja)
Bak-tur WP	Bt var. Kurstaki	Polvo mojable	*Heliothis virescens* (gusano bellotero)
BT-NOVA WP	Bt var. Kurstaki	Polvo mojable	Gusano peludo o defoliador
Bt-biox	Bt var. Kurstaki	Polvo mojable	*Spodoptera frugiperda* (gusano cogollero del maíz)

Fuente: Adaptada de Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) (2017)

Limitaciones en el uso de bacterias entomopatógenas

De acuerdo con Van der Pas, Waddington y Ravensberg (2000), los factores limitantes en el uso de bioplaguicidas se pueden dividir en tres tipos: 1) biológicos (modo de acción y efecto de factores ambientales), 2) técnicos (producción, formulación y vida útil) y 3) económicos o relacionados con el mercado (competencia con productos químicos, eficacia, costos, potencial de ventas). Para el caso de los bioplaguicidas a base de bacterias entomopatógenas, y principalmente para el caso de las que carecen de estructuras de resistencia como las esporas, quizás unas de sus principales limitantes son de tipo biológico y técnico, encontrándose en su obtención y estabilidad para ser distribuidas a nivel comercial.

Los microorganismos utilizados como ingrediente activo de los bioplaguicidas son sensibles a condiciones ambientales como la temperatura, la humedad y la radiación ultravioleta, lo que puede reducir su viabilidad y eficacia durante la etapa de almacenamiento y después de su aplicación en campo, teniendo una baja persistencia y actividad residual (Walker, Mendelsohn, Matten, Alphin & Ave, 2003). En este sentido, el desarrollo de estrategias adecuadas de formulación y aplicación son claves para el buen desempeño de algunos productos (Chandler et al., 2011). Cobra aquí especial importancia la selección de los excipientes de la formulación, con el fin de que puedan reducir el efecto de algunas condiciones ambientales, sin afectar la viabilidad y eficacia del microorganismo. Es el caso de reductores de actividad de agua, protectores solares y protectores de secado, entre otros. No obstante, es importante tener en cuenta que los sistemas de producción y formulación desarrollados deben tener bajos costos, que les permitan ser competitivos en el mercado. Asimismo, en relación con el tipo de formulación seleccionado, otro factor limitante puede ser la ubicación del organismo diana o blanco a controlar, pues es más difícil controlar de manera eficaz aquellas plagas que se encuentran bajo el suelo, alimentándose, por ejemplo, de las raíces de las plantas o los tubérculos (Jurat-Fuentes & Jackson, 2012), o en el interior de los órganos de la planta. En este caso, como alternativa se pueden plantear sistemas de liberación controlada que permitan obtener mayor persistencia y toxicidad.

Otro de los inconvenientes de tipo biológico relacionado con el uso de bacterias entomopatógenas no formadoras de esporas es que algunas especies son reconocidas como patógenos humanos, lo que crea interrogantes sobre su uso como agentes de control biológico (Jurat-Fuentes & Jackson, 2012). En este sentido, cepas de *S. marcescens*, *P. aeruginosa* y *Yersinia* spp. han sido aisladas de infecciones humanas, principalmente infecciones nosocomiales adquiridas en los hospitales y, aunque no haya necesariamente una relación entre las cepas que son patógenos de insectos y las que se han encontrado a partir de las infecciones hospitalarias, es importante seguir los protocolos de pruebas de seguridad como parte del proceso de registro (Dacheux, Attree, Schneider, & Toussaint, 1999; Haddy et al., 1996; McNally et al., 2004; Saraka et al., 2017; Snitkin & Segre, 2014).

Otro factor biológico de las bacterias entomopatógenas es que suelen presentar alta especificidad para un grupo reducido de huéspedes, lo que es una ventaja desde el punto de vista de seguridad medioambiental y sobre insectos benéficos, pero puede ser una desventaja en el momento de su comercialización (Chandler et al., 2011).

Finalmente, una de las principales preocupaciones con el uso de bacterias entomopatógenas es el desarrollo de resistencia. Se conocen episodios de resistencia de campo a productos basados en las toxinas Cry, sobre todo en *P. xylostella*, que involucran la alteración de los receptores de membrana (Ballester, Granero, Tabashnik, Malvar, & Ferré, 1999; Ocelotl et al., 2017). Es crucial identificar el mecanismo de acción y sus alteraciones en insectos resistentes para mantener la utilidad de esta tecnología, así como la de las plantas transgénicas que producen toxinas Cry (Jurat-Fuentes & Jackson, 2012).

Conclusiones y perspectivas

En general, los bioplaguicidas bacterianos han tenido éxito, ya que han encontrado nichos en los mercados de control de plagas agrícolas y de salud pública, pues como agentes seguros tienen la flexibilidad de ser utilizados en los cultivos alimentarios, incluso justo antes de la recolección y en el ambiente doméstico. Es importante resaltar que, como agentes específicos de un huésped, tienen que incorporarse a los programas de manejo integrado de plagas (MIP). Estos bioproductos son una valiosa alternativa que complementa los esfuerzos para reducir el uso de plaguicidas químicos y la contaminación del medio ambiente, y permiten prever un futuro positivo en los programas de control de plagas y enfermedades.

Que continúe el éxito de los bioinsecticidas a base de bacterias y se incremente su comercialización es un reto que dependerá del desarrollo de productos que presenten mayor eficacia, menores costos de producción, amplio rango de actividad y una mayor persistencia (Jurat-Fuentes & Jackson, 2012). Diversos programas tienen como objetivo identificar nuevos aislamientos bacterianos y toxinas con mayores o nuevos rangos de actividad. En este sentido las nuevas técnicas moleculares son imprescindibles, así como la investigación que permita la obtención de procesos de producción y formulación que sean novedosos, y eficaces, de acuerdo con las características de la bacteria utilizada como ingrediente activo.

Agradecimientos

A las doctoras Laura Villamizar y Gloria Barrera por su oportuno apoyo.

Referencias

Adang, M. J., Crickmore, N., & Jurat-Fuentes, J. L. (2014). Chapter two - diversity of *Bacillus thuringiensis* crystal toxins and mechanism of action. En T. S. Dhadialla & S. S. Gill (Eds.), *Advances in Insect Physiology* (pp. 39-87). Vol. 47. Cambridge, Inglaterra: Academic Press.

Angus, T. A. (1954). A bacterial toxin paralysing silkworm larvae. *Nature*, *173*, 545-546. doi:10.1038/173545a0.

Aronson, A. I., Beckman, W., & Dunn, P. (1986). *Bacillus thuringiensis* and related insect pathogens. *Microbiological reviews*, *50*(1), 1-24.

Asolkar, R., Huang, H., Koivunen, M., & Marrone, P. (2015). Patente EUA 8715754 *Chromobacterium* bioactive compositions and metabolites, Marrone Bio Innovations, I. Washington: Oficina de Patentes y Marcas de EUA.

Ballester, V., Granero, F., Tabashnik, B. E., Malvar, T., & Ferré, J. (1999). Integrative model for binding of *Bacillus thuringiensis* toxins in susceptible and resistant larvae of the diamondback moth (*Plutella xylostella*). *Applied and Environmental Microbiology*, *65*(4), 1413-1419.

Baum, J. A., & Gonzalez, J. M. (1992). Mode of replication, size and distribution of naturally occurring plasmids in *Bacillus thuringiensis*. *FEMS Microbiology Letters*, *96*(2-3), 143-148. doi:10.1111/j.1574-6968.1992.tb05407.x.

Beegle, C. C., & Yamamoto, T., (1992). Invitation paper (C.P. Alexander Fund): history of *Bacillus thuringiensis* Berliner research and development. *The Canadian Entomologist*, *124*(4), 587-616. doi:10.4039/Ent124587-4.

Benoit, T. G., Wilson, G. R., Bull, D. L., & Aronson, A. I. (1990). Plasmid-associated sensitivity of *Bacillus thuringiensis* to UV light. *Applied and Environmental Microbiology*, *56*(8), 2282-2286.

Berg, G. (2009). Plant-microbe interactions promoting plant growth and health: perspectives for controlled use of microorganisms in agriculture. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *84*(1), 11-18. doi:10.1007/s00253-009-2092-7.

Berry, C. (2012). The bacterium, *Lysinibacillus sphaericus*, as an insect pathogen. *Journal of Invertebrate Pathology*, *109*(1), 1-10. doi:10.1016/j.jip.2011.11.008.

Biostart. (2017). *The safe, effective way to control NZ grass grub*. Recuperado de http://www.biostart.co.nz/products/bio-insecticides/bioshield-grass-grub/.

Bone, L. W., & Tinelli, R. (1987). *Trichostrongylus colubriformis*: larvicidal activity of toxic extracts from *Bacillus sphaericus* (strain 1593) spores. *Experimental Parasitology*, *64*(3), 514-516. doi:10.1016/0014-4894(87)90066-X.

Bönemann, G., Pietrosiuk, A., & Mogk, A. (2010). Tubules and donuts: a type VI secretion story. *Molecular Microbiology*, *76*(4), 815-821. doi:10.1111/j.1365-2958.2010.07171.x.

Bowen, D., Rocheleau, T. A., Blackburn, M., Andreev, O., Golubeva, E., Bhartia, R., & Ffrench-Constant, R. H. (1998). Insecticidal toxins from the bacterium *Photorhabdus luminescens*. *Science*, *280*(5372), 2129-2132. doi:10.1126/science.280.5372.2129.

Braga, R. M., Dourado, M. N., & Araújo, W. L. (2016). Microbial interactions: ecology in a molecular perspective. Brazilian Journal Microbiology, *47*(1), 86-98. doi:10.1016/j.bjm.2016.10.005.

Bravo, A. (2004). Familia de proteínas inseticidas de *Bacillus thuringiensis*. En: Bravo, A., Cerón, J. (Eds.), *Bacillus thuringiensis* en el control biológico (pp 49-68). Bogotá, Colombia: Editorial Buena Semilla.

Bresolin, G., Morgan, J. A. W., Ilgen, D., Scherer, S., & Fuchs, T. M. (2006). Low temperature-induced insecticidal activity of *Yersinia enterocolitica*. *Molecular Microbiology*, *59*(2), 503-512. doi:10.1111/j.1365-2958.2005.04916.x.

Bretschneider, A., Heckel, D. G., & Pauchet, Y. (2016). Three toxins, two receptors, one mechanism: Mode of action of Cry1A toxins from *Bacillus thuringiensis* in *Heliothis virescens*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, *76*, 109-117. doi:10.1016/j.ibmb.2016.07.008.

Bucher, G. (1981). Identification of bacteria found in insects. En H. D. Burges (Ed.), *Microbial control of pests and plant diseases, 1970-1980* (pp. 7-33). Londres, Reino: Academic Press.

Cordova-Kreylos, A. L., Fernandez, L. E., Koivunen, M., Yang, A., Flor-Weiler, & L., Marrone, P. G. (2013).

Isolation and Characterization of *Burkholderia rinojensis* sp. *nov*., a Non-*Burkholderia cepacia* Complex Soil Bacterium with Insecticidal and Miticidal Activities. *Applied and Environmental Microbiology*, *79*(24), 7669-7678. doi:10.1128/aem.02365-13.

Couch, T. L. (2000). Industrial fermentation and formulation of entomopathogenic bacteria. En J. F. Charles, A. Delécluse & C. N. Roux (Eds.), *Entomopathogenic bacteria: From laboratory to field application* (pp. 297-316). Dordrecht, Holanda: Springer.

Crickmore, N., Zeigler, D. R., Feitelson, J., Schnepf, E., Van Rie, J., Lereclus, D., ... Dean, D. H. (1998). Revision of the nomenclature for the *Bacillus thuringiensis* pesticidal crystal proteins. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, *62*(3), 807-813.

Chakoosari, M. M. D. (2013). Efficacy of various biological and microbial insecticides. *Journal of biology and today's world*, *2*, 249-254.

Champion, O. L., Cooper, I. A., James, S. L., Ford, D., Karlyshev, A., Wren, B. W., ...Titball R. W. (2009). *Galleria mellonella* as an alternative infection model for *Yersinia pseudotuberculosis*. *Microbiology*, *155*(5), 1516-1522. doi:10.1099/mic.0.026823-0.

Chandler, D., Bailey, A. S., Tatchell, G. M., Davidson, G., Greaves, J., & Grant, W. P. (2011). The development, regulation and use of biopesticides for integrated pest management. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, *366*(1573), 1987-1998. doi:10.1098/rstb.2010.0390.

Chattopadhyay, P., Chatterjee, S., Gorthi, S., & Sen, S. K. (2012). Exploring Agricultural Potentiality of *Serratia entomophila* AB2: Dual Property of Biopesticide and Biofertilizer. *British Biotechnology Journal*, *2*(1), 1-12. doi:10.9734/BBJ/2012/778.

Chattopadhyay, P., Gorthi, S., Chatterjee, S., & Sen, S. K. (2011). Characterization of bacterial isolates as natural biocontrol agents of bollworm from an epizootic pest (*Heliothis armigera*). *Pest Technology*, *5*(1), 81-85.

d'Herelle, F., (1911). Sur une épizootie de nature bactérienne sévissant sur les sauterelles au Mexique. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, *152*, 1413-1415.

Dacheux, D., Attree, I., Schneider, C., & Toussaint, B. (1999). Cell death of human polymorphonuclear neutrophils induced by a *Pseudomonas aeruginosa* cystic fibrosis isolate requires a functional Type III secretion system. *Infection and Immunity*, *67*(11), 6164-6167.

De Barjac, H., & Bonnefoi, A. (1962). Essai de classification biochimique et sérologique de 24 souches de *Bacillus* du type *B. Thuringiensis*. *Entomophaga*, *7*(1), 5-31. doi:10.1007/BF02375988.

De Maagd, R. A., Bosch, D., & Stiekema, W. (1999). *Bacillus thuringiensis* toxin-mediated insect resistance in plants. *Trends in Plant Science*, *4*(1), 9-13. doi:10.1016/S1360-1385(98)01356-9.

Dingman, D. W. (2009). DNA fingerprinting of *Paenibacillus popilliae* and *Paenibacillus lentimorbus* using PCR-amplified 16S–23S rDNA intergenic transcribed spacer (ITS) regions. *Journal of Invertebrate Pathology*, *100*(1), 16-21. doi:10.1016/j.jip.2008.09.006.

Dodd, S. J., Hurst, M. R. H., Glare, T. R., O'Callaghan, M., & Ronson, C. W. (2006). Occurrence of sep insecticidal toxin complex genes in *Serratia* spp. and *Yersinia frederiksenii*. *Applied and Environmental Microbiology*, *72*(10), 6584-6592. doi:10.1128/aem.00954-06.

Dutky, S. (1963). The milky diseases. En E. Steinhaus (Ed.), *Insect Pathology: An Advanced Treatise* (pp. 75-115). Nueva York , EE. UU.: Academic press.

Dutta, S. (2015). Biopesticides: an ecofriendly approach for pest control. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, *4*(6), 250-265.

Endo, H., Azuma, M., Adegawa, S., Kikuta, S., & Sato, R. (2017). Water influx via aquaporin directly determines necrotic cell death induced by the *Bacillus thuringiensis* Cry toxin. *FEBS Lett*, *591*(1), 56-64. doi:10.1002/1873-3468.12506.

Environmental Protection Agency (EPA). (2008). *Biopesticide active ingredients and products containing them*. Recuperado de http://www.epa.gov/pesticides/biopesticides/product_lists.

Fang, J., Xu, X., Wang, P., Zhao, J.-Z., Shelton, A.M., Cheng, J., ... Sheng, Z. (2007). Characterization of Chimeric *Bacillus thuringiensis* Vip3 Toxins. *Applied Environmental Microbiology*, *73*(3), 956-961. doi:10.1128/AEM.02079-06.

Federici, B. A. (2007). Bacteria as biological control agents for insects: Economics, engineering, and environmental safety. En M. Vurro & J. Gressel (Eds.), *Novel biotechnologies for biocontrol agent enhancement and management* (pp. 25-51). Dordrecht, Holanda: Springer.

Ferguson, C. M., Barton, D. M., Harper L. A., Swaminathan., J., Van Koten, C., & Hurst, M. R. H. (2012). Survival of *Yersinia entomophaga* MH96 in a pasture ecosystem and effects on pest and non-target invertebrate populations. *New Zealand Plant Protection*, *65*: 166-173.

Ferré, J., & Rie, J. V. (2002). Biochemistry and genetics of insect resistance to *Bacillus thuringiensis*. *Annual Reviews of Entomology*, *47*, 501-533. doi:10.1146/annurev.ento.47.091201.145234.

Ffrench-Constant, R. H., Dowling, A., & Waterfield, N. R. (2007). Insecticidal toxins from *Photorhabdus* bacteria and their potential use in agriculture. *Toxicon*, *49*(4), 436-451. doi:10.1016/j.toxicon.2006.11.019.

Ffrench-Constant, R., & Waterfield, N. (2005). An ABC guide to the bacterial toxin complexes. *Advances in Applied Microbiology*, *58*, 169-183. doi:10.1016/S0065-2164(05)58005-5.

Fuchs, T. M., Bresolin, G., Marcinowski, L., Schachtner, J., & Scherer, S. (2008). Insecticidal genes of *Yersinia* spp.:

Taxonomical distribution, contribution to toxicity towards *Manduca sexta* and *Galleria mellonella*, and evolution. *BMC Microbiology*, *8*, 214. doi:10.1186/1471-2180-8-214.

Ge, Y., Hu, X., Zheng, D., Wu, Y., & Yuan, Z. (2011). Allelic diversity and population structure of *Bacillus sphaericus* as revealed by multilocus sequence typing. *Applied and Environmental Microbiology*, *77*(15), 5553-5556. doi:10.1128/AEM.00207-11.

Glare, T. R., Corbett, G. E., & Sadler, T. J. (1993). Association of a large plasmid with amber disease of the New Zealand grass grub, *Costelytra zealandica*, caused by *Serratia entomophila* and *Serratia proteamaculans*. *Journal of Invertebrate Pathology*, *62*(2), 165-170. doi:10.1006/jipa.1993.1091.

Gómez-Garzón, C., Hernández-Santana, A., & Dussán, J. (2016). Comparative genomics reveals *Lysinibacillus sphaericus* group comprises a novel species. *BMC Genomics*, *17*, 1-10. doi:10.1186/s12864-016-3056-9.

Gómez, I., Sánchez, J., Miranda, R., Bravo, A., & Soberón, M. (2002). Cadherin-like receptor binding facilitates proteolytic cleavage of helix α-1 in domain I and oligomer pre-pore formation of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab toxin. *FEBS Letters*, *513*(2-3), 242-246. doi:10.1016/S0014-5793(02)02321-9.

Gonzalez, J. M., & Carlton, B. C. (1980). Patterns of plasmid DNA in crystalliferous and acrystalliferous strains of *Bacillus thuringiensis*. *Plasmid*, *3*(1), 92-98. doi:10.1016/S0147-619X(80)90038-4.

Grimont, P., & Grimont, F. (1978). The genus *Serratia*. *Annual Review of Microbiology*, *32*, 221-248. doi:10.1146/annurev.mi.32.100178.001253.

Grimont, P. A. D., Jackson, T. A., Ageron, E., & Noonan, M. J. (1988). *Serratia entomophila* sp. nov. associated with amber disease in the New Zealand grass grub *Costelytra zealandica*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *38*, 1-6. doi:10.1099/00207713-38-1-1.

Grkovic, S., Glare, T. R., Jackson, T. A., & Corbett, G. E. (1995). Genes essential for amber disease in grass grubs are located on the large plasmid found in *Serratia entomophila* and *Serratia proteamaculans*. *Applied and Environmental Microbiology*, *61*(6), 2218-2223.

Gupta, B. L., Dow, J. A., Hall, T. A., & Harvey, W. R. (1985). Electron probe X-ray microanalysis of the effects of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* crystal protein insecticide on ions in an electrogenic K+-transporting epithelium of the larval midgut in the lepidopteran, Manduca sexta, in vitro. *Journal of Cell Science*, *74*, 137-152.

Haddy, R. I., Mann, B. L., Nadkarni, D. D., Cruz, R. F., Elshoff, D. J., Buendia, F. C., … Oberheu, A. M. (1996). Nosocomial infection in the community hospital: severe infection due to *Serratia* species. *The Journal of Family Practice*, *42*(3), 273-278.

Harrison, H., Patel, R., & Yousten, A. A. (2000). *Paenibacillus* associated with milky disease in Central and South American scarabs. *Journal of Invertebrate Pathology*, *76*(3), 169-175. doi:10.1006/jipa.2000.4969.

Heckel, D. G. (2012). Learning the ABCs of Bt: ABC transporters and insect resistance to *Bacillus thuringiensis* provide clues to a crucial step in toxin mode of action. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, *104*(2), 103-110. doi:10.1016/j.pestbp.2012.05.007.

Hejazi, A., & Falkiner, F. R. (1997). *Serratia marcescens*. *Journal of Medical Microbiology*, *46*, 903-912. doi:10.1099/00222615-46-11-903.

Hire, R. S., Hadapad, A. B., Vijayalakshmi, N., & Dongre, T. K. (2010). Characterization of highly toxic indigenous strains of mosquitocidal organism *Bacillus sphaericus*. *FEMS Microbiology Letters*, *305*(2), 155-161. doi:10.1111/j.1574-6968.2010.01927.x.

Höfte, H., & Whiteley, H. R. (1989). Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*. *Microbiological Reviews*, *53*(2), 242-255.

Hoshino, T. (2011). Violacein and related tryptophan metabolites produced by *Chromobacterium violaceum*: biosynthetic mechanism and pathway for construction of violacein core. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *91*, 1463. doi:10.1007/s00253-011-3468-z.

Hurst, M. R., Glare, T. R., & Jackson, T. A. (2004). Cloning Serratia entomophila antifeeding genes–a putative defective prophage active against the grass grub *Costelytra zealandica*. *Journal of Bacteriology*, *186*(15), 5116-5128. doi: 10.1128/JB.186.15.5116-5128.2004.

Hurst, M. R., Glare, T. R., Jackson, T. A., & Ronson, C. W. (2000). Plasmid-located pathogenicity determinants of *Serratia entomophila*, the causal agent of amber disease of grass grub, show similarity to the insecticidal toxins of *Photorhabdus luminescens*. *Journal of Bacteriology*, *182*(18), 5127-5138. doi:10.1128/JB.182.18.5127-5138.2000.

Hurst, M. R. H., Beattie, A. K., Jones, S. A., Hsu, P.-C., Calder, J., & Van Koten, C. (2015). Temperature-dependent *Galleria mellonella* mortality as a result of *Yersinia entomophaga* infection. *Applied and Environmental Microbiology*, *81*(18), 6404-6414. doi:10.1128/aem.00790-15.

Hurst, M. R. H., Becher, S. A., & O'Callaghan, M. (2011). Nucleotide sequence of the *Serratia entomophila* plasmid pADAP and the *Serratia proteamaculans* pU143 plasmid virulence associated region. *Plasmid*, *65*(1), 32-41. doi:10.1016/j.plasmid.2010.10.001.

Hurst, M. R. H., Becher, S. A., Young, S. D., Nelson, T. L., Glare, T. R. (2011). *Yersinia entomophaga* sp. *nov*., isolated from the New Zealand grass grub *Costelytra zealandica*. *International Journal Systematic and Evolutionary Microbiology*, *61*(4), 844-849. doi:10.1099/ijs.0.024406-0.

Hurst, M. R. H., Jones, S. A., Binglin, T., Harper, L. A., Jackson, T. A., & Glare, T. R., (2011). The main virulence determinant of *Yersinia entomophaga* MH96 is a broad-

host-range toxin complex active against insects. *Journal of Bacteriology*, *193*(8), 1966-1980. doi:10.1128/JB.01044-10.

Hurst, M. R. H., Jones, S. M., Tan, B., & Jackson, T. A. (2007). Induced expression of the *Serratia entomophila* Sep proteins shows activity towards the larvae of the New Zealand grass grub *Costelytra zealandica*. *FEMS Microbiology Letters*, *275*(1), 160-167. doi:10.1111/j.1574-6968.2007.00886.x.

Hurst, M. R. H., van Koten, C., & Jackson, T. A. (2014). Pathology of *Yersinia entomophaga* MH96 towards *Costelytra zealandica* (Coleoptera; Scarabaeidae) larvae. *Journal of Invertebrate Pathology*, *115*, 102-107. doi:10.1016/j.jip.2013.11.004.

Ibarra, J. E., & Federici, B. A. (1986). Parasporal bodies of *Bacillus thuringiensis* subsp. *morrisoni* (PG-14) and *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* are similar in protein composition and toxicity. *FEMS Microbiology Letters*, *34*(1), 79-84. doi:10.1111/j.1574-6968.1986.tb01353.x.

Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). (2017). *Productos registrados bioinsumos*. Recuperado de http://www.ica.gov.co/getdoc/2ad9e987-8f69-4358b8a9e6ee6dcc8132/PRODUCTOSBIOINSUMOS-MAYO-13-DE-2008.aspx.

Inglis, G. D., & Lawrence, A. M. (2001). Effects of *Serratia marcescens* on the F1 generation of laboratory-reared *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Economic Entomology*, *94*(2), 362-366. doi:10.1603/0022-0493-94.2.362.

Jackson, T. A. (2007). A novel bacterium for control of grass grub. En C. Vincent, M. S. Goettel, & G. Lazarovits (Eds.), *Biological control: a global perspective* (pp. 160-168). Wallingford, Inglaterra: CABI.

Jackson, T. A., Boucias, D. G., & Thaler, J. O. (2001). Pathobiology of amber disease, caused by *Serratia* spp., in the New Zealand grass grub, *Costelytra zealandica*. *Journal of Invertebrate Pathology*, *78*(4), 232-243. doi:10.1006/jipa.2002.5078.

Jackson, T. A., Huger, A. M., & Glare, T. R. (1993). Pathology of Amber Disease in the New Zealand Grass Grub *Costelytra zealandica* (Coleoptera: Scarabaeidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, *61*(2), 123-130. doi:10.1006/jipa.1993.1024.

Jackson, T. A., Pearson, J. F., O'Callaghan, M., Mahanty, H. K., & Willcocks, M. J. (1992). Pathogen to product - Development of *Serratia entomophila* (Enterobacteriaceae) as a commercial biological agent for the New Zealand grass grub (*Costelytra zealandica*). En T. A. Jackson, & T. R. Glare, (Eds.), *Use of Pathogens in Scarab Pest Management* (pp. 191-198). Andover, EE. UU.: Intercept.

Jackson, T. A., Pearson, J. F., & Stucki, G. (1986). Control of the grass grub, *Costelytra zealandica* (White) (Coleoptera: Scarabaeidae), by application of the bacteria *Serratia* spp. causing honey disease. *Bulletin of Entomological Research*, *76*(1), 69-76. doi:10.1017/S0007485300015297.

Jackson, T. A., Townsend, R. J., & Barlow, N. D. (1999). Predicting grass grub populationchange in Canterbury. En: J. N. Matthiessen (Ed.) *Proceedings of the 7th australasian conference on grassland invertebrate ecology*. Wembley, Autralia. pp. 21-26.

Jackson, T. A., & Zimmermann, G. (1996). Is there a role for *Serratia* spp. in the biocontrol of *Melolontha* spp.? *Bulletin OILB/SROP*, *19*(2), 47-53.

James, R. R. & Li, Z. (2012). From silkworms to bees: diseases of beneficial insects. En F. E. Vega & H. K. Kaya (Eds.), *Insect Pathology* (pp. 425-459). Nueva York, EE. UU.: Elsevier.

Jarrett, C. O., Deak, E., Isherwood, K. E., Oyston, P. C., Fischer, E. R., Whitney, A. R., … Hinnebusch, B. J. (2004). Transmission of *Yersinia pestis* from an infectious biofilm in the flea vector. *The journal of infectious diseases*, *190*(4), 782-792. doi:10.1086/422695.

Jisha, V. N., Smitha, R. B., & Benjamin, S. (2013). An overview on the crystal toxins from *Bacillus thuringiensis*. *Advances in microbiology*, *3*, 462-472. doi:10.4236/aim.2013.35062.

Johnson, V. W., Pearson, J. F., & Jackson, T. A. (2001). Formulation of *Serratia entomophila* for biological control of grass grub. *New Zealand Plant Protection*, *54*, 125-127.

Jolley, K. A., Chan, M.-S., & Maiden, M. C. (2004). mlstdbNet – distributed multi-locus sequence typing (MLST) databases. *BMC Bioinformatics*, *5*, 86. doi:10.1186/1471-2105-5-86.

Jurat-Fuentes, J., & Jackson, T. (2012). Bacterial entomopathogens. *Insect pathology*, *2*, 265-349. doi:10.1016/B978-0-12-384984-7.00008-7.

Jurat-Fuentes, J. L., & Crickmore, N., (2017). Specificity determinants for Cry insecticidal proteins: Insights from their mode of action. *Journal of Invertebrate Pathology*, *142*, 5-10. doi:10.1016/j.jip.2016.07.018.

Kain, W., & Atkinson, D. (1970). Rational approach to grass grub control. *Proceedings of the 23rd NZ Weed and Pest Control Conference*, pp. 180-183. Palmerston North, Nueva Zelanda: New Zealand Plant Protection Society.

Kaška, M. (1976). The toxicity of extracellular proteases of the bacterium *Serratia marcescens* for larvae of greater wax moth, *Galleria mellonella*. *Journal of Invertebrate Pathology*, *27*(2), 271. doi:10.1016/0022-2011(76)90158-0.

Kellen, W. R., Clark, T. B., Lindegren, J. E., Ho, B. C., Rogoff, M. H., & Singer, S. (1965). *Bacillus sphaericus* Neide as a pathogen of mosquitoes. *Journal of Invertebrate Pathology*, *7*(4), 442-448. doi:10.1016/0022-2011(65)90120-5.

Kergunteuil, A., Bakhtiari, M., Formenti, L., Xiao, Z., Defossez, E., & Rasmann, S. (2016). Biological control

beneath the feet: A review of crop protection against insect root herbivores. *Insects*, *7*(4), 70. doi:10.3390/insects7040070.

Key, P. B., & Scott, G. I. (1992). Acute toxicity of the mosquito larvicide, *Bacillus sphaericus*, to the grass shrimp, *Palaemonetes pugio*, and mummichog, *Fundulus heteroclitus*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, *49*(3), 425-430. doi:10.1007/BF01239647.

Khetan, S. (2001). *Microbial pest control*. Nueva York, EE. UU.: Marcel Dekker.

Khyami-Horani, H., Hajaij, M., & Charles, J.-F. (2003). Characterization of *Bacillus thuringiensis* ser. *jordanica* (Serotype H71), a novel serovariety isolated in Jordan. *Current Microbiology*, *47*(1), 0026-0031. doi:10.1007/s00284-002-3940-1.

Kil, Y. J., Seo, M. J., Kang, D. K., Oh, S. N., Cho, H. S., Youn, Y. N., … Yu, Y. M. (2014). Effects of enterobacteria (*Burkholderia* sp.) on development of *Riptortus pedestris*. *Journal of the Faculty of Agriculture, Kyushu University*, *59*(1), 77-84.

Kinkel, L. L., Bakker, M. G., & Schlatter, D. C. (2011). A coevolutionary framework for managing disease-suppressive soils. *Annual Review of Phytopatholgoy*, *49*, 47-67. doi:10.1146/annurev-phyto-072910-095232.

Klein, M. G. (1988). Pest management of soil-inhabiting insects with microorganisms. *Agriculture Ecosystems & Environment*. *24*(1-3), 337-349. doi:10.1016/0167-8809(88)90077-1.

Klein, M. G., & Jackson, T. A. (1992). Bacterial diseases of scarabs. En J. Trevor & G. Travis (Eds.), *Use of pathogens in scarab pest management* (pp.43-61). Andover, EE. UU.: Intercept.

Krishnan, M., Bharathiraja, C., Pandiarajan, J., Prasanna, V. A., Rajendhran, J., & Gunasekaran, P. (2014). Insect gut microbiome - An unexploited reserve for biotechnological application. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, *4*(Suppl. 1), S16-S21. doi:10.12980/APJTB.4.2014C95.

Krych, V. K., Johnson, J. L., & Yousten, A. A. (1980). Deoxyribonucleic acid homologies among strains of *Bacillus sphaericus*. *International Journal of Systematic Bacteriology*, *30*, 476-484. doi:10.1099/00207713-30-2-476.

Kupferschmied, P., Maurhofer, M., & Keel, C. (2013). Promise for plant pest control: root-associated pseudomonads with insecticidal activities. *Frontiers in Plant Science*, *4*, 287. doi:10.3389/fpls.2013.00287.

Lacey, L. A., & Georgis, R. (2012). Entomopathogenic nematodes for control of insect pests above and below ground with comments on commercial production. *Journal of Nematology*, *44*(2), 218-225.

Lambert, B., & Peferoen, M. (1992). Insecticidal Promise of *Bacillus thuringiensis*: Facts and mysteries about a successful biopesticide. *Bioscience*, *42*(2), 112-122. doi:10.2307/1311652.

Lecadet, M. M. (1998). *Collection of Bacillus thuringiensis and Bacillus sphaericus (Classified by H Serotypes)*. París, Francia: Institut Pasteur.

Lecadet, M. M., Frachon, E., Dumanoir, V. C., Ripouteau, H., Hamon, S., Laurent, P., & Thiéry, I. (1999). Updating the H-antigen classification of *Bacillus thuringiensis*. *Journal of Applied Microbiology*, *86*(4), 660-672. doi:10.1046/j.1365-2672.1999.00710.x.

Lee, D.-W., Akao, T., Yamashita, S., Katayama, H., Maeda, M., Saitoh, H., … Ohba, M. (2000). Noninsecticidal Parasporal Proteins of a *Bacillus thuringiensis* Serovar *shandongiensis* Isolate Exhibit a Preferential Cytotoxicity against Human Leukemic T Cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *272*(1), 218-223. doi:10.1006/bbrc.2000.2765.

Lereclus, D., Lecadet, M.-M., Ribier, J., & Dedonder, R. (1982). Molecular relationships among plasmids of *Bacillus thuringiensis*: Conserved sequences through 11 crystalliferous strains. *Molecular and general genetics* MGG, *186*(3), 391-398. doi:10.1007/BF00729459.

LifeSci. (2017). *"Bacillus thuringiensis" Toxin Nomenclature*. Recuperado de http://www.lifesci.sussex.ac.uk/home/Neil_Crickmore/Bt/.

Lisansky, S., & Coombs, J. (1994). Developments in the market for biopesticides. En *Brighton crop protection conference: pests and diseases* (pp. 1049-1049). Brighton, Inglaterra: Brit Crop Protection Council.

Lodish, H., Berk, A., Matsudaira, P., Kaiser, C., Krieger, M., Scott, M., … Darnell, J. (2006). *Biología celular y molecular*. Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana.

Loper, J. E., Hassan, K. A., Mavrodi, D. V., Davis II, E. W., Lim, C. K., Shaffer, B. T., … Paulsen, I. T. (2012). Comparative genomics of plant-associated *Pseudomonas* spp.: insights into diversity and inheritance of traits involved in multitrophic interactions. *PLoS Genetics*, *8*(7), e1002784. doi:10.1371/journal.pgen.1002784.

López-Meza, J. E., Barboza-Corona, J. E., Del Rincón-Castro, M. C., & Ibarra, J. E. (2003). Sequencing and characterization of plasmid pUIBI-1 from *Bacillus thuringiensis* serovar *entomocidus* LBIT-113. *Current Microbiology*, *47*(5), 395-399. doi:10.1007/s00284-003-4041-5.

Lord, J. C. (2005). From metchnikoff to Monsanto and beyond: The path of microbial control. *Journal of Invertebrate Pathology*, *89*(1), 19-29. doi:10.1016/j.jip.2005.04.006.

Lysenko, O. (1976). Chitinase of *Serratia marcescens* and its toxicity to insects. *Journal of Invertebrate Pathology*, *27*, 385-386.

Marshall, S. D .G., Hares, M. C., Jones, S. A., Harper, L. A., Vernon, J. R., Harland, D. P., … Hursta M. R. H. (2012).

Histopathological effects of the Yen-Tc toxin complex from *Yersinia entomophaga* MH96 (*Enterobacteriaceae*) on the *Costelytra zealandica* (Coleoptera: *Scarabaeidae*) larval midgut. *Applied and Environmental Microbiology*, *78*(14), 4835-4847. doi:10.1128/aem.00431-12.

Martin, P. A., Hirose, E., & Aldrich, J. R. (2007). Toxicity of *Chromobacterium subtsugae* to southern green stink bug (Heteroptera: Pentatomidae) and corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae). J*ournal of Economic Entomology*, *100*(3), 680-684.

Martin, P. A. W., Gundersen-Rindal, D., Blackburn, M., & Buyer, J. (2007). *Chromobacterium subtsugae* sp. nov., a betaproteobacterium toxic to Colorado potato beetle and other insect pests. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *57*(5), 993-999. doi:10.1099/ijs.0.64611-0.

McNally, A., Cheasty, T., Fearnley, C., Dalziel, R. W., Paiba, G. A., Manning, G., Newell, D. G. (2004). Comparison of the biotypes of *Yersinia enterocolitica* isolated from pigs, cattle and sheep at slaughter and from humans with yersiniosis in Great Britain during 1999-2000. *Letters in Applied Microbiology*, *39*, 103-108. doi:10.1111/j.1472-765X.2004.01548.x.

Mizuki, E., Park, Y. S., Saitoh, H., Yamashita, S., Akao, T., Higuchi, K., Ohba, M. (2000). Parasporin, a human leukemic cell-recognizing parasporal protein of *Bacillus thuringiensis*. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, *7*(4), 625-634.

Mnif, I., & Ghribi, D. (2015). Potential of bacterial derived biopesticides in pest management. *Crop Protection*, *77*, 52-64. doi:10.1016/j.cropro.2015.07.017.

Monnerat, R., De Silva, S. F., Dias, D. S., Martins, E. S., Praça, L. B., Jones, G. W., ... Berry, C. (2004). Screening of Brazilian *Bacillus sphaericus* strains for high toxicity against *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti*. *Journal of Applied Entomology*, *128*(7), 469-473. doi:10.1111/j.1439-0418.2004.00874.x.

Monnerat, R., Nicolas, L., Frachon, E., & Hamon, S. (1992). Characterization and toxicity to mosquito larvae of four *Bacillus sphaericus* strains isolated from Brazilian soils. *Journal of Invertebrte Pathology*, *60*(1), 10-14. doi:10.1016/0022-2011(92)90147-V.

Murray, P., Rosentahl, K., & Pfaller, M., (2009). *Microbiología médica*. (7.ª ed.). Barcelona, España, Elsevier.

Núñez-Valdez, M. E., Calderón, M. A., Aranda, E., Hernández, L., Ramírez-Gama, R. M., Lina, L., ... Villalobos, F. J. (2008). Identification of a putative mexican strain of *Serratia entomophila* pathogenic against root-damaging larvae of *Scarabaeidae* (Coleoptera). *Applied and Environmental Microbiology*, *74*(3), 802-810. doi:10.1128/AEM.01074-07.

O'Callaghan, M., Garnham, M. L., Nelson, T. L., Baird, D., & Jackson, T. A. (1996). The pathogenicity of *Serratia* strains to *Lucilia sericata* (Diptera: *Calliphoridae*). *Journal of Invertebrate Pathology*, *68*(1), 22-27. doi:10.1006/jipa.1996.0054.

O'Callaghan, M., Young, S., Barlow, N., & Jackson, T. (1999). The ecology of grass grub pathogenic *Serratia* spp. New Zealand pastures. En J. N. Mathiessen (Ed.). *Proceedings of the 7th australasian conference on grassland invertebrate ecology*, (pp. 85-91). Perth, Australia: CSIRO Entomology.

Ocelotl, J., Sánchez, J., Gómez, I., Tabashnik, B. E., Bravo, A., & Soberón, M. (2017). ABCC2 is associated with *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac toxin oligomerization and membrane insertion in diamondback moth. *Scientific Reports*, *7*, 2386. doi:10.1038/s41598-017-02545-y.

Opota, O., Vallet-Gély, I., Vincentelli, R., Kellenberger, C., Iacovache, I., Gonzalez, M. R., ... Lemaitre, B. (2011) Monalysin, a novel ß-pore-forming toxin from the *Drosophila* pathogen *Pseudomonas entomophila*, contributes to host intestinal damage and lethality. *PLoS Pathogens*, *7*(9): e1002259. doi:10.1371/journal.ppat.1002259.

Owuama, C. I. (2001). Entomopathogenic symbiotic bacteria, *Xenorhabdus* and *Photorhabdus* of nematodes. *World journal of microbiology and biotechnology*, *17*(5), 505-515. doi:10.1023/A:1011916021378.

Park, H.-W., Mangum, C. M., Zhong, H. E., & Hayes, S. R. (2007). Isolation of *Bacillus sphaericus* with improved efficacy against *Culex quinquefasciatus*. *Journal of the American Mosquito Control Association*, *23*(4), 478-480. doi:10.2987/5663.1.

Pechy-Tarr, M., Borel, N., Kupferschmied, P., Turner, V., Binggeli, O., Radovanovic, D., ... Keel, C. (2013). Control and host-dependent activation of insect toxin expression in a root-associated biocontrol pseudomonad. *Environmental Microbiology*, *15*(3), 736-750. doi:10.1111/1462-2920.12050.

Péchy-Tarr, M., Bruck, D. J., Maurhofer, M., Fischer, E., Vogne, C., Henkels, M. D., ... Keel, C. (2008). Molecular analysis of a novel gene cluster encoding an insect toxin in plant-associated strains of *Pseudomonas fluorescens*. *Environmental Microbiology*, *10*(9), 2368-2386. doi:10.1111/j.1462-2920.2008.01662.x.

Pérez-García, G., Basurto-Ríos, R., & Ibarra, J. E. (2010). Potential effect of a putative σH-driven promoter on the over expression of the Cry1Ac toxin of *Bacillus thuringiensis*. *Journal of Invertebrate Pathology*, *104*(2), 140-146. doi:10.1016/j.jip.2010.02.010.

Pigott, C. R., & Ellar, D. J. (2007). Role of receptors in *Bacillus thuringiensis* crystal toxin activity. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, *71*(2), 255-281. doi:10.1128/mmbr.00034-06.

Podgwaite, J. D., & Cosenza, B. J. (1976). A strain of *Serratia marcescens* pathogenic for larvae of *Lymantria dispar*:

Infectivity and mechanisms of pathogenicity. *Journal of Invertebrate Pathology*, *27*(2), 199-208. doi:10.1016/0022-2011(76)90146-4.

Poinar, G. O., Jr., Wassink, H. J., Leegwater-van der Linden, M. E., & van der Geest, L. P. (1979). *Serratia marcescens* as a pathogen of tsetse flies. *Acta Tropica*, *36*(3), 223-227.

Ravensberg, W. J. (2011). *A roadmap to the successful development and commercialization of microbial pest control products for control of arthropods*. Berlín, Alemania: Springer Science & Business Media.

Raymond, B., Johnston, P. R., Nielsen-LeRoux, C., Lereclus, D., & Crickmore, N. (2010). *Bacillus thuringiensis*: an impotent pathogen? *Trends of Microbioly*, *18*(5), 189-194. doi:10.1016/j.tim.2010.02.006.

Reyes-Ramírez, A., & Ibarra, J. E. (2008). Plasmid patterns of *Bacillus thuringiensis* type strains. *Applied and Environmental Microbiology*, *74*(1), 125-129. doi:10.1128/AEM.02133-07.

Rippere, K. E., Tran, M. T., Yousten, A. A., Hilu, K. H., & Klein, M. G. (1998). *Bacillus popilliae* and *Bacillus lentimorbus*, bacteria causing milky disease in Japanese beetles and related scarab larvae. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *48*, 395-402. doi:10.1099/00207713-48-2-395.

Robert, L. L., Perich, M. J., Schlein, Y., Jacobson, R. L., Wirtz, R. A., Lawyer, P. G., & Githure, J. I. (1997). Phlebotomine sand fly control using bait-fed adults to carry the larvicide *Bacillus sphaericus* to the larval habitat. *Journal of the American Mosquito Control Association*, *13*(12), 140-144.

Robert, R., Farrar, J., Phyllis, A., Martin, W., & Ridgway, R. (2001). A strain of *Serratia marcescens* (Enterobacteriaceae) with high virulence per os to larvae of a laboratory colony of the Corn earworm (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Entomological Science*, *36*(4), 380-390. doi:10.18474/0749-8004-36.4.380.

Ruffner, B., Pechy-Tarr, M., Ryffel, F., Hoegger, P., Obrist, C., Rindlisbacher, A., ... Maurhofer, M. (2013). Oral insecticidal activity of plant-associated *Pseudomonas*. *Environmental Microbiolgy*, *15*(3), 751-763. doi:10.1111/j.1462-2920.2012.02884.x.

Santos-Mendoza, M., Ibarra, J. E., Delecluse, A., & Juárez-Pérez, A. (2002). Phylogenetic relationship between the *Bacillus thuringiensis* type strains, based on the sequence of the flagellin gene. En J. E. Ibarra (Chair) *Annual meeting of the society for invertebrate pathology* (p. 110). Foz do Iguazú, Brasil: Society for Invertebrate Pathology.

Saraka, D., Savin, C., Kouassi, S., Cissé, B., Koffi, E., Cabanel, N., ... Carniel, E. (2017). *Yersinia enterocolitica*, a neglected cause of human enteric infections in Côte d'Ivoire. PLoS *Neglected Tropical Diseases*, *11*, e0005216. doi:10.1371/journal.pntd.0005216.

Schnepf, E., Crickmore, N., Van Rie, J., Lereclus, D., Baum, J., Feitelson, J., ... Dean, D. H. (1998). *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, *62*(3), 775-806.

Schünemann, R., Knaak, N., & Fiuza, L. M. (2014). Mode of action and specificity of *Bacillus thuringiensis* toxins in the control of caterpillars and stink bugs in soybean culture. *International Scholarly Research Notices Microbiology*, *2014*(2014), Article ID 135675, 1-12. doi:10.1155/2014/135675.

Sergeant, M., Jarrett, P., Ousley, M., & Morgan, J. A. W. (2003). Interactions of insecticidal toxin gene products from *Xenorhabdus nematophilus* PMFI296. *Applied, and Environmental Microbiology*, *69*(6), 3344-3349. doi:10.1128/aem.69.6.3344-3349.2003.

Shen, X., Hu, H., Peng, H., Wang, W., & Zhang, X. (2013). Comparative genomic analysis of four representative plant growth-promoting rhizobacteria in *Pseudomonas*. *BMC Genomics*, *14*, 1-20. doi:10.1186/1471-2164-14-271.

Shingote, P. R., Moharil, M. P., Dhumale, D. R., Deshmukh, A. G., Jadhav, P. V., Dudhare, M. S., & Satpute, N. S. (2013). Distribution of vip genes, protein profiling and determination of entomopathogenic potential of local isolates of *Bacillus thuringiensis*. *Bt Research*, *4*(3), 14-20. doi:10.5376/bt.2013.04.0003.

Silva-Filha, M. H., Nielsen-LeRoux, C., & Jean-François, C. (1999). Identification of the receptor for *Bacillus sphaericus* crystal toxin in the brush border membrane of the mosquito *Culex pipiens* (Diptera: *Culicidae*). *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, *29*(8), 711-721. doi:10.1016/S0965-1748(99)00047-8.

Singh, G. J. P., & Gill, S. S. (1988). An electron microscope study of the toxic action of *Bacillus sphaericus in Culex quinquefasciatus* larvae. *Journal of Invertebrate Pathology*, *52*(2), 237-247. doi:10.1016/0022-2011(88)90131-0.

Snitkin, E. S., & Segre, J. A. (2014). *Pseudomonas aeruginosa* adaptation to human hosts. *Nature Genetics*, *47*, 2. doi:10.1038/ng.3172.

Soufiane, B., & Côté, J.-C. (2013). *Bacillus weihenstephanensis* characteristics are present in Bacillus cereus and Bacillus mycoides strains. *FEMS Microbiology Letters*, *341*(2), 127-137. doi:10.1111/1574-6968.12106.

Splittstoesser, C. M., Tashiro, H., Lin, S. L., Steinkraus, K. H., & Fiori, B. J. (1973). Histopathology of the European chafer, *Amphimallon majalis*, infected with *Bacillus popilliae*. *Journal of Invertebrate Pathology*, *22*(2), 161-167. doi:10.1016/0022-2011(73)90128-6.

Steinhaus, E. A. (1941). A study of the bacteria associated with thirty species of insects. *Journal of Bacteriology*, *42*(6), 757-790.

Steinhaus, E. A. (1975). *Disease in a minor chord: being a semihistorical and semibiographical account of a period in*

science when one could be happily yet seriously concerned with the diseases of lowly animals without backbones, especially the insects. Columbus, EE. UU.: Ohio State University Press.

Stucki, G., Jackson, T. A., & Noonan, M. J. (1984). Isolation and characterisation of *Serratia* strains pathogenic for larvae of the New Zealand grass grub *Costelytra zealandica*. *New Zealand Journal of Science*, *27*, 255-260.

Thakore, Y. (2006). The biopesticide market for global agricultural use. *Industrial Biotechnology*, *2*(3), 194-208. doi:10.1089/ind.2006.2.194.

Townsend, R. J., Ferguson, C. M., Proffitt, J. R., Slay, M. W. A., Swaminathan, J., Day, S., … Jackson T. A. (2004). Establishment of *Serratia entomophila* after application of a new formulation for grass grub control. *New Zealand Plant Protection*, *57*, 10-12.

Trought, T. E. T., Jackson, T. A., & French, R. A. (1982). Incidence and transmission of a disease of grass grub (*Costelytra zealandica*) in Canterbury. *New Zealand Journal of Experimental Agriculture*, *10*(1), 79-82. doi:10 .1080/03015521.1982.10427847.

Van der Pas, R., Waddington, C., & Ravensberg, W. (2000). Commercialisation of a microbial pesticide "challenges and constraints". *Bulletin IOBC/WPRS*, *23*(2), 15-18.

Van Frankenhuyzen, K. (2009). Insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* crystal proteins. *Journal of Invertebrate Pathology*. *101*(1), 1-16. doi:10.1016/j.jip.2009.02.009.

Van Frankenhuyzen, K., & Nystrom, C. (2011). *The Bacillus thuringiensis toxin specificity database*. Calgary, Canadá: Natural Resources Canada.

Visnovsky, G. A., Smalley, D. J., O'Callaghan, M., & Jackson, T. A. (2008). Influence of culture medium composition, dissolved oxygen concentration and harvesting time on the production of *Serratia entomophila*, a microbial control agent of the New Zealand grass grub. *Biocontrol Science and Technology*, *18*(1), 87-100. doi:10.1080/09583150701760513.

Vodovar, N., Vallenet, D., Cruveiller, S., Rouy, Z., Barbe, V., Acosta, C., … Boccard, F. (2006). Complete genome sequence of the entomopathogenic and metabolically versatile soil bacterium *Pseudomonas entomophila*. *Nature Biotechnology*, *24*, 673-679. doi:10.1038/nbt1212.

Vodovar, N., Vinals, M., Liehl, P., Basset, A., Degrouard, J., Spellman, P., … Lemaitre, B. (2005). *Drosophila* host defense after oral infection by an entomopathogenic *Pseudomonas* species. *Proceedings of the National Academy of Science of the USA*, *102*(32), 11414-11419. doi:10.1073/pnas.0502240102.

Wahba, M. M. (2000). The influence of *Bacillus sphaericus* on the biology and histology of *Phlebotomus papatasi*. *Journal of Egyptian Society of Parasitology*, *30*(1), 315-323.

Walker, K., Mendelsohn, M., Matten, S., Alphin, M., & Ave, D. (2003). The role of microbial Bt products in U.S. Crop protection. *Journal of New Seeds*, 5(1), 31-51. doi:10.1300/J153v05n01_03.

Waterfield, N., Hares, M., Yang, G., Dowling, A., & Ffrench-Constant, R. (2005). Potentiation and cellular phenotypes of the insecticidal Toxin complexes of *Photorhabdus bacteria*. *Cellular Microbiology*, *7*(3), 373-382. doi:10.1111/j.1462-5822.2004.00467.x.

Wermelinger, E. D., Zanuncio, J. C., Rangel, E. F., Cecon, P. R., & Rabinovitch, L. (2000). Toxicity of *Bacillus* Species to Larvae of *Lutzomyia longipalpis* (L. & N.) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, *29*(3), 609-614. doi:10.1590/S0301-80592000000300025.

Whalon, M. E., & Wingerd, B. A. (2003). Bt: Mode of action and use. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, *54*(4), 200-211. doi:10.1002/arch.10117.

Xu, D., & Côté, J.-C. (2008). Sequence diversity of *Bacillus thuringiensis* flagellin (H antigen) protein at the intra-H serotype level. *Applied Environmental Microbiology*, *74*(17), 5524-5532. doi:10.1128/aem.00951-08.

Yang, G., Dowling, A. J., Gerike, U., Ffrench-Constant, R. H., & Waterfield, N. R. (2006). *Photorhabdus* virulence cassettes confer injectable insecticidal activity against the wax moth. *Journal of Bacteriology*, *188*(6), 2254-2261. doi:10.1128/JB.188.6.2254-2261.2006.

Yousten, A. A., Fretz, S. B., & Jelley, S. A. (1985). Selective medium for mosquito-pathogenic strains of *Bacillus sphaericus*. *Applied and Environmental Microbiology*, *49*(6), 1532-1533.

Yu, X., Zheng, A., Zhu, J., Wang, S., Wang, L., Deng, Q., … Li, P. (2011). Characterization of Vegetative Insecticidal Protein vip Genes of *Bacillus thuringiensis* from Sichuan Basin in China. *Current Microbiology*, *62*(3), 752-757. doi:10.1007/s00284-010-9782-3.

Zalunin, I. A., Elpidina, E. N., & Oppert, B. (2015). The role of proteolysis in the biological activity of Bt insecticidal crystal proteins. En M. Soberón, A. Gao & A. Bravo (Eds.), *Bt Resistance: Characterization and Strategies for GM Crops Producing Bacillus thuringiensis Toxins* (pp. 107-118). Wallingford, Inglaterra: Centre for Agricultural Bioscience International (CABI). doi:10.1079/9781780644370.0107.

Zhang, D., De Souza, R. F., Anantharaman, V., Iyer, L. M., & Aravind, L. (2012). Polymorphic toxin systems: Comprehensive characterization of trafficking modes, processing, mechanisms of action, immunity and ecology using comparative genomics. *Biology Direct*, *7*, 18. doi:10.1186/1745-6150-7-18.

Zhang, J., Hodgman, T. C., Krieger, L., Schnetter, W., & Schairer, H. U. (1997). Cloning and analysis of the first cry gene from *Bacillus popilliae*. *Journal of Bacteriology*, *179*(13), 4336-4341. doi:10.1128/jb.179.13.4336-4341.

Capítulo 6

Hongos entomopatógenos en el control biológico de insectos plaga

Chapter 6

Entomopathogenic fungi in insect pests biological control

Carlos Espinel Correal,[1] Lissette Aracelly Torres Torres,[1]
Laura Fernanda Villamizar Rivero,[3] Alex Enrique Bustillo Pardey,[2]
María Victoria Zuluaga Mogollón,[1] Alba Marina Cotes Prado[1]

[1] Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA)

[2] Centro de Investigación en Palma de Aceite (Cenipalma)

[3] AgResearch, Lincoln Research Centre

Contenido

Contexto histórico 338

Mecanismos de acción de hongos entomopatógenos 341

Ejemplos de desarrollo y uso de hongos entomopatógenos como bioinsecticidas a nivel internacional 343

Beauveria bassiana en el control de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari), en Colombia 346

Lecanicillium lecanii en el control de las moscas blancas, *Bemisia tabaci* y *Trialeurodes vaporariorum* en Colombia 348

Metarhizium anisopliae para el control de la langosta llanera, *Rhammatocerus schistocercoides*, en Colombia 352

Producción comercial de bioplaguicidas para el control de insectos plaga en Colombia 354

Limitaciones para la producción y el uso de hongos entomopatógenos 356

Limitaciones de producción 356

Conclusiones y perspectivas 361

Agradecimientos 362

Referencias 363

Resumen

Los hongos entomopatógenos juegan un papel muy importante como agentes de control de muchas especies de artrópodos al comportarse de forma epizoótica, que ocasiona la reducción de poblaciones naturales. Su rol en la regulación de estas poblaciones fue descubierto desde tiempos antiguos, y el estudio para aprovecharlos como agentes de control biológico a lo largo de la historia se mostrará en este capítulo, mediante la descripción de trabajos de algunos naturalistas y científicos acuciosos. De igual manera, se describe su mecanismo de acción y una visión de la producción comercial actual en Colombia, mostrando varios ejemplos del uso exitoso de entomopatógenos, entre ellos, dos casos liderados por AGROSAVIA (anteriormente Corpoica). Aunque se considera que es una estrategia que ha tenido éxito en varios escenarios, su producción y uso también presentan varios cuellos de botella, que son descritos en este capítulo y que se deben tener en cuenta para corregirlos o minimizarlos, con el fin de asegurar el éxito en una campaña de manejo del insecto blanco.

Palabras clave

Bioplaguicida, entomopatógeno, hongo

Abstract

Entomopathogenic fungi play an important role in natural biological control agents for many arthropods species for its behavior as epizootic that significantly decrease host populations. The role of fungi in regulating the insect population was noticed since ancient time and the study as biological control agents will be stated in this chapter, by description of works made by several diligent naturalists and scientific. Likewise, the mechanism of action is described and a view of current commercial production in Colombia, showing several examples of the successful use of entomopathogens, including two cases led by AGROSAVIA (previously Corpoica). Although the use of entomopathogenic fungus is considered as a strategy that has been successful in several scenarios, the production and use also presents several bottlenecks that are described in this chapter and that must be taken into account to correct or minimize them in order to ensure success in a campaign of management of the target insect.

Keywords

Biopesticide, entomopathogen, fungi

Contexto histórico

El comienzo del uso de hongos entomopatógenos no se remonta a los inicios de la era cristiana, como en el caso de la historia misma de la utilización del control biológico de insectos indeseables por medio de depredadores naturales. La observación inicial básica de las enfermedades en insectos comenzó con aquellos que proporcionaban un servicio al hombre, por lo cual las abejas y el gusano de seda fueron el centro de atención de naturalistas y filósofos desde el año 335 a. C. hasta el primer milenio de la era cristiana (Steinhaus, 1956).

El avance en el estudio de estos patógenos de insectos fue creciendo a partir de observaciones minuciosas, y luego con la ayuda de instrumentos ópticos apropiados. Sin embargo, aunque las enfermedades consideradas como una condición anormal en los insectos fueron observadas en las abejas y gusanos de seda, el primer parásito microbiano no se encontró en estas especies.

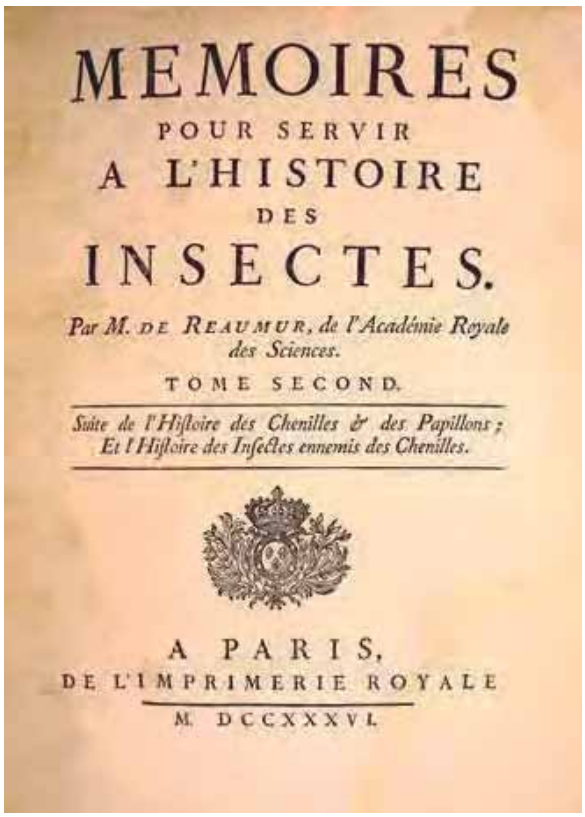

MEMOIRES
POUR SERVIR
A L'HISTOIRE
DES
INSECTES.
Par M. DE REAUMUR, de l'Académie Royale des Sciences.
TOME SECOND.
Suite de l'Hiſtoire des Chenilles & des Papillons; Et l'Hiſtoire des Inſectes ennemis des Chenilles.
A PARIS,
DE L'IMPRIMERIE ROYALE
M. DCCXXXVI.

Figura 6.1. Facsímil de la portada del libro *Mémoires pour servir à l'histoire des insectes*.

Fuente: Ferchault de Réaumur (1734)

Al respecto, se puede mencionar a René Antoine Ferchault de Réaumur (1683-1757), un abogado y físico francés, reconocido por ser el creador de la escala de temperaturas Réaumur, así como un estudioso de la entomología, que se destacó por su investigación minuciosa de varias características fisiológicas de los insectos, y dejó a la humanidad varios volúmenes, escritos entre 1734 y 1742, de su obra *Mémoires pour servir à l'histoire des insectes* (figura 6.1).

En 1726, concentró su atención en el hongo *Cordyceps sinensis*, a partir de un reporte de un sacerdote jesuita, que envió muestras de Pekín a Europa. Sin embargo, malinterpretó el crecimiento del cuerpo fructífero del hongo adherido a la larva de un noctuido (posiblemente *Agrotis*), considerándolo una raíz.

Posteriormente, Theodor Holmskjold (1731-1793), un botánico danés, discípulo de Carlos Linneo, hizo una descripción de *Cordyceps militaris* y reconoció el hongo como un entomógeno que provenía del cuerpo de un insecto. Por su parte, en 1887, Anton de Bary describió los detalles de la infección de orugas por ascosporas de *C. militaris* y la subsecuente historia de vida del parásito (Ainsworth, 1976).

Hay un caso interesante, que el monje franciscano Torrubia relata en 1749, acerca del hallazgo de "avispas vegetales" en cercanías de La Habana. Se refería a avispas infectadas con *Cordyceps*, de las que hizo una representación diagramática cuando se encontraban en el suelo, con un "árbol" creciéndoles en la base del abdomen (figura 6.2). Mencionó que los habitantes de la zona lo relacionaban con un arbusto espinoso que llamaban *gia*, aduciendo que las espinas eran los aguijones de las avispas que se desarrollaban en los tallos que brotaban de su abdomen (Steinhaus, 1956).

En lo que respecta a estudios más sistemáticos, Agostino Bassi (1773-1856) hizo un aporte importante en el conocimiento de los hongos entomopatógenos, pues

desarrolló la primera prueba experimental sobre un agente biológico que causa una enfermedad epidémica, al estudiar la afección de los gusanos de seda llamada *calcinaccio, mal del segno* o muscardina (en Francia), que fue un gran problema en Italia y Francia hacia el año 1800.

Durante 17 años exploró la hipótesis de que el agente causal fuera un "germen externo que entra desde afuera y crece", que resultó cierta. Bassi lo identificó como un hongo parásito y publicó todo su estudio en el libro *Del mal del segno, calcinaccio o moscardino, malattia che affligge i bachi de seta* (Bassi, 1835) (figura 6.3).

Bassi no solo transmitió este hongo al gusano de seda y a otras especies, sino que en el año 1835 afirmó que podía hacerlo cuando él quisiera. Se podría decir que esta declaración originó el control microbiano (Lord, 2005). Poco después, Giuseppe Balsamo Crivelli la identificó como *Botrytis paradoxa* y lo rebautizó *Botrytis bassiana*, en honor de Bassi.

Aunque los inicios de la idea de combatir los insectos plaga con enfermedades se remontan a los experimentos que Bassi y otros estudiosos hicieron desde principios del siglo xix, aparentemente el primer documento al respecto, publicado de manera formal en lengua inglesa, solo apareció en 1873, cuando el entomólogo estadounidense John LeConte presentó en la xxii Conferencia de la Sociedad Americana para el Avance de la Ciencia un documento referido a "claves para la promoción de la entomología económica", y sugirió nuevos sistemas de "confirmación" que podían ser empleados contra insectos perjudiciales. Estas claves se basaron en sus estudios acerca de la transmisión de enfermedades en gusanos de seda (Lord, 2005; Steinhaus, 1956).

En la segunda mitad del siglo xix, en Estados Unidos se lideraron muchos trabajos relacionados con el control de insectos perjudiciales con levaduras, los cuales no tuvieron buenos resultados (Lord, 2005). Aproximadamente en la misma época, en Europa oriental (Rusia) se desarrolló de manera notable la idea de la patología de insectos aplicada.

En ese marco surgió la figura de Elie Metchnikoff (1845-1916), quien luego ganaría un premio Nobel por su trabajo en inmunidad fagocítica. Enfocó su preocupación en el "escarabajo de los granos", *Anisoplia*

Figura 6.2. Reproducción de una lámina de la obra de José Torrubia, *Aparato para la historia natural española*, publicada en 1754. Representa avispas muertas con "árboles" (*Cordyceps*) saliendo de ellas.

Fuente: Steinhaus (1956)

austriaca Hbst., y en los grandes daños que causaba en los cultivos de cereales en Rusia. Le llamó particularmente la atención el aumento y la disminución de la población de esta plaga en diferentes años, y pensó que esta oscilación podría deberse a brotes de enfermedades entre los insectos.

En 1878, en la región de Odessa, Metchnikoff encontró tres tipos de enfermedades que estaban atacando este insecto, una causada por una bacteria, otra por un nematodo y una tercera por un hongo, al cual llamó *Entomophthora anisopliae*, que, luego de varios cambios, hoy es conocido como *Metarhizium anisopliae* (Metch.) Sorokin.

El investigador estudió el hongo desde los puntos de vista micológico y patológico, y resultó muy notable el hecho de que apreció la gran importancia de epizootias

naturales en la reducción de las poblaciones de insectos, y que tuvo la visión del uso práctico de agentes causantes de enfermedades, en especial hongos, y lo probó experimentalmente (Steinhaus, 1956).

En consecuencia, sugirió la diseminación de la enfermedad por medio de la dispersión de los cuerpos de las larvas infectadas con el hongo o las esporas libres en el cultivo y en el suelo donde se habían encontrado estas larvas, y, para un mayor éxito del control, recomendó la producción de este hongo en varias localidades. Él consideraba que las epizootias naturales no eran suficientemente eficaces, y que la participación del hombre ayudaría a suprimir las plagas de manera efectiva.

En 1879, Metchnikoff encontró que el curculio de la remolacha, *Cleonus punctiventris* Germ., estaba siendo afectado por el hongo, estimó en un 40 % la infección en campo, y lo comprobó en pruebas de

Figura 6.3. Facsímil de la carátula del libro *Del mal del segno, calcinaccio o moscardino, malattia che affligge i bachi de seta*.

Fuente: Bassi (1835)

laboratorio. También encontró métodos para propagar artificialmente el hongo y, con la ayuda del químico A. Werigo, descubrió que las esporas se podían producir en malta esterilizada.

Al parecer, fue el primero en darse cuenta de la importancia de la producción masiva de los hongos entomopatógenos por medios "artificiales", pero no hay registros de las pruebas realizadas en campo, pues en 1884 dejó que su joven aprendiz Isaak Krassislsschik liderara y organizara una pequeña planta de producción en Smela.

Después de cuatro meses de producción, obtuvieron 55 kg de esporas de *Metarhizium*, que se mezclaron con arena fina y se esparcieron en cultivos cercanos a Kiev. Entre 10 y 15 días después, entre el 55 % y el 80 % de las larvas de *Cleonus* murieron a causa del hongo. Sin embargo, el trabajo no continuó, por varias razones, que iban desde la disminución de la producción de remolacha hasta inconsistencias en los resultados, tal vez por la ausencia de conocimiento sobre las variaciones en la virulencia y los factores básicos involucrados en la epizootia (Lord, 2005; Steinhaus, 1956).

También a finales del siglo xix, en las planicies centrales de Estados Unidos, se llevó a cabo uno de los más grandes programas de control microbiano, mediante el tratamiento de la chinche *Blissus leucopterus* (Say.) con *Beauveria bassiana*. Francis Snow, de la Universidad de Kansas, logró establecer una estación experimental para producir y distribuir el hongo a los agricultores de manera gratuita. Distribuyó casi 50.000 paquetes en Kansas, y los estados vecinos lo imitaron. Inicialmente observaron reportes favorables, pero en los primeros años del siglo xx el programa terminó.

En las décadas siguientes, en el estado de Florida ocurrió algo similar a lo que se observó en las planicies centrales. Hubo una idea generalizada acerca del uso de los "hongos amigos", debido a su ocurrencia generalizada en plagas como escamas (Coccidae) y moscas blancas (Aleyrodidae). No obstante, hubo opiniones diversas sobre el verdadero impacto que tuvieron los hongos, y los esfuerzos de intervención humana para lograr un mayor control fueron ocasionales.

La estación experimental de la Florida, así como empresas privadas, distribuyeron hongos para el control

de las moscas blancas. También se produjeron en el mercado de cítricos en California, pero en términos generales los resultados fueron pobres, lo que se atribuyó a la baja humedad del ambiente (Lord, 2005), una condición importante para la germinación de los hongos, como lo veremos más adelante.

En Colombia hay varios ejemplos del uso de hongos entomopatógenos en el control de insectos, como se demuestra en múltiples trabajos presentados en congresos y simposios. En este capítulo presentaremos algunos casos exitosos del uso de estos agentes de control, pues no solo se quedaron en evaluaciones iniciales de virulencia, sino que fueron desarrollados hasta contar con un producto preparado para ser aplicado en campo.

Los hongos han sido los agentes preponderantes en los inicios del control microbiano. Es entendible, pues es la enfermedad más visible en insectos, y muchos de ellos se pueden producir masivamente. Sin embargo, han enfrentado grandes retos en cuanto a su eficacia, la comprensión de su dinámica y la factibilidad de su uso en los sistemas agrícolas para el control de plagas. Como todos los agentes de control biológico, requieren curiosidad, ingenio y conocimiento, para sortear los inconvenientes y desafíos con los que todo ser vivo se encuentra.

Mecanismos de acción de hongos entomopatógenos

La población de los insectos plaga puede estar regulada por la aparición frecuente de epizootias importantes, causadas por hongos. Por tal razón, estos últimos se utilizan como una herramienta de manejo de plagas, mediante el desarrollo de bioplaguicidas. En el mundo hay distribuidas más de 700 especies de hongos entomopatógenos; sin embargo, solo unos pocos se estudian en profundidad (Alatorre-Rosas, 2007).

La infección natural comienza cuando el insecto entra en contacto con el hongo al transitar por sustratos que este ha colonizado, como en el caso del suelo, el agua o las partes aéreas de las plantas. De esta manera, las unidades infectivas (conidios) se adhieren a la superficie de la cutícula del insecto, a través de fuerzas hidrófobas, debido a la presencia de proteínas ricas en cisteínas llamadas hidrofobinas.

Una vez que el hongo entra en contacto con el insecto, hay factores que determinan el éxito en la germinación, como el contenido de agua, iones, ácidos grasos y nutrientes en la superficie de este, así como su estado fisiológico (Shahid, Rao, Bakhsh, & Husnain, 2012). El tubo germinal empieza a crecer sobre la cutícula del insecto y penetra a través de orificios naturales, como partes bucales, membranas intersegmentales, espiráculos o sitios donde existe una alta humedad.

La penetración del hongo se da a través de la presión física y de la producción de enzimas ejercida por el apresorio. En la degradación de la cutícula intervienen enzimas como proteinasas, quitinasas, lipasas y esterasas (Ferron, 1978) (figura 6.4).

El proceso de infección de un hongo entomopatógeno, ilustrado en la figura 6.4, puede explicarse de la siguiente manera:

1. Un conidio se adhiere a la cutícula del insecto, germina y forma la estructura de infección: el apresorio.
2. Se produce la combinación de la acción enzimática que degrada la cutícula, la cual se rompe debido a la presión osmótica, mediada por la generación de altas concentraciones de glicerol, producto de la hidrólisis causada por las gotas de lípidos translocadas del conidio germinado.
3. En el hemocele, los cuerpos hifales producen blastosporas para colonizar el hospedero y aprovechar sus nutrientes, secretan proteínas efectoras y metabolitos secundarios para evadir la respuesta inmune, por lo que se contrarrestan los receptores del hospedero (proteínas de resistencia), y producen toxinas.
4. Debido a estas estrategias, el insecto muere, el hongo termina de colonizarlo, las hifas emergen del insecto y forman las células conidiógenas.
5. Dependiendo de las condiciones, estas últimas producen la esporulación sobre el hospedero.

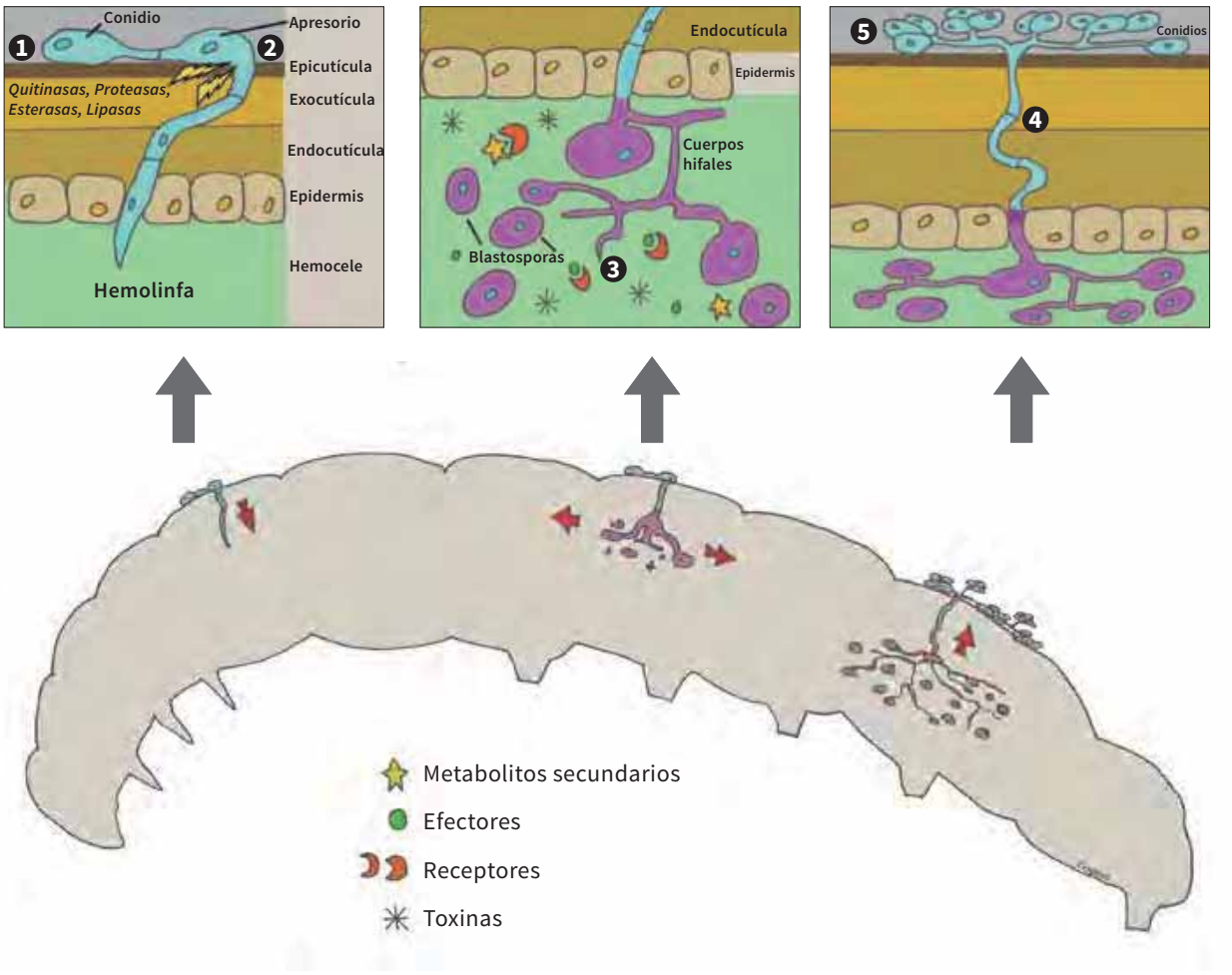


Figura 6.4. Esquema del proceso de infección de un hongo entomopatógeno.

Fuente: Elaboración propia basada en Wang y Wang (2017)

Según investigaciones bioquímicas, la formación del apresorio (hinchamiento en el extremo apical de los tubos germinales) es mediada por el Ca^{+2} intracelular y el adenosín monofosfato cíclico (AMPc). El mecanismo de acción de *M. anisopliae* ha sido ampliamente estudiado y ha podido ser atribuido a los demás hongos entomopatógenos.

Dichos estudios parecen indicar que la destrucción de la cutícula se inicia después del contacto con las estructuras del hongo, que lleva a cambios en el potencial de la membrana, posiblemente por la activación de un canal iónico mecanosensitivo, que resulta de una variación del gradiente de Ca^{+2}.

Por otra parte, se ha encontrado un notorio incremento en los niveles intracelulares de AMPc justo en el sitio de formación del apresorio (Clarkson, & Charnley, 1996).

Al mismo tiempo que esta estructura se forma, intervienen enzimas que degradan la cutícula, y que reaccionan ante los diversos compuestos de esta estructura de los insectos.

Entre tales enzimas hay diferentes proteasas, como la subtilisina (Pr1 A y B), la serina proteasa (Pr2), la enzima proteinasa 3 (Pr3), la cisteína proteasa (Pr4), la carboxipeptidasa (MeCPA), la metaloendoproteasa y la dipeptidil peptidasa, además de lipasas, esterasas y quitinasas (poli N-acetil-b-D-glucosaminidasa y 1-4-b quitobiosidasa). La Pr1 producida por *M. anisopliae* ha sido ampliamente estudiada como modelo de patogenicidad (Alatorre-Rosas, 2007).

Una vez que el hongo penetra la epicutícula y la procutícula del insecto, llega a la hemolinfa y se

disemina a través de blastosporas y micelio. La muerte del insecto es causada por la combinación de tres factores: daño mecánico, desnutrición (el hongo consume azúcares y proteínas vitales del insecto) y la acción de metabolitos secundarios o toxinas (Gillespie, & Claydon, 1989).

Los hongos sintetizan metabolitos con acción tóxica. Algunas de las toxinas que intervienen en el proceso de infección se clasifican dentro de los depsipéptidos cíclicos. Hay toxinas que alteran el transporte de cationes a través de la membrana celular, como en el caso de la beauvericina, producida por *Lecanicillium (Verticillium) lecanii* y *B. bassiana*, además del basianolide, producido por este último hongo y por *Isaria fumosorosea (Paecilomyces fumosoroseus)*. Además, en *B. bassiana* se encuentra la oosporeína, que tiene una actividad antimicrobiana que favorece el desarrollo del entomopatógeno.

A partir de *M. anisopliae* se han aislado dos grupos de toxinas: las destruxinas (depsipéptidos cíclicos) y las citocalasinas, cuya producción está relacionada con la toxicidad y virulencia entre aislamientos contra algunos insectos (Alatorre-Rosas, 2007; Kachatourians, 1991).

La salud del insecto se ve alterada mediante la acción de las toxinas que alteran los organelos celulares, lo que se manifiesta a través de parálisis celular y disfunción en el intestino medio y el tejido muscular. También se bloquea la reacción inmune del insecto, pues se impide la actividad fagocítica de los plasmatocitos, lo cual favorece la rápida multiplicación del hongo (Kachatourians, 1991).

Luego de la muerte del huésped, y si las condiciones ambientales son favorables, las hifas emergen de este y ocurre la esporulación sobre su superficie (figura 6.5), que contribuye a la diseminación del hongo y la posterior infección de otros individuos (Alatorre-Rosas, 2007).

Ejemplos de desarrollo y uso de hongos entomopatógenos como bioinsecticidas a nivel internacional

Aunque la mayoría de los hongos entomopatógenos pertenecen a dos órdenes, Entomophthorales e Hypocreales (anteriormente Hyphomycetes) (Hajek, & St. Leger, 1994), los primeros son poco usados en el ámbito comercial.

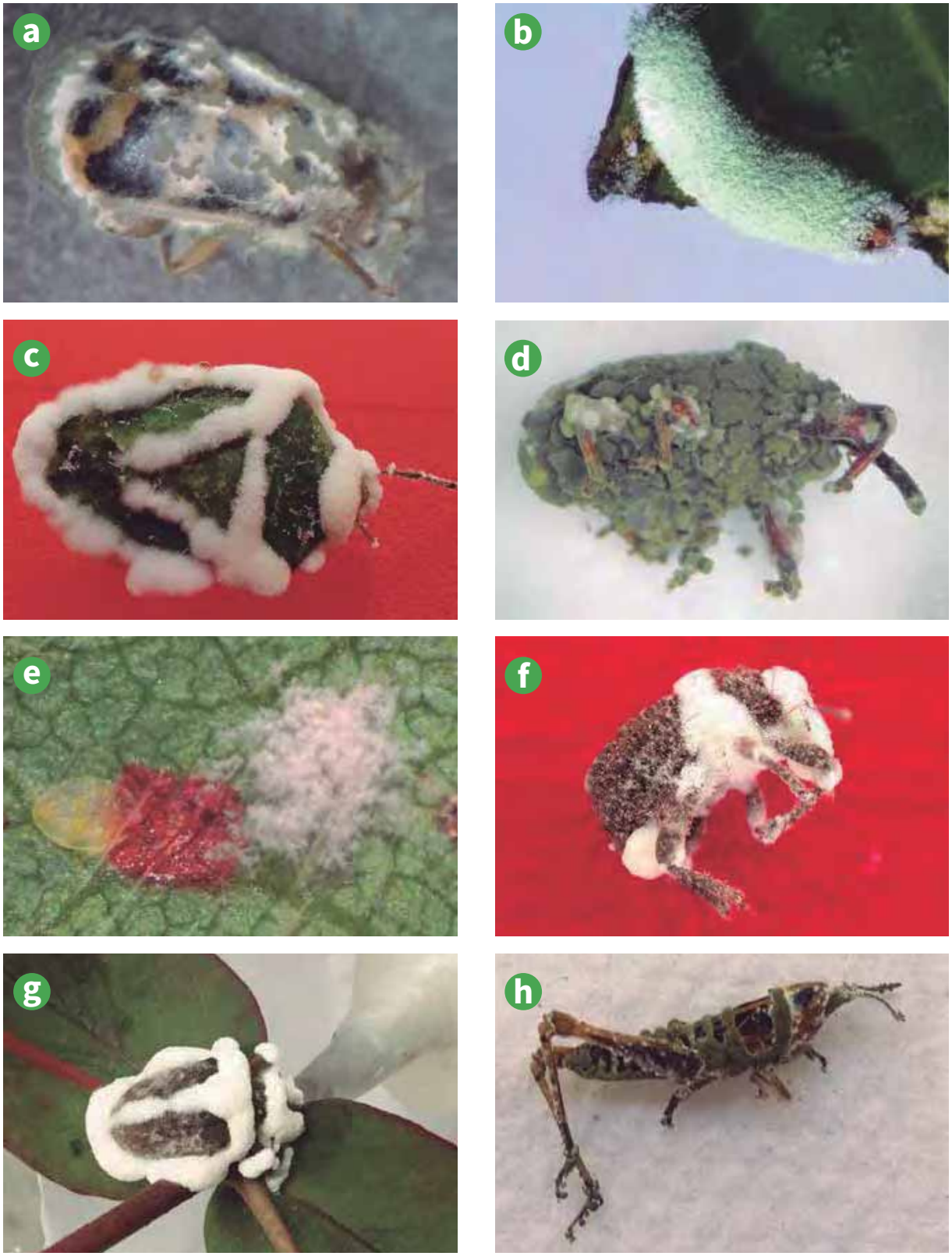
Dentro de los Entomophthorales se incluyen *Entomophaga*, *Entomophthora* y *Zoophthora* (Goettel, Inglis, & Wraight, 2000), que pueden producir zigosporas y azigosporas (esporas de reposo); son parásitos obligados con un limitado espectro de huéspedes, y su función principal es la de suprimir insectos a través de las epizootias. Su uso limitado puede atribuirse a que son difíciles de obtener masivamente, pues, en general, deben ser producidos en insectos huéspedes (Goettel et al., 2000).

La mayoría de los micoinsecticidas producidos a nivel mundial pertenecen a hongos Hypocreales, dentro de los que se encuentran *Beauveria* spp., *Metarhizium* spp., *Lecanicillium* spp. (anteriormente *Verticillium*) e *Isaria* spp. (antes *Paecilomyces*).

Como aparece en la tabla 6.1, en la cual se incluyen bioplaguicidas a base de hongos entomopatógenos registrados en Australia, Brasil, Canadá, la Unión Europea, Japón, Nueva Zelanda y Estados Unidos, se observa que se utilizan para controlar una amplia variedad de insectos plaga.

Aunque se piensa que cepas específicas de estos hongos exhiben una gama estrecha de huéspedes, se ha demostrado que las especies individuales, y en este caso, cepas particulares (tabla 6.1), son en realidad un complejo de especies polimórficas que exhiben una variada especificidad, lo que resulta en un amplio espectro de huéspedes (Fegan et al., 1993; Wang et al., 2005; Zimmermann, 2008).

B. bassiana es el entomopatógeno con mayor espectro de uso y del que se tiene un mayor número de productos comerciales a nivel mundial (De Faria, & Wraight, 2007). Los productos a base de *M. anisopliae* no están tan ampliamente disponibles en el mercado y tienen un menor rango de huéspedes, pero



Fotos: Carlos Espinel Correal

Figura 6.5. Infecciones características de hongos entomopatógenos. a. *M. anisopliae* sobre *Cerotoma tingomariana*; b. *Metarhizium (Nomuraea) rileyi* sobre *Spodoptera frugiperda*; c. *B. bassiana* sobre *Nezara* sp.; d. *Metarhizium robertsii* sobre *Anthonomus grandis*; e. Ninfa de *Bemisia tabaci*, individuo sano y esporulado por *L. lecanii*; f. *B. bassiana* sobre *Premnotrypes vorax*; g. *B. bassiana* sobre *Gonipterus platensis*; h. *M. anisopliae* sobre *Rhammatocerus schistocercoides*.

Tabla 6.1. Bioplaguicidas a base de hongos entomopatógenos para el control de insectos plaga registrados en diversos países

Microorganismo y cepa	País/región	Plagas blanco
Beauveria bassiana 147	EU[c]	*Rhynchophorus ferrugineus* e insectos de cuerpo blando
Beauveria bassiana 447	USA	Hormigas
Beauveria bassiana ANT 03	CA	Insectos de cuerpo blando
Beauveria bassiana ATCC 74040	EU, NZ (2013), USA	Arañas rojas, moscas blancas, trips y áfidos
Beauveria bassiana CG 716	BR	Moscas blancas, arañas rojas y escarabajos
Beauveria bassiana GHA	CA, EU, J	Moscas blancas, trips y áfidos
Beauveria bassiana HF 23	CA	Insectos de cuerpo blando
Beauveria bassiana IBCB 66	BR	Moscas blancas, arañas rojas y escarabajos
Beauveria bassiana IMI 389521	EU[c]	Escarabajos en granos almacenados
Beauveria bassiana k4b1	NZ (2005)	Trips
Beauveria bassiana k4b3	NZ (2009)	Insectos chupadores
Beauveria bassiana NPP 111B005	EU[c]	*Cosmopolites sordidus* y *Rhynchophorus ferrugineus*
Beauveria bassiana PL 63	BR	Moscas blancas, arañas rojas y escarabajos
Beauveria brongniartii NBL 851	J	*Anoplophora glabripennis*
Isaria fumosorosea Apopka 97 (antes *Paecilomyces fumosoroseus*)	EU, J, USA	Moscas blancas, trips, áfidos y ácaros
Isaria fumosorosea Fe 9901	CA, EU	Moscas blancas
Lecanicillium lecanii (antes *Verticillium lecanii*) K4V1 + K4V2	NZ (2012)	Trips, moscas blancas, áfidos, pseudocóccidos, psílidos y *Scolypapa australis*
Lecanicillium lecanii K4V (antes *Verticillium lecanii*)	NZ (2012)	Moscas blancas, trips, áfidos y *Scolypapa australis*
Lecanicillium muscarium (antes *Verticillium lecanii*) Ve6	EU, J	Moscas blancas, trips
Metarhizium anisopliae	AUS	*Adoryphorus couloni*
Metarhizium anisopliae	AUS	*Dermolepida albohirtum*
Metarhizium anisopliae var. *acridum*	AUS	Langostas
Metarhizium anisopliae ESF 1	USA	Termitas
Metarhizium anisopliae IBCB 348	BR	Saltamontes
Metarhizium anisopliae PL 43	BR	Saltamontes
Metarhizium anisopliae SMZ 2000	J	Áfidos, trips, moscas blancas
Metarhizium anisopliae var. *anisopliae* Bipesco 5/F52	CA, EU, USA	*Otiorhynchus sulcatus* y trips
Paecilomyces tenuipes T1	J	Moscas blancas, áfidos

AUS: Australia; BR: Brasil; CA: Canadá; EU: Unión Europea; J: Japón; NZ: Nueva Zelanda; USA: Estados Unidos; y C: Registro pendiente en EU.

Fuente: Adaptada de van Lenteren, Bolckmans, Köhl, Ravensberg y Urbaneja (2017)

las siete cepas citadas han sido usadas con éxito. *L. lecanii* (antes *Verticillium lecanii*), ha demostrado una amplia utilización para el control de varias especies de insectos.

Recientemente se han registrado productos a base de *I. fumosorosea* (antes *P. fumosoroseus*), de los que se cita el uso de dos cepas. Otros entomopatógenos mencionados como únicos productos y para pocas aplicaciones son *B. brongniartii* y *P. tenuipes*.

A pesar del importante potencial que han mostrado los hongos entomopatógenos, los desarrollos aún son incipientes a nivel comercial, si se tiene en cuenta que aún hay muchos géneros y especies inexplorados, o cuyos desarrollos han quedado en el ámbito del laboratorio.

Así mismo, la mayoría de los productos comerciales coinciden en las mismas plagas objetivo, y quedan todavía muchos insectos económicamente importantes que no cuentan con bioplaguicidas para su control.

Beauveria bassiana en el control de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari), en Colombia

Con la llegada en 1988 de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae), a las zonas cafeteras de Colombia, las investigaciones del Centro Nacional de Investigaciones de Café (Cenicafé) se encaminaron a desarrollar controladores biológicos basados en hongos entomopatógenos e insectos parasitoides (Bustillo, 1995).

Dado que en otros países en los que se encontraba este insecto se habían registrado infecciones con el hongo *B. bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Bb), surgió la iniciativa de investigarlo, para determinar el papel que podría tener en el control de *H. hampei* en las condiciones de los ecosistemas cafeteros colombianos.

Estos agroecosistemas son permanentes y, debido al sombrío o autosombrío del café, hay bastante protección de la radiación solar y, durante ciertos momentos del día, la humedad relativa alcanza niveles óptimos para que algunos hongos entomopatógenos se establezcan y puedan infectar insectos plaga. Otra situación que se tuvo en cuenta es el hábito de penetración del adulto de la broca en el fruto del café, que toma algún tiempo en el cual su cuerpo queda expuesto al ataque de controladores biológicos (figura 6.6a).

Estas consideraciones hicieron posible que se emprendiera un vasto programa de investigación, iniciado con la obtención de aislamientos de *B. bassiana* de diferentes partes del mundo y de Colombia, para seleccionarlos en función de su patogenicidad y virulencia, hasta llegar a la producción masiva y la evaluación de su eficacia en diferentes condiciones ecológicas de cafetales, para finalmente lograr un

Fotos: Luis Miguel Constantino y Alex Enrique Bustillo

Figura 6.6. Control biológico de la broca del café. a. Adulto de *H. hampei* penetrando un fruto maduro de café; b. Broca infectada por el hongo *B. bassiana* cuando penetraba un fruto de café; c. Frutos de café verdes infestados con *H. hampei* e infectados con *B. bassiana* (obsérvense las motas blancas).

insumo biológico e incluirlo dentro de un programa de manejo integrado de la broca del café (Bustillo et al., 1998).

En Cenicafé se desarrolló un bioensayo para seleccionar los aislamientos más patogénicos (González, Posada, & Bustillo, 1993). En condiciones de laboratorio, el ciclo de infección (desde la inoculación hasta la esporulación) de Bb sobre la broca fue de 8,2 días.

Además, se demostró la importancia de "reactivar la patogenicidad del hongo", mediante pases del hongo sobre su hospedero, debido a que los cultivos sucesivos (por más de tres generaciones) pueden reducir su patogenicidad y aumentar la concentración letal (González et al., 1993). En los ensayos biológicos se encontró que las cepas de *B. bassiana* Bb9212 y Bb9205 produjeron una mortalidad más rápida en un tiempo promedio de $2,6 \pm 0,8$ y $4,2 \pm 1,1$ días, respectivamente.

Por otro lado, se estudió la producción promedio de conidios por broca muerta y se encontró que el aislamiento Bb9114 llegaba a producir hasta $8,8 \times 10^6$ conidios por adulto de broca (González, 1994) (figura 6.6b). En campo, esto equivaldría a una aplicación de $4,4 \times 10^{10}$ conidios/ha, lo que indicaría que en cada árbol en una hectárea (representada por 5.000 árboles de café) en promedio se encuentra una broca atacada y esporulada con el hongo.

Estos resultados fueron muy importantes, ya que motivaron la necesidad de seleccionar aislamientos que produjeran un alto número de conidios en el campo, para lograr que las infecciones secundarias permitieran mantener el inóculo infectivo en los cafetales.

Se investigaron dos sistemas de producción de *B. bassiana*. A nivel industrial (Morales, Cruz, Ocampo, Rivera, & Morales, 1991), la producción del hongo partió de cultivos puros, que sirvieron como inóculo para la obtención de blastosporas en fermentación líquida, las cuales se formularon como polvo.

A nivel artesanal, y con el fin de llevar este insumo biológico de forma oportuna al productor cafetero, Cenicafé desarrolló una metodología para que los caficultores pudieran producir el hongo en su finca (Antía, Posada, Bustillo, & González, 1992), mediante su cultivo en botellas con arroz y agua (Posada, & Bustillo, 1994).

Durante tres años, Cenicafé y el Servicio de Extensión de la Federación Nacional de Cafeteros de Colombia capacitaron aproximadamente a 20.000 agricultores en la producción del hongo, y en la actualidad muchos de ellos lo hacen a través de las cooperativas cafeteras. Además, el hongo denominado Cepa Cenicafé, con registro del Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), se distribuyó de manera gratuita para el manejo de la plaga.

Con base en registros de Cenicafé, durante 1992 se utilizaron cinco toneladas de hongo, a una concentración de 1×10^8 conidios/g, con fines experimentales. En el año 1993, la producción de *B. bassiana* fue de 60 t, en 1994 se estimó en 100 t, y se incrementó de manera considerable en 1995 y 1996, hasta alcanzar cantidades de 200 y 300 t, respectivamente (Bustillo, 1995; Posada, 1993).

Una parte importante de la implementación del programa de control de *H. hampei* con *B. bassiana* fue el desarrollo de protocolos para el control de calidad de las formulaciones del hongo (Vélez et al., 1997), lo cual condujo a que el ICA reglamentara la producción de entomopatógenos en el país y, posteriormente, a que el Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (Icontec) estableciera normas técnicas nacionales sobre la producción, uso y control de calidad en los laboratorios comerciales que se dedican a esta actividad.

Varias formulaciones de *B. bassiana* se evaluaron en condiciones de campo, y en todos los casos el hongo se estableció en las poblaciones del insecto. No obstante, este entomopatógeno solo es efectivo cuando el insecto se infecta al tratar de penetrar la cereza, pero, una vez que el insecto está en el interior, la posibilidad de infección se reduce de forma significativa. El efecto del hongo se aprecia notoriamente cuando ocurren epizootias (figura 6.6c).

Los resultados de los experimentos de campo para el control de la broca con *B. bassiana*, realizados tanto en Colombia como en otros países (Barrios, & Mejía, 1996; Lacayo, Barrios, Jiménez, & Sandino, 1994; Sponagel, 1994), pueden ser muy variables, tal vez debido a diversos factores.

Entre ellos se encuentran la calidad del bioinsecticida que se haya utilizado, la calibración de los equipos

y de los operarios, la topografía de las fincas, la dinámica de la plaga y el momento de las aspersiones. Además de estos, la humedad y la radiación solar son definitivos, ya que esta última reduce la viabilidad de los conidios de *B. bassiana* en el campo a medida que se incrementa el tiempo de la exposición solar (Vélez, & Montoya, 1993).

Los estudios con hongos entomopatógenos para el control de *H. hampei* han sido muy fructíferos. Durante los primeros cinco años que siguieron a la detección de la broca en las zonas cafeteras, se logró aplicar el hongo en los sitios donde se manifestó el brote inicial. *B. bassiana* se convirtió en agente de control natural, y en 1995 se llegó a estimar que, en promedio, el 45 % de la población de broca fue infectada por este hongo (Bustillo, 1995).

Los resultados de este programa lograron que se despertara el interés por realizar trabajos similares en otros cultivos y con otros hongos, aprovechando los conocimientos y las experiencias derivadas de estas investigaciones, así como los obtenidos por la industria privada.

Lecanicillium lecanii en el control de las moscas blancas *Bemisia tabaci y Trialeurodes vaporariorum* en Colombia

De las más de 1.100 especies de moscas blancas (Hemiptera: Aleyrodidae) identificadas en el mundo, en el caso del trópico solo un número limitado se consideran causantes de daño económico. Entre ellas se destacan *T. vaporariorum* (Westwood, 1856) y *B. tabaci* (Gennadius, 1889), por su importancia en diversos cultivos de hortalizas (Anderson, & Morales, 2005).

El daño se relaciona principalmente con la extracción de savia y la excreción de sustancias azucaradas, que favorecen el crecimiento del hongo *Capnodium* sp., el cual afecta la fotosíntesis y demerita la calidad del producto (Rodríguez, Bueno, Cardona, & Morales, 2012). Además, *B. tabaci* es vector de *Begomovirus* (Geminiviridae: Begomovirus), que puede llegar a causar pérdidas totales en cultivos de hortalizas (Anderson, & Morales, 2005).

De acuerdo con Perring (citado por Rodríguez et al., 2012), el biotipo B de *B. tabaci* tiene un mayor espectro de hospedantes y una densidad de población más alta, ocasiona la inducción de desórdenes fisiológicos, como la maduración desigual de frutos de tomate y el plateado de las hojas en cucurbitáceas, y cuenta con una mejor capacidad para adquirir resistencia a insecticidas con variados modos de acción, como los reportados por la Arthropod Pesticide Resistance Database (APRD) (2009, citada por Rodríguez et al., 2012).

De igual forma, causa elevados niveles de resistencia a los insecticidas convencionales organofosforados, carbamatos y piretroides mencionados por Cardona et al. (2001), muchos de los cuales constituyen la alternativa más utilizada por los agricultores y en ocasiones la única, lo que conlleva riesgos ambientales y de salud humana.

Selección de cepas de hongos entomopatógenos con potencial para el control de moscas blancas *B. tabaci* y *T. vaporariorum*, y desarrollo de una formulación a base de un agente microbiano

Hacia finales de la década de los noventa, tras los resultados del estudio de López y García (2000), en el que se encontró una mayor incidencia de mosca blanca en los departamentos de Tolima, Huila, Santander y Córdoba, y el reporte efectuado por Quintero (citado por Rodríguez et al., 2012), en el que confirmó la presencia del biotipo B de *B. tabaci* en Colombia, la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica) inició una investigación con el fin de disminuir la incidencia de la plaga y el uso de productos contaminantes utilizados para su control.

Se seleccionaron dos aislamientos nativos de *L. lecanii*, provenientes de cultivos de fríjol y habichuela del Sumapaz, pues presentaron los mayores niveles de infección, superiores al 80 %, y fueron codificados como C17 y C26 (este último fue posteriormente codificado como Vl026) (García, & López-Ávila, 2006).

Con el fin de buscar un mayor rango de potenciales biocontroladores, Espinel, Torres, González y Cotes (2006) evaluaron 15 aislamientos nativos, colectados en diferentes zonas agroecológicas del país, y pertenecientes a los géneros *Beauveria* e *Isaria*, así como ocho de *L. lecanii* (Vl026), *B. bassiana*, *M. anisopliae* y *M. rileyi*, conservados en el banco de germoplasma.

A los seleccionados en un primer ensayo se les determinó la concentración letal media, y se encontraron sus respectivos valores: Vl026 de *L. lecanii* ($5{,}0 \times 10^6$ conidios/ml^{-1}), Bv056 de *B. bassiana* ($3{,}5 \times 10^6$ conidios/ml^{-1}) y Pc007 de *I. fumosorosea* ($2{,}4 \times 10^5$ conidios/ml^{-1}).

Luego de un análisis de las características biológicas y tecnológicas del aislamiento Vl026, Corpoica decidió desarrollar un bioplaguicida formulado como granulado dispersable (WG) con protectores solares y de secado, adherentes y diluentes (Santos, Uribe, Zuluaga, & Villamizar, 2012) (figuras 6.7a y b).

Con el fin de evaluar la estabilidad del producto formulado en relación con la actividad biocontroladora en condiciones de laboratorio, se llevó a cabo un ensayo de almacenamiento durante tres y seis meses, a tres temperaturas (8 °C, 18 °C y 28 °C). Se encontró que la eficacia del bioplaguicida se mantuvo por encima del 80 % hasta por seis meses de almacenamiento a 8 °C, mientras que a 18 °C esta disminuyó. Así mismo, cuando el bioplaguicida se mantuvo a 28 °C durante tres meses, su eficacia se redujo (Corpoica, 2011).

Fotos: Carlos Espinel Correal

Figura 6.7. Bioplaguicida Lecabiol® para el manejo de poblaciones de *B. tabaci* y *T. vaporariorum*. a. Ninfa de *B. tabaci* infectada con *L. lecanii*. b. Ninfa de *T. vaporariorum* infectada con *L. lecanii*, principio activo de Lecabiol®; c. Aplicación de Lecabiol® para el control de *B. tabaci* en soya.

Evaluación del bioplaguicida a base de *L. lecanii* en condiciones de campo

El mayor reto del bioplaguicida fue someter su efectividad en diferentes condiciones de sistemas de cultivos y ante las dos principales plagas de moscas blancas en Colombia. Por esta razón, con el propósito de evaluar técnicas de aplicación del producto formulado a base de *L. lecanii* para el control de *T. vaporariorum* en cultivos de habichuela en Arbeláez (Cundinamarca), se establecieron ensayos en los que se determinaron el sistema de aplicación, el porcentaje de infección de ninfas y el rendimiento del cultivo (Jiménez, García, Villamizar, & Cotes, 2006).

La mejor calidad de aplicación del producto se presentó cuando se obtuvo una cobertura de 70 gotas/cm^{-2} en el envés de las hojas, con la utilización de aspersores de espalda de presión constante. El mayor porcentaje de infección de ninfas (78 %) se obtuvo en los tratamientos con la formulación a base de *L. lecanii*, en contraste con el manejo convencional y el testigo absoluto, en los que hubo una infección en ninfas por debajo del 5 %. En relación con la producción, el mayor rendimiento, de 11,6 t/ha^{-1}, se obtuvo en la parcela en la que se aplicó el bioproducto, frente a 7,0 t/ha^{-1} con el tratamiento convencional, y 5,1 t/ha^{-1} en el testigo absoluto (Jiménez et al., 2006).

El producto formulado fue evaluado para el control de *T. vaporariorum* en cultivos de tomate en invernadero en el municipio de Pasca (Cundinamarca) (Garzón, Villamizar, Cotes, García, & López-Ávila, 2006). Los tratamientos consistieron en: 1) manejo convencional; 2) aplicación del bioplaguicida a base de *L. lecanii* e insecticida químico (Acetamiprid), según los niveles de población de ninfas; 3) aplicación cada 15 días, a partir de la aparición de huevos y adultos, y 4) tratamiento con manejo integrado de plagas (MIP), con la incorporación del bioproducto.

El mayor porcentaje de infección de ninfas se presentó en el tratamiento con frecuencia quincenal de aplicación después de la aparición de adultos y huevos (68,1 %); seguido del obtenido con la aplicación del bioplaguicida y el insecticida químico (36,6 %); el MIP (25 %), y el tratamiento convencional (1,3 %).

Estos resultados concuerdan con la producción obtenida al final del ciclo, en los que la más importante se logró en el tratamiento con aplicación quincenal de *L. lecanii* (68,01 t/ha^{-1}), seguida de la que consistió en el bioplaguicida y el insecticida químico (67,84 t/ha^{-1}), el MIP (67,26 t/ha^{-1}) y, por último, el tratamiento convencional (64,43 t/ha^{-1}) (Garzón et al., 2006).

Con el propósito de evaluar la eficacia del bioplaguicida a base de *L. lecanii* sobre *B. tabaci* en cultivos de melón, se estableció un ensayo en el municipio de El Espinal (Tolima), para el que se contó con una parcela denominada MIP, en la que se incorporaron aplicaciones del bioproducto, y otra con el manejo convencional del agricultor.

En la parcela MIP, la producción fue de 29,4 t/ha^{-1}, con un índice beneficio/costo de 1,9, frente al tratamiento convencional, cuya producción fue de 25 t/ha^{-1}, con un índice de beneficio/costo de 1,6 (Espinel, Lozano, Cotes, & López-Ávila, 2006).

La afectación de *B. tabaci* en el algodón se debe principalmente a la acumulación de sustancias azucaradas (miel de rocío) secretadas por el insecto sobre las diferentes estructuras de la planta. Lo anterior favorece el crecimiento del hongo *Capnodium*, causante de la fumagina, que deteriora la calidad de la fibra, por lo que causa pegajosidad y acarrea pérdidas cuantiosas para los productores, a causa del rechazo inmediato de estas fibras por parte de la industria (desmotadoras) (Rivera, & Zuluaga, 2012).

Por tal razón, se establecieron ensayos en cultivos de algodón en Cereté (Córdoba) y en El Espinal (Tolima), así como en cultivos de berenjena en Cereté, dado su potencial para exportación y por constituir una alternativa para aliviar la saturación de mercados con otros productos (Espinel, Zuluaga, Jiménez, & Gómez, 2012).

Con el fin de determinar la frecuencia de aplicación de la formulación a base de *L. lecanii* en los cultivos en mención, se establecieron ensayos con medidas repetidas en el tiempo, cuyos tratamientos consistieron en la aplicación semanal del producto en la dosis recomendada (500 g/ha) y en aplicaciones tras el registro de un 40 % de infestación en la población de adultos y ninfas de mosca blanca (Corpoica, 2011).

Como resultado, se encontró que, en términos generales, en los seis ensayos establecidos en cultivos de algodón en el interior del país y en la costa atlántica,

Tabla 6.2. Frecuencias de aplicación de *L. lecanii* en cultivos de algodón y berenjena en la costa Caribe y en el interior de Colombia

Cultivo	Región	Repetición en el tiempo	Variables	*L. lecanii* semanal	*L. lecanii* con nivel de *B. tabaci*
Algodón	Costa atlántica	I	N.º de aplicaciones	11	5
			Producción t/ha	2,30	1,70
			Beneficio/costo	2,2	1,8
		II	N.º de aplicaciones	9	4
			Producción t/ha	4,20	4,30
			Beneficio/costo	3,0	3,6
	Interior del país	I	N.º de aplicaciones	14	0
			Producción t/ha	2,90	3,40
			Beneficio/costo	1,7	2,2
		II	N.º de aplicaciones	8	0
			Producción t/ha	3,05	4,04
			Beneficio/costo	1,4	2,3
Berenjena	Costa atlántica	I	N.º de aplicaciones	15	6
			Producción t/ha	48,80	51,80
			Beneficio/costo	1,6	1,9
		II	N.º de aplicaciones	13	6
			Producción t/ha	41,70	47,70
			Beneficio/costo	1,8	2,1

Fuente: Espinel et al. (2012)

así como en los de berenjena, tanto la producción como el índice beneficio/costo fueron superiores en las parcelas en las que se aplicó el producto a base de *L. lecanii* tras el registro del nivel de moscas blancas, a excepción del ciclo I de algodón en la costa atlántica (tabla 6.2) (Corpoica, 2011).

Con la frecuencia de aplicación seleccionada para *L. lecanii* en parcelas semicomerciales de berenjena en Córdoba y de algodón en Tolima y Córdoba, se realizó un ensayo en el que se estableció una parcela de manejo integrado del cultivo (MIC) con la incorporación del bioplaguicida, y otra con manejo convencional.

En las evaluaciones de la población de mosca blanca se observaron niveles significativamente mayores de insectos en las parcelas con manejo convencional a los de las MIC. Se podría atribuir este efecto al bioproducto y a la implementación de buenas prácticas agrícolas en el cultivo, que, además de presentar una mayor producción y un índice beneficio/costo superior (tabla 6.3), tuvo una disminución de los daños directos e indirectos ocasionados por la acción del insecto.

Tabla 6.3. Evaluación de parcelas MIC y convencionales en cultivos de algodón y berenjena en la costa Caribe y en el interior del país

Cultivo	Región	Repetición en el tiempo	Variables	MIC	Convencional
Algodón	Costa atlántica	I	Producción t/ha	2,52	2,50
			Beneficio/costo	3,50	2,90
	Interior del país	I	Producción t/ha	1,50	1,70
			Beneficio/costo	1,40	1,30
		II	Producción t/ha	1,92	1,89
			Beneficio/costo	1,86	1,72
Berenjena	Costa atlántica	I	Producción t/ha	19,50	12,10
			Beneficio/costo	2,70	2,10
		II	Producción t/ha	19,90	21,20
			Beneficio/costo	3,20	3,5

Fuente: Espinel et al. (2012)

Esta reducción se evidenció, en el algodón con tratamiento MIC, en la presencia ligera-baja de fumagina —en contraste con el manejo convencional, en la que fue fuerte-baja—, una mayor resistencia de fibra (30 libras de resistencia/pulgada^2) —frente a 26— y una coloración deseable de la fibra, aspectos que determinan su calidad (Corpoica, 2011).

Registro del bioproducto Lecabiol, agente microbiano a base de *L. lecanii*

Con base en los resultados obtenidos en las evaluaciones del bioproducto a base de *L. lecanii* para el control de moscas blancas, así como su efecto inocuo para el medioambiente (aire, agua, fauna benéfica y mamíferos, entre otros), en enero de 2014 se inició el proceso para acceder al registro del bioproducto para uso agrícola como agente microbiano ante el ICA, y con ese fin se dio cumplimiento a lo dispuesto en la Resolución ICA 00698 del 4 de febrero de 2011.

El 26 de abril de 2016 se obtuvo el Registro del ICA 00004565 del bioinsumo Lecabiol®, para el control de la mosca blanca *B. tabaci* en el cultivo de algodón, el cual se encuentra a disposición del sector productivo (Corpoica, 2016), y recientemente se realizaron las pruebas de eficacia con el fin de ampliar el registro para los cultivos de soya (figura 6.7c), tomate, pimentón, berenjena, uchuva, tomate de árbol y ají. Se obtuvo el registro para estos cultivos bajo la Resolución del ICA 00017959 del 21 de diciembre de 2017.

Metarhizium anisopliae para el control de la langosta llanera, *Rhammatocerus schistocercoides*, en Colombia

Durante 1994 y 1995, en los llanos orientales de Colombia se registró un incremento alarmante de la población de un acrídido identificado como *R. schistocercoides* (Rehn, 1906), el cual también está presente en el estado de Apure (Venezuela) y la región de Mato Grosso (Brasil).

El insecto invadió principalmente los departamentos del Meta, Vichada, Casanare y Arauca, llegó hasta el piedemonte y causó daños considerables a pastos nativos (*Trachypogon vestitus*, *Trachypogon plumosus*, *Paspalum* spp., *Axonopus* spp. y *Androgopon* spp.) en las praderas de pastos mejorados dedicados a la ganadería (*Brachiaria* spp.), y a algunos cultivos de importancia económica, como el arroz (Ebratt, Espinel, Gómez et al., 2000).

Debido a la poca o escasa información sobre este insecto en el país, como primera medida se adelantaron estudios sobre su biología, comportamiento y distribución (Ebratt, Espinel, Gómez et al., 2000; Ebratt, Espinel, & Cotes, 1998, 2000). Teniendo en cuenta el riesgo real y potencial para la agricultura de los llanos orientales, en paralelo con el estudio biológico del insecto, Corpoica comenzó el desarrollo de un bioplaguicida a base de aislamientos nativos de *Metarhizium* spp.

La experiencia mundial en el control de acrídidos con este hongo es muy alta. Se han aislado más de 20 cepas de *Metarhizium flavoviridae* y de *M. anisopliae* var. *acridum*, y han sido evaluadas usando técnicas de aspersión de ultrabajo volumen (ULV) en varios continentes (Bateman et al., 1994; Moore, Reed, Le Patourel, Abraham, & Prior, 1992; Prior, 1995). En Brasil, se hicieron pruebas de *M. flavoviridae* contra *R. schistocercoides* en campo, y se logró un 54 % de mortalidad a los 21 días (Magalhães, Faria, & Guerra, 1996).

Como primer aspecto para el desarrollo del bioplaguicida, en Corpoica se seleccionaron dos aislamientos de *M. anisopliae*, por su alta actividad biocontroladora en laboratorio (100 %) y su alta virulencia, con una dosis letal de 5 y 7 conidios por insecto (Espinel, Ebratt, & Cotes, 1998).

Mientras tanto, se fue avanzando en el desarrollo tecnológico del bioplaguicida, teniendo en cuenta factores como la producción masiva, la preformulación de prototipos y la formulación de los conidios de los aislamientos con diversos excipientes, entre ellos, filtros solares para proteger al biocontrolador de los efectos nocivos de la radiación ultravioleta del sol (Ebratt, Espinel, Gómez et al., 2000; Gómez, Villamizar, & Cotes, 1997).

Los aislamientos seleccionados y formulados se evaluaron en condiciones semicontroladas de campo en la Orinoquia colombiana, sobre ninfas y estados ninfales iniciales de la langosta (tercer a quinto instar), y se tomaron como control los conidios sin formular. Los tratamientos se aplicaron con una bomba ULV en el interior de jaulas de muselina instaladas en campo abierto, donde se encontraban recluidos los insectos en estado adulto.

El mejor resultado se dio con el aislamiento formulado, el cual obtuvo un 68 % de eficacia, en contraste con el mismo aislamiento sin formular, que tan solo consiguió el 28 %. La mortalidad obtenida con la formulación fue alta, teniendo en cuenta las condiciones ambientales en las que se realizó la prueba, pues se hizo en verano (35 °C y 56 % de humedad relativa en promedio).

Por consiguiente, la formulación favoreció la protección de los conidios ante factores ambientales adversos. Al ser aplicada sobre estados ninfales, la eficacia fue superior y obtuvo un 81,5 % con los conidios formulados (Ebratt, Espinel, Gómez et al., 2000; Espinel et al., 1998).

Una vez establecidos los niveles de control en las condiciones semicontroladas de campo, se llevó a cabo la evaluación en campo abierto sobre enjambres de langostas y, aprovechando el conocimiento adquirido sobre su biología y comportamiento, se estableció que el blanco donde se aplicaría sería un enjambre de ninfas en sus primeros estadios.

Para tal fin se utilizaron dos tipos de equipos de aplicación, una bomba ULV y una convencional de espalda, así como dos formas de atacar el enjambre, una, perturbándolo en aplicación en "Z", y otra, sin perturbarlo, aplicando el bioplaguicida paralelo al enjambre y aprovechando la deriva del viento. El mejor resultado se dio con equipo ULV sin perturbar el enjambre, con el 63,2 % de eficacia, mientras que, con el otro método, fue de 51 % (Ebratt, Espinel, Gomez et al., 2000).

Durante los cinco años del proyecto, se estudiaron muchos otros aspectos, como el impacto del bioplaguicida en organismos que no eran blanco (depredadores y parasitoides) y en la entomofauna propia de la región, en los inductores de virulencia del hongo, y muchos más aspectos tecnológicos del bioproducto.

En términos generales, fue un gran aprendizaje para el laboratorio, y aunque en la actualidad este insecto no está causando un riesgo marcado, su comportamiento gregario e invasivo podría ocasionar de nuevo un fenómeno de infestación, como el ocurrido entre 1994 y 1998, afectando en mayor proporción los cultivos de la altillanura, teniendo en cuenta que hoy en día hay allí grandes extensiones de diferentes cultivos que no estaban presentes anteriormente y que podrían ser fuente de alimentación de esta voraz plaga.

Producción comercial de bioplaguicidas para el control de insectos plaga en Colombia

Colombia tiene una larga tradición en el uso del control microbiano de plagas, si se tiene en cuenta que en los años setenta se utilizó un baculovirus importado de Estados Unidos para controlar *Trichoplusia ni* (Hübner) y *Heliothis* spp. (Lepidoptera: Noctuidae) en cultivos de algodón (Moscardi, 1999). Posteriormente, el Centro Nacional de Investigación del Café (Cenicafé) promovió la producción de *Beauveria bassiana* (Bals.).

Esto favoreció de manera significativa el trabajo en torno al control microbiano y alentó a muchas empresas e institutos de investigación a dedicar esfuerzos para el desarrollo de bioplaguicidas (Cadena, 2005), como en el caso de Corpoica, que en 1994 inició investigaciones y desarrollos que iban desde la búsqueda de microorganismos de biocontrol eficaces hasta la evaluación en campo de productos formulados, acompañada de demostraciones de campo o de invernadero.

Estas tecnologías desarrolladas localmente han hecho que Colombia se destaque en Sudamérica por sus capacidades de desarrollo, producción y comercialización de bioplaguicidas. En la actualidad hay 47 empresas (registradas y no registradas) que venden entomopatógenos para múltiples aplicaciones. Los hongos individuales, y en mezcla con otros microorganismos, son los más producidos, en contraste con bacterias y baculovirus (ICA, 2016, 2017).

Sin embargo, *B. bassiana* y *B. brongniartii* son las especies más producidas por la mayoría de las empresas. Otros hongos ampliamente producidos, aunque en la mayoría de los casos sin registro de venta, son *I. fumosorosea, Purpureocillium lilacinum, L. lecanii* y *M. anisopliae*. El grupo que menos se produce y que, al igual que en el caso anterior, casi nunca cuenta con registro, está representado por *M. (Nomuraea) rileyi, Entomophthora virulenta, Hirsutella thompsonii* y *Akanthomyces* sp. (tabla 6.4).

Tabla 6.4. Bioplaguicidas producidos en Colombia para el control de insectos

Hongo biocontrolador	Plaga, según el producto	Compañía y departamento
Beauveria bassiana (Bals.-Criv.) Vuill.	Áfidos, broca del café, escarabajos comedores de hojas, hormigas cortadoras, ácaros, trips, coleópteros polífagos, moscas blancas, chinches, insectos escama y lepidópteros	Registrados: Bio-Crop S. A. S. (Val), Bioecológicos Ltda. (Cun), Bioprotección S. A. S. (Cal), Core Biotechnology S. A. S. (Val), Inproarroz S. A. (Cas), Laverlam S. A. (Val), Mycros International S. A. S. (Cun), Soluciones Microbianas del Trópico Ltda. (Cal) No registrados: 21

(Continúa)

(Continuación tabla 6.4)

Hongo biocontrolador	Plaga, según el producto	Compañía y departamento
Beauveria bassiana (Bals.-Criv.) Vuill. + *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) Sorokin + *Purpureocillium lilacinum* (Thom) (vendido como *Paecilomyces lilacinus*)	Broca del café y hemípteros	Registrado: Orius Biotecnología Ltda. (Met)
Beauveria bassiana (Bals.-Criv.) Vuill. + *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) Sorokin + *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*	Broca del café y moscas de la fruta	Registrado: Safer Agrobiológicos s. a. s. (Ant)
Beauveria bassiana (Bals.-Criv.) Vuill. + *Bacillus thuringiensis*	*Copitarsia* sp.	Registrado: Natural Control Ltda. (Ant)
Beauveria brongniartii (Saccardo) Petch	Larvas de escarabajos, insectos escama y moscas blancas	Registrado: Sanitex s. a. s. No registrados: 2
Entomophthora virulenta I. M. Hall & P. H. Dunn	Ácidos, ácaros, trips y moscas blancas	No registrados: Agroproductiva s. a. (Val), Bionova Ltda. (Val), Laverlam s. a. (Val)
Hirsutella thompsonii Fisher + *Akanthomyces* sp.	Varias especies de ácaros	No registrado: 1
Isaria fumosorosea Wize (también referenciado como *Paecilomyces fumosoroseus*)	Ácaros, minadores de hojas, trips y moscas blancas	Registrados: Bio-Crop s. a. s. (Val), Mycros International s. a. s. (Cun) No registrados: 9
Lecanicillium lecanii R. Zare & W. Gams	Ácidos, insectos escama, trips y moscas blancas	Registrados: Corpoica (Cun), Natural Control s. a. (Ant) No registrados: 12
Metarhizium anisopliae (Metchnikoff) Sorokin	Larvas de escarabajos, hormigas cortadoras de hojas, larvas de mosquitos, gorgojos y cercópidos	Registrados: Bioprotección s. a. s. (Cal), Inproarroz s. a. (Met), Live Systems Technology s. a. (Cun), Sanitex s. a. s. (Cas), Soluciones Microbianas del Trópico Ltda. (Cal) No registrados: 19
Metarhizium anisopliae (Metchnikoff) Sorokin + *Paenibacillus popilliae* (Dutky) (también referenciado como *Bacillus popilliae*)	Gusanos blancos	Registrados: Natural Control s. a. (Ant)
Metarhizium sp.	Larvas de escarabajos, hormigas cortadoras de hojas, larvas de mosquitos, gorgojos y cercópidos	No registrados: 2

(Continúa)

(Continuación tabla 6.4)

Hongo biocontrolador	Plaga, según el producto	Compañía y departamento
Metarhizium rileyi (Farlow) Kepler S. A. Rehner & Humber (también referenciado como *Nomuraea rileyi* [Farl.] Samson)	Orugas	No registrados: 2
Purpureocillium lilacinum (Thom) Luangsa-ard, Houbraken, Hywel-Jones & Samson (incluye productos vendidos como *Paecilomyces lilacinus*)	Escarabajos y perlas de tierra	Registrados: Bio-Crop S. A. S. (Val), Core Biotechnology S. A. S. (Val), Innovak Colombia Ltda. (Cun), Live Systems Technology S. A. (Cun), Mycros International S. A. S. (Cun), Natural Control S. A. (Ant), Soluciones Microbianas del Trópico Ltda. (Cal)
		No registrados: 21

Ant: Antioquia; Boy: Boyacá; Cal: Caldas; Cas: Casanare; Cau: Cauca; Cun: Cundinamarca; Mag: Magdalena; Met: Meta; Tol: Tolima; Val: Valle del Cauca.

Fuente: Basado en ICA (2016, 2017)

Cabe señalar que estas cifras excluyen tanto a los laboratorios privados pertenecientes a las empresas que producen biocontroladores para su propio uso como a las empresas creadas recientemente.

Limitaciones para la producción y el uso de hongos entomopatógenos

Limitaciones de producción

La estructura fúngica que por lo general se utiliza como ingrediente activo de los bioplaguicidas a base de hongos entomopatógenos es el conidio. Estos propágulos asexuales son de naturaleza aérea y, por lo tanto, su principal y más eficiente sistema de producción masiva es la fermentación en estado sólido (SSF) o fermentaciones bifásicas, en las que se cultiva el hongo en un medio líquido, para producir un inóculo abundante y metabólicamente activo; más adelante, este cultivo se inocula en el sustrato sólido, para promover la conidiación (Jaronski, & Jackson, 2012).

El rendimiento de la fermentación en estado sólido depende de diversos factores bióticos y abióticos, como la composición del sustrato, el pH, la actividad del agua (Aw), la humedad, la aireación, la temperatura y la luz, entre otros, los cuales también determinan características de los conidios obtenidos, como germinación, virulencia y tolerancia a condiciones ambientales, a la radiación ultravioleta y al envejecimiento en almacenamiento (Jackson, Dunlap, & Jaronski, 2010; Lacey et al., 2015; Santos, De Brito-Brandão, & Rivero, 2017).

Una de las principales limitaciones para la producción de conidios utilizando este tipo de fermentación es el sustrato, ya que la mayoría de ellos son productos o residuos agrícolas, como el arroz, la cebada, el trigo, la lenteja, el fríjol y la caña de azúcar, entre otros (Jaronski, & Jackson, 2012; Pandey, 1992; Prabhakar, Krishnaiah, Janaun, & Bono, 2005), cuya composición nutricional es imposible de controlar entre los diversos lotes de producción.

Asimismo, como la principal fuente de carbono de estos sustratos naturales es el almidón, que hace parte de la estructura, cuando el microrganismo crece, el medio sólido se degrada y cambian las características físicas del soporte. En la mayoría de los casos estos cambios reducen la capacidad de transferir calor y masa (Barrios, & Mejía, 1996; Manpreet, Sawraj, Sachin, Pankaj, & Banerjee, 2005).

También es importante considerar que estos materiales tienen un alto valor como fuente alimenticia, por lo que su uso para producción de hongos compite con su aprovechamiento como fuente de alimentación humana o animal. En la actualidad, las investigaciones se han encaminado al uso de soportes inertes en el medio de cultivo, que contienen los nutrientes disueltos en una solución líquida. Además, el uso de estos soportes permite un mejor control del proceso, así como mayores reproducibilidad y facilidad para el modelamiento que las que se logran con los soportes naturales (Cruz, 2014).

Otro problema de la fermentación en estado sólido es su escalamiento a nivel industrial, debido a la necesidad de manejar grandes volúmenes de sustrato para la producción y de residuos después de la recuperación de los conidios. De igual forma, se presentan problemas para controlar el proceso, relacionados con el control de la temperatura y la humedad (gradientes), debido a la actividad metabólica del microorganismo (Mitchell, Von Meien, & Krieger, 2003), así como en la transferencia de oxígeno (Bellon-Maurel, Orliaca, & Christen, 2003; Cruz, 2014; Dos Santos, Da Rosa, Dal'Boit, Mitchell, & Krieger, 2004).

Además, los procesos de fermentación sólida requieren tiempos prolongados, que pueden oscilar entre 7 y 14 días, para lograr una adecuada colonización del sustrato y su posterior esporulación (Cruz, 2014; Jaronski & Jackson, 2012; Santos et al., 2017). Así mismo, en la recuperación de los conidios se presentan dificultades para manipular el sustrato esporulado, evitar las emisiones de polvos (conidios), y minimizar las pérdidas en los procesos de separación, ya sea de modo seco o húmedo.

Con miras a superar estas limitaciones, se han enfocado diferentes esfuerzos en el desarrollo de medios de cultivo y condiciones para la producción de conidios en cultivo sumergido o fermentación líquida (Leland, Mullins, Vaughan, & Warren, 2005; Vega, Jackson, Mercadier, & Poprawski, 2003; Zhang, & Xia, 2008), o para la producción y utilización de estructuras fúngicas alternativas que tal vez se puedan producir más fácilmente en cultivo sumergido, como las blastosporas o los microesclerocios (Lacey et al., 2015), que se describen en detalle en el capítulo 21 de este libro, titulado "Nuevas estrategias en el control biológico de insectos".

Limitaciones ambientales

Los factores que más influyen en el desarrollo y la patogenicidad de los hongos entomopatógenos, así como en el desarrollo de la enfermedad a nivel epizoótico, son la temperatura, la humedad relativa y la radiación ultravioleta.

Temperatura

La fluctuación de la temperatura ambiental es una de las principales limitaciones para el establecimiento de los hongos entomopatógenos en condiciones de campo, debido a que puede afectar negativamente su viabilidad y eficacia (De Crecy, Jaronski, Lyons, Lyons, & Keyhani, 2009).

Por lo general, la temperatura adecuada para la germinación y el crecimiento de la mayoría de los hongos entomopatógenos está entre 20 °C y 28 °C, con un óptimo de 25 °C, y depende en muchos casos de la procedencia del aislamiento, por lo que aquellos que tienen un origen tropical crecen mejor a temperaturas más altas (cercanas a los 30 °C), en comparación con algunos aislamientos de plagas del suelo, que pueden crecer mejor a temperaturas inferiores a los 10 °C (Fargues, Maniania, Delmas, & Smits, 1992).

Sin embargo, la temperatura óptima para el crecimiento no es necesariamente la adecuada para la germinación de los conidios y el desarrollo de la enfermedad en los insectos (Ortiz-Catón et al., 2011), ya que durante la infección se combinan los efectos de la temperatura en el crecimiento del patógeno y en el desarrollo del insecto.

Por ejemplo, cuando las temperaturas son elevadas, se reduce el tiempo entre mudas o duración de los estadios larvales, lo que puede evitar la penetración del tegumento (Ferron, 1978). Pero, cuando son bajas, también se puede afectar el desarrollo de la infección, ya que los conidios requieren más tiempo para germinar e iniciar el proceso de penetración de la cutícula (Ortiz-Catón et al., 2011), lo que los deja expuestos por más tiempo a las condiciones ambientales adversas, que pueden causar su muerte antes de que se inicie la infección del hospedero.

Además de la penetración, las velocidades de invasión del cuerpo del insecto, de muerte y de esporulación del cadáver también se ven directamente afectadas por la temperatura, mientras esta no llegue a valores extremos que causen la muerte del hongo.

La temperatura también es un factor crítico durante el almacenamiento y la comercialización de bioplaguicidas formulados a base de hongos, pues determina su vida útil. La estabilidad en el almacenamiento depende de una combinación de factores, como la especie fúngica, las características propias de la cepa, la formulación y el empaque, pero la temperatura y sus fluctuaciones son determinantes en la calidad del producto, como se evidencia en la tabla 6.5, donde se presentan algunos ejemplos de productos comerciales y las recomendaciones para almacenarlos.

Tabla 6.5. Vida útil y recomendaciones de almacenamiento de algunos bioplaguicidas comerciales a base de hongos entomopatógenos

Empresa	País / región	Nombre / formulación	Microorganismo	Vida útil / temperatura	Referencia
BioWorks Inc.	EE. UU.	Mycotrol WPO	*Beauveria bassiana* GHA	12 meses / ambiente	BioWorks Inc. (2017)
BioWorks Inc.	EE. UU.	Botanigard 22WP	*Beauveria bassiana* GHA	12 meses / ambiente	BioWorks Inc. (2017)
BioWorks Inc.	EE. UU.	BotaniGard ES	*Beauveria bassiana* GHA	8 meses / ambiente	BioWorks Inc. (2017)
Certis	EE. UU.	PFR-97	*Isaria fumosorosea* Apopka strain 97	12 meses / refrigeración	Certis U. S. A. (2015)
BASF	Senegal	Green Muscle EC	*Metarhizium anisopliae*	3 años / refrigeración 2 años / 10 a 20 °C 1 año / 30 °C 1 mes / 40 °C	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) (2002)
Koppert	Brasil	Metarril WP	*Metarhizium anisopliae*	30 días / 24 a 26 °C 180 días / 0 a 4 °C 12 meses / -4 °C	Koppert do Brasil Holding (2017b)

(Continúa)

(Continuación tabla 6.5)

Empresa	País / región	Nombre / formulación	Microorganismo	Vida útil / temperatura	Referencia
Koppert	Europa	Mycotal WG	*Lecanicillium muscarium*	6 meses / 4 a 8 °C	Koppert Biological Systems (2014, 2017)
Koppert	Brasil	Boveril WP®	*Beauveria bassiana*	30 días / 24 a 26 °C 180 días / 0 a 4 °C 12 meses / -4 °C	Koppert do Brasil Holding (2017a)

Fuente: Elaboración propia

Claramente se observa que la vida útil disminuye a medida que aumenta la temperatura de almacenamiento, lo que ha sido demostrado para diferentes especies fúngicas (Alves, Bateman, Gunn, Prior, & Leather, 2002; Hedgecock, Moore, Higgins, & Prior, 1995; Kim, Je, Woo, & Park, 2011; Mariño, Villamizar, Espinel, & Cotes, 2004; Zárate, Cotes, & Villamizar, 2010).

Es probable que este comportamiento se deba a que el metabolismo del microorganismo se encuentra más activo a temperaturas elevadas, lo que causa consumo de nutrientes y oxígeno, así como producción y almacenamiento de metabolitos tóxicos, que afectan la viabilidad de los microorganismos, y pueden llegar a causar su muerte.

Por el contrario, a temperaturas de refrigeración, el metabolismo celular disminuye, se previene la formación de metabolitos tóxicos y se evita el agotamiento de nutrientes, lo que extiende la vida del microorganismo en almacenamiento (Sabaratnam, & Traquair, 2002).

Radiación ultravioleta

La radiación ultravioleta (UV) del sol afecta la persistencia de los conidios de los hongos en campo (Smits, & Sinoquet, 2004), y se clasifica según la longitud de onda, en UVC, de 100 a 280 nm; en UVB, de 280 a 320 nm y en UVA, de 320 a 400 nm. La radiación UVC es absorbida por el ozono y el oxígeno de la estratosfera, por lo cual las radiaciones B y A son las que atraviesan la atmósfera, alcanzan la superficie terrestre y afectan a los seres vivos, como en el caso de los efectos negativos que causan a los microorganismos (Ribera, & Paradelo, 1997).

Dentro de los daños que puede ocasionar la radiación ultravioleta está la producción de fotoproductos, principalmente a nivel del ADN, que forman dímeros de bases pirimidínicas adyacentes sobre la misma cadena de ADN (Nicholson, Schuerger, & Setlow, 2005). También se pueden generar peroxidaciones lipídicas cuando reaccionan con los ácidos grasos de los fosfolípidos, lo que afecta la fluidez de la membrana celular (Grijalba, Villamizar, & Cotes, 2009). Además, la radiación UV puede causar estrés oxidativo, que ocasiona retraso en el crecimiento, mutaciones o muerte celular de los hongos (Rangel, Fernandes, Braga, & Roberts, 2011).

El efecto de la radiación ultravioleta en la viabilidad y, por lo tanto, en la persistencia de los hongos entomopatógenos en el ambiente ha sido ampliamente estudiado. Por ejemplo, Tobar, Vélez y Montoya (1996) evaluaron la tolerancia de varias cepas de *B. bassiana* frente a la luz UV y seleccionaron el aislamiento Bb9218, que mantuvo la viabilidad después de 60 minutos de irradiación, y presentó además una alta virulencia contra *H. hampei*. Lo contrario ocurrió con una cepa de *M. anisopliae*, en la que los conidios expuestos a la radiación solar disminuyeron su viabilidad a la mitad después de dos horas de exposición (Moore, Higgins, & Lomer, 1996).

En otro trabajo se estudió el efecto de las radiaciones visible, UVB y UVA en la cepa de *B. bassiana* Bb9205. Después de irradiar durante 15 y 20 minutos, con una dosis de 4,38 W/m^2 de luz UVB (longitud principal: 312 nm) y de 0,009 W/m^{-2} para la UVA (longitud principal: 365 nm), la viabilidad del hongo fue afectada de manera drástica, con valores de supervivencia del 54,3 % y el 35,1 % respectivamente (Valdés-Gutiérrez, Escobar-López, Córdoba-Castro, & Góngora-Botero, 2014).

La tolerancia de los hongos a la luz ultravioleta está relacionada con las condiciones del sitio geográfico de su aislamiento, la morfología de sus colonias (Cagáň, & Švercel, 2001), la producción de pigmentos de absorción (Saxena et al., 2002) y el desarrollo de mecanismos enzimáticos de reparación de los daños en el ADN (Rangel, Braga, Anderson, & Roberts, 2005). Ante esta problemática, el uso de protectores solares en la formulación de microorganismos es la estrategia más utilizada para protegerlos de la luz UV y mejorar su persistencia en condiciones de campo.

En este sentido, se han desarrollado diferentes formulaciones y evaluado diferentes compuestos para fotoestabilizar los conidios de los hongos entomopatógenos. Por ejemplo, Grijalba et al. (2009) evaluaron la estabilidad de conidios, formulados y sin formular, de *Isaria* sp. y de *B. bassiana*, expuestos a la luz solar durante seis horas. En esta investigación se confirmó la importancia del desarrollo de formulaciones que incluyan antioxidantes, filtros y pantallas solares, pues se evidenció una mayor pérdida en la capacidad de germinación de los conidios sin formular en comparación con los formulados.

En el estudio realizado por Villamizar, Grijalba, Zuluaga, Gómez y Cotes (2009), evaluaron el efecto de la luz UVC en la germinación del aislamiento Vl026 de *L. lecanii*, formulado como un polvo mojable para el control de la mosca blanca *B. tabaci*, encontraron que la germinación de los conidios no formulados disminuyó en un 69,7 % después de seis horas de irradiación (4,5-6,0 kWh/m^2), mientras que en los formulados se redujo su germinación solo en un 37,4 %, y concluyeron que dicha formulación, que incluía filtros solares, fotoestabilizó eficientemente al hongo.

En un trabajo posterior con este mismo aislamiento de *L. lecanii*, formulado como un granulado dispersable, se determinó su desempeño utilizando un simulador solar, y los resultados confirmaron que los conidios sin formular fueron más susceptibles que los formulados, ya que llegaron a una inactivación del 59 % después de 90 minutos de exposición, frente a una del 37 % de los formulados (Peña, 2011).

Otra estrategia para superar esta limitación en campo es aumentar la tolerancia de los hongos entomopatógenos a la luz UV, mediante la implementación de condiciones de estrés en los procesos de fermentación, promoviendo la acumulación de polioles o solutos compatibles en el interior celular o la activación de mecanismos de reparación (Magan, 2007), una herramienta viable y económica que podría establecerse en los sistemas de fermentación para producir propágulos más resistentes a las condiciones ambientales.

Por ejemplo, en el trabajo de Brancini, Rangel y Braga (2016), se obtuvieron conidios de *M. anisopliae* var. *acridum* más tolerantes a la radiación UVB cuando se realizó una irradiación por dos horas con luz UVA durante el proceso de crecimiento del micelio. Finalmente, también se ha trabajado en la generación de mutantes que tengan una mayor tolerancia a la temperatura y la radiación UV, así como una patogenicidad superior.

Es el caso del trabajo de Zhao et al. (2016), quienes indujeron mutaciones en un aislamiento de *M. anisopliae* mediante la irradiación de conidios durante 20, 40 y 60 minutos, y encontraron que uno de los mutantes fue más tolerante a la luz UV y la temperatura, y además presentó una mayor velocidad de crecimiento y esporulación.

Conclusiones y perspectivas

El uso de hongos entomopatógenos como agentes de control biológico tiene una larga tradición, que comenzó con las observaciones de naturalistas y científicos curiosos, y ha llegado a su aprovechamiento mediante el uso de formulaciones a base de estos hongos (bioinsecticidas), los cuales ocupan un nicho en el mercado mundial de productos biológicos (Olson, 2015).

Como vimos, a pesar de las limitaciones tecnológicas y ambientales, la estrategia del uso del aislamiento o mezclas de aislamientos de hongos entomopatógenos como principio activo, con el fin de lograr la mortalidad de un artrópodo blanco, continúa en varios países con resultados variables.

Es claro que se deben tener en cuenta diferentes aspectos clave antes de aventurarse a incluir el control microbiano con patógenos de insectos. Por obvias razones, se debe considerar el conocimiento del insecto blanco, del microorganismo y del agroecosistema, pero también, y no menos importante, el diseño de las parcelas experimentales, el tipo de formulación, el sistema de aplicación y el efecto en insectos no blanco.

El control microbiano puede ser efectivo y servir como una alternativa real para los insecticidas químicos de amplio espectro. Sin embargo, al involucrar su uso a escalas mayores en campo y asegurar su éxito, es indispensable considerar el incremento de la virulencia del entomopatógeno, su velocidad para matar al insecto plaga y su tolerancia frente a condiciones ambientales retadoras (radiación UV y condiciones secas, entre otras).

Así mismo, desde el punto de vista tecnológico, es necesario tener presente la eficiencia en la producción masiva y el mejoramiento en materia de formulaciones que permitan una aplicación más fácil, un incremento en la persistencia en el ambiente y una vida útil más larga.

De igual forma, ya en el campo, se debe entender cómo encaja en un sistema integrado, así como su interacción con el ambiente y con otros componentes del manejo integrado de plagas (MIP) y el manejo integrado del cultivo (MIC).

Por último, es necesario conocer cuál es su valor real y su ventaja medioambiental al ser incluido en el agroecosistema, además de un punto clave, de gran importancia, que consiste en que el agricultor y la población en general acepten esta herramienta.

Ahora bien, gracias a la gran variedad de herramientas moleculares y tecnologías con las que se cuenta actualmente, se han reclasificado varias especies de hongos según su filogenia. De acuerdo con los resultados de trabajos a nivel mundial, ya no se debería considerar este grupo de hongos solo como patógenos de diversas clases de artrópodos, sino con un rango de acción más amplio, desde el punto de vista de su función ecológica. Algunas especies pueden ejercer roles adicionales a su objetivo como biocontroladores, pues podrían comportarse como supresores de patógenos de plantas o de nematodos parasíticos, o incluso ser promotores de crecimiento.

Por tal razón, todo el conocimiento producido se debería encaminar a llenar los vacíos de información en los temas mencionados y, además, a buscar nuevas estrategias de control, aprovechando los avances tecnológicos y de conocimiento que se generan a ritmo acelerado.

Agradecimientos

Los autores manifiestan sus agradecimientos a los investigadores de diversos centros de investigación de AGROSAVIA, que han participado en varias etapas de desarrollo de los bioproductos, y en especial a todo el grupo de trabajo de control biológico del C. I. Tibaitatá.

Agradecemos muy especialmente a Aristóbulo López-Ávila, Javier García, Everth Ebratt, Nora Jiménez, María Denis Lozano, Iván Pastrana, Buenaventura Monje, Elsa Judith Guevara, Guillermo León y Martha Gómez, por su contribución en el desarrollo de los proyectos y sus aportes valiosos para lograr el éxito de los bioproductos a base de hongos entomopatógenos.

Referencias

Ainsworth, G. C. (1976). *Introduction to the history of mycology*. Londres, Reino Unido: Cambridge University Press.

Alatorre-Rosas, R. (2007). Hongos entomopatógenos. En L. A. Rodríguez-del-Bosque & H. Arredondo-Bernal (Eds.), *Teoría y aplicación del control biológico* (pp. 127-143). Ciudad de México, México: Sociedad Mexicana de Control Biológico.

Alves, R. T., Bateman, R. P., Gunn, J., Prior, C., & Leather, S. R. (2002). Effects of different formulations on viability and medium-term storage of *Metarhizium anisopliae* conidia. *Neotropical Entomology, 31*(1), 91-99.

Anderson, P., & Morales, F. (2005). *Whitefly and Whitefly-borne Viruses in the Tropics: Building a Knowledge Base for Global Action*. Cali, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT).

Antía, O. P., Posada, F. J., Bustillo, A. E., & González, M. T. (1992). *Producción en finca del hongo Beauveria bassiana para el control de la broca del café* (Avances técnicos N.º 182). Chinchiná, Colombia: Centro Nacional de Investigaciones de Café (Cenicafé).

Barrios, G. J., & Mejía, A. (1996). Production of secondary metabolites by solid-state fermentation. *Biotechnology Annual Review, 2*, 85-121.

Bassi, A. (1835). *Del mal del segno, calcinaccio o moscardino, malattia che affligge i bachi de seta*. Recuperado de https://archive.org/details/bub_gb_0lt4GksHzmAC

Bateman, R., Batt, D., Carey, M., Douro-Kpindou, O., Godonou, I., Jenkins, N. E., … Paraïso, A. (1994). Progress with the development of *Metarhizium flavoviridae* for control of locusts and grasshoppers. *Bulletin OILB SROP (France), 17*(3), 23.

Bellon-Maurel, V., Orliaca, O., & Christen, P. (2003). Sensors and measurements in solid state fermentation: a review. *Process Biochemistry, 38*(6), 881-889.

BioWorks Inc. (2017). *Product shelf life*. Recuperado de http://www.bioworksinc.com/products/shared/product-shelf-life.pdf

Brancini, G., Rangel, D., & Braga, G. (2016). Exposure of *Metarhizium acridum* mycelium to light induces tolerance to UV-B radiation. *FEMS Microbiology Letters, 363*(6), fnw036. doi:10.1093/femsle/fnw036

Bustillo, A. E. (1995). El uso del hongo *Beauveria bassiana* como un componente en un programa de manejo integrado de la broca del café, *Hypothenemus hampei*. En Sociedad Colombiana de Entomología (Socolen), *Memorias del XXII Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología (Socolen)* (pp. 79-85). Bogotá, Colombia: Socolen.

Bustillo, A. E., Cárdenas, R., Villalba, D., Benavides, P., Orozco, J., & Posada, F. J. (1998). *Manejo integrado de la broca del café, Hypothenemus hampei (Ferrari) en Colombia*. Chinchiná, Colombia: Cenicafé.

Cadena, G. (2005). Desarrollos científicos de Cenicafé en la última década. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, 1*(30), 89-100.

Cagáň, L., & Švercel, M. (2001). The influence of ultraviolet light on pathogenicity of entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Balsamo) vuillemin to the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* HBN. (Lepidoptera: Crambidae). *Journal of Central European Agriculture, 2*(3), 229-234.

Cardona, M. C., Rendón, F., García, G. J., López-Ávila, A., Bueno, M. J. M., & Ramírez, J. D. (2001). Resistencia a insecticidas en *Bemisia tabaci* y *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae) en Colombia y Ecuador. *Revista Colombiana de Entomología, 27*(1-2), 33-38.

Certis U. S. A. (2015). *Safety Data Sheet (SDS)*. Recuperado de http://www.certisusa.com/pdf-sds/sds_PFR-97.pdf.

Clarkson, J. M., & Charnley, A. K. (1996). New insights into the mechanisms of fungal pathogenesis in insects. *Trends in Microbiology, 4*(5), 197-203.

Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica). (2011). *Evaluación y validación de bioplaguicidas a base de hongos entomopatógenos para el manejo de mosca blanca* Bemisia tabaci *en algodón, tabaco y berenjena en Tolima, Córdoba y Huila* (Informe técnico). Bogotá, Colombia: Corpoica.

Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica). (2016). Registro N.º 00004565. Bogotá, Colombia: ICA

Cruz, M. (2014). *Desarrollo de un proceso de fermentación sólida para el hongo Trichoderma asperellum th204 en un fermentador de lecho fijo* (tesis de maestría). Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.

De Crecy, E., Jaronski, S., Lyons, B., Lyons, T. J., & Keyhani, N. O. (2009). Directed evolution of a filamentous fungus for thermotolerance. *BMC Biotechnology*, *9*(1), 74. doi:10.1186/1472-6750-9-74.

De Faria, M. R., & Wraight, S. P. (2007). Mycoinsecticides and mycoacaricides: a comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. *Biological Control*, *43*(3), 237-256.

Dos Santos, M. M., Da Rosa, A. S., Dal'Boit, S., Mitchell, D. A., & Krieger, N. (2004). Thermal denaturation: is solid-state fermentation really a good technology for the production of enzymes? *Bioresource Technology*, *93*(3), 261-268.

Ebratt, E., Espinel, C., & Cotes, A. (1998). Observaciones sobre el comportamiento, biología y ecología de *Rhammatocerus schistocercoides* (Orthoptera: Acrididae) en la altillanura colombiana. *Revista Colombiana de Entomología*, *24*(3-4), 75-81.

Ebratt, E., Espinel, C., & Cotes, A. (2000). Estudio de la teoría de fases en *Rhammatocerus schistocercoides* (Orthoptera: Acrididae) en los llanos orientales de Colombia. *Revista Colombiana de Entomología*, *26*(3-4), 83-88.

Ebratt, E. E., Espinel, C., Gómez, M. I., Villamizar, L. F., Cotes, A. M., Gutiérrez, J. C. … León, G. (2000). *La langosta llanera en Colombia* (Boletín técnico). Bogotá, Colombia: Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica).

Espinel, C., Ebratt, E., & Cotes, A. (1998). Evaluación de cepas nativas de *Metarhizium anisopliae* para el control biológico de *Rhammatocerus schistoscercoides* (Orthoptera: Acrididae). *Revista Colombiana de Entomología*, *24*(1-2), 1-5.

Espinel, C., Lozano, M. D., Cotes, A. M., & López-Ávila, A. (2006). Eficacia de los productos bajo condiciones de campo. En C. Espinel, M. D. Lozano, A. M. Cotes & A. López-Ávila (Eds.), *Desarrollo de un bioplaguicida para el control de la mosca blanca Bemisia tabaci* (Boletín técnico). Bogotá, Colombia: Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica).

Espinel, C., Torres, L., González, V., & Cotes, A. M. (2006). *Selección de hongos entomopatógenos para el control de la mosca blanca Bemisia tabaci*. Bogotá, Colombia: Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica).

Espinel, C., Zuluaga, M. V., Jiménez, N., & Gómez, M. (2012). Uso del bioplaguicida a base de *Lecanicillium lecanii* para el control de *Bemisia tabaci* en el cultivo de berenjena. En M. Gómez, L. Villamizar, C. Espinel, E. Varón, N. Jiménez, M. V. Zuluaga & A. López (Eds.), *Uso de Lecanicillium lecanii para el control de la mosca blanca Bemisia tabaci en algodón y berenjena (pp. 45-58)*. Bogotá, Colombia: Corporación Colombiana de Invetigación Agropecuaria (Corpoica).

Fargues, J., Maniania, N. K., Delmas, J. C., & Smits, D. (1992). Influence de la température sur la croissance *in vitro* d'hyphomycètes entomopathogènes. *Agronomie*, *12*(7), 557-564.

Fegan, M., Manners, J., Maclean, D., Irwin, J., Samuels, K., Holdom, D., & Li, D. (1993). Random amplified polymorphic DNA markers reveal a high degree of genetic diversity in the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae*. *Microbiology*, *139*(9), 2075-2081.

Ferchault de Réaumur, R.-A. (1734). *Mémoires pour servir à l'histoire des insectes*. Recuperado de http://fondosdigitales.us.es/fondos/libros/6742/16/memoires-pour-servir-lhistoire-des-insectes-par-m-de-reaumur-tome-second-suite-de-lhistoire-des-chenilles-des-papillons-et-lhistoire-des-insectes-envenis-des-chenilles/.

Ferron, P. (1978). Biological control of insect pest by entomogenous fungi. *Annual Review of Entomology*, *23*(1), 409-442.

García, J., & López-Ávila, A. (2006). Evaluación de cepas nativas de *Lecanicillium lecanii* (Zimm). Viegas en el control de la mosca blanca de los invernaderos *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood). En A. Cotes, A. López-Ávila, L. Villamizar, A. Díaz, C. Espinel, L. Torres & J. García (Eds.), *Resumen de investigaciones en el control biológico de las moscas blancas Bemisa tabaci y Trialeurodes vaporariorum*. Bogotá, Colombia: Corporación Colombiana de Invetigación Agropecuaria (Corpoica).

Garzón, I., Villamizar, L., Cotes, A., García, J., & López-Ávila, A. (2006). Evaluación de *Lecanicillium lecanii* para el control de *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) en tomate. En A. Cotes, A. López-Ávila, L. Villamizar, A. Díaz, C. Espinel, L. Torres & J. García (Eds.), *Resumen de investigaciones en el control biológico de las moscas blancas Bemisia tabaci y Trialeurodes vaporariorum*. Bogotá, Colombia: Corporación Colombiana de Invetigación Agropecuaria (Corpoica).

Gillespie, A. T., & Claydon, N. (1989). The use of entomogenous fungi for pest control and the role of toxins in pathogenesis. *Pest Management Science*, *27*(2), 123-130.

Goettel, M. S., Inglis, G. D., & Wraight, S. P. (2000). Fungi. En L. A. Lacey & H. K. Kaya (Eds.), *Field manual of techniques in invertebrate pathology* (pp. 223-248). Dordrecht, Holanda: Springer.

Gómez, M., Villamizar, L., & Cotes, A. M. (1997). Producción masiva y preformulación de *Metarhizium* spp. para el control biológico de la langosta llanera. *Revista Colombiana de Entomología*, *23*(3-4), 119-124.

González, G. (1994). *Evaluación de la patogenicidad de diferentes aislamientos de Beauveria bassiana de la colección de entomopatógenos* (Informe anual de labores). Chinchiná, Colombia: Centro Nacional de Investigaciones de Café (Cenicafé).

González, M. T., Posada, F. J., & Bustillo, A. E. (1993). Desarrollo de un bioensayo para evaluar la patogenicidad de *Beauveria bassiana* sobre *Hypothenemus hampei*. *Revista Cenicafé*, *44*(3), 93-102.

Grijalba, E., Villamizar, L., & Cotes, A. (2009). Evaluación de la estabilidad de *Paecilomyces* sp. y *Beauveria bassiana* frente a la radiación ultravioleta. *Revista Colombiana de Entomología*, *35*(1), 1-6.

Hajek, A., & St. Leger, R. (1994). Interactions between fungal pathogens and insect hosts. *Annual Review of Entomology*, *39*(1), 293-322.

Hedgecock, S., Moore, D., Higgins, P. M., & Prior, C. (1995). Influence of moisture content on temperature tolerance and storage of *Metarhizium flavoviride* conidia in an oil formulation. *Biocontrol Science and Technology*, *5*(3), 371-378.

Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). (2016). *Listado de productos bioinsumos registrados*. Recuperado de https://www.ica.gov.co/Areas/Agricola/Servicios/Fertilizantes-y-Bio-insumos-Agricolas/Listado-de-Bioinsumos/2009/PRODUCTOS-BIOINSUMOS-MAYO-13-DE-2008.aspx.

Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). (2017). *Listado de empresas de bioinsumos registradas, diciembre de 2017*. Recuperado de http://www.ica.gov.co/Areas/Agricola/Servicios/Fertilizantes-y-Bio-insumos-Agricolas/Listado-de-Bioinsumos/2009/EMPRESAS-REGISTRADAS-BIOINSUMOS-JULIO-8-DE-2008.aspx.

Jackson, M. A., Dunlap, C. A., & Jaronski, S. T. (2010). Ecological considerations in producing and formulating fungal entomopathogens for use in insect biocontrol. *BioControl*, *55*(1), 129-145.

Jaronski, S., & Jackson, M. A. (2012). Mass production of entomopathogenic hypocreales. En L. A. Lacey (Ed.), *Manual of Techniques in Invertebrate Pathology* (pp. 255-284). Nueva York, EE. UU.: Academic Press.

Jiménez, L., García, J., Villamizar, L., & Cotes, A. M. (2006). Evaluación de técnicas de aplicación de un bioplaguicida para el control de la mosca blanca de los invernaderos *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) en habichuela. En A. Cotes, A. López-Ávila, L. Villamizar, A. Díaz, C. Espinel, L. Torres & J. García (Eds.), *Resumen de investigaciones en el control biológico de las moscas blancas Bemisia tabaci y Trialeurodes vaporariorum*. Bogotá, Colombia: Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica).

Kachatourians, G. (1991). Physiology and genetics of entomopathogenic fungi. En D. K. Arora, L. Ajello & K. G. Mukerji (Eds.), *Handbook of Applied Micology: Humans, animals and insects* (Vol. 2, pp. 548-611). Nueva York, EE. UU.: CRC Press.

Kim, J. S., Je, Y. H., Woo, E. O., & Park, J. S. (2011). Persistence of *Isaria fumosorosea* (Hypocreales: Cordycipitaceae) SFP-198 conidia in corn oil-based suspension. *Mycopathologia*, *171*(1), 67-75.

Koppert Biological Systems. (2014). *Material safety data sheet. Mycotal*. Recuperado de https://www.koppert.com/fileadmin/Koppert/MSD/EN/MYCOTAL_MSDS__EN__04Dec2013.versie_4.3.pdf.

Koppert Biological Systems. (2017). *Mycotal*. Recuperado de https://www.koppert.es/plagas/moscas-blancas/productos-contra/mycotal/.

Koppert do Brasil Holding. (2017a). *Boveril®*. Recuperado de http://koppert.com.br/assets/fichas/boveril.pdf.

Koppert do Brasil Holding. (2017b). *Metarril®*. Recuperado de http://koppert.com.br/produtos/metarril/.

Lacayo, L., Barrios, M., Jiménez, C., & Sandino, V. (1994). *El uso de hongos entomopatógenos para el manejo de la broca del café (Hypothenemus hampei) en Nicaragua*. Documento presentado en Reunión Informativa sobre Avances de Investigación. Managua, Nicaragua.

Lacey, L., Grzywacz, D., Shapiro-Ilan, D., Frutos, R., Brownbridge, M., & Goettel, M. (2015). Insect pathogens as biological control agents: back to the future. *Journal of Invertebrate Pathology*, *132*, 1-41.

Leland, J. E., Mullins, D. E., Vaughan, L. J., & Warren, H. L. (2005). Effects of media composition on submerged culture spores of the entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae* var. *acridum*. Part 2: Effects of media osmolality on cell wall characteristics, carbohydrate concentrations, drying stability, and pathogenicity. *Biocontrol Science and Technology*, *15*(4), 393-409.

López, A., & García, J. (2000). *Manejo integrado sostenible de moscas blancas como plaga y vectores de virus en los trópicos: Reconocimiento, diagnóstico y caracterización de especies de mosca blanca como plagas en el trópico alto de América Latina* (Informe final del convenio entre la Agencia Danesa de Desarrollo Internacional [Danida], Corpoica y CIAT). Bogotá, Colombia: Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica).

Lord, J. C. (2005). From Metchnikoff to Monsanto and beyond: the path of microbial control. *Journal of Invertebrate Pathology*, *89*(1), 19-29.

Magalhães, B., Faria, M., & Guerra, W. (1996). *Desenvolvimento de bioinsecticidas para o controle de*

gafanhotos no Brasil. Documentos presentados en la Reunión Técnica Regional sobre Biología y Control de la Langosta *Rhammatocerus schistocercoides*. Cuiabá, Brasil.

Magan, N. (2007). Fungi in extreme environments. En C. Kubicek & I. S. Druzhinina (Eds.), *Environmental and Microbial Relationships. The Mycota* (vol. 4, pp. 85-103). Berlín, Alemania: Springer-Verlag.

Manpreet, S., Sawraj, S., Sachin, D., Pankaj, S., & Banerjee, U. (2005). Influence of process parameters on the production of metabolites in solid-state fermentation. *Malaysian Journal of Microbiology, 2*(1), 1-9.

Mariño, P., Villamizar, L., Espinel, C., & Cotes, A. (2004). Caracterización de prototipos de bioplaguicidas granulados a base de *Metarhizium anisopliae* para el control de *Ancognatha scarabaeoides* (Coleoptera: Melolonthidae). *Revista Colombiana de Entomología, 30*(1), 43-49.

Mitchell, D. A., Von Meien, O. F., & Krieger, N. (2003). Recent developments in modeling of solid-state fermentation: heat and mass transfer in bioreactors. *Biochemical Engineering Journal, 13*(2-3), 137-147.

Moore, D., Higgins, P., & Lomer, C. (1996). Effects of simulated and natural sunlight on the germination of conidia of *Metarhizium flavoviride* Gams and Rozsypal and interactions with temperature. *Biocontrol Science and Technology, 6*(1), 63-76.

Moore, D., Reed, M., Le Patourel, G., Abraham, Y., & Prior, C. (1992). Reduction of feeding by the desert locust, *Schistocerca gregaria*, after infection with *Metarhizium flavoviride*. *Journal of Invertebrate Pathology, 60*(3), 304-307.

Morales, E., Cruz, F., Ocampo, A., Rivera, G., & Morales, B. (1991). *Una aplicación de la biotecnología para el control de la broca del café*. Documento presentado en Colloque Scientifique International sur le Café. París, Francia.

Moscardi, F. (1999). Assessment of the application of baculoviruses for control of Lepidoptera. *Annual Review of Entomology, 44*(1), 257-289. doi:10.1146/annurev.ento.44.1.257.

Nicholson, W. L., Schuerger, A. C., & Setlow, P. (2005). The solar UV environment and bacterial spore UV resistance: considerations for Earth-to-Mars transport by natural processes and human spaceflight. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 571*(1-2), 249-264.

Olson, S. (2015). An analysis of the biopesticide market now and where it is going. *Outlooks on Pest Management, 26*(5), 203-206. doi:10.1564/v26_oct_04.

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). (2002). *Expert Consultation and Risk Assessment on the Importation and Large-Scale Use of Mycopesticides against Locusts*. Recuperado de http://www.fao.org/ag/locusts/oldsite/PDFs/meetings/MycopestE.pdf.

Ortiz-Catón, M., Alatorre-Rosas, R., Valdivia-Bernal, R., Ortiz-Catón, A., Medina-Torres, R., & Alejo-Santiago, G. (2011). Efecto de la temperatura y humedad relativa sobre el desarrollo de los hongos entomopatógenos. *Revista BioCiencias, 1*(2), 42-53.

Pandey, A. (1992). Recent process developments in solid-state fermentation. *Process Biochemistry, 27*(2), 109-117.

Peña, Z. P. (2011). Fotoestabilidad de dos formulaciones de bioplaguicidas a base de *Lecanicillium lecanii* Vl026 y *Trichoderma koningiopsis* Th003 (tesis de pregrado). Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.

Posada, F., & Bustillo, A. (1994). El hongo *Beauveria bassiana* y su impacto en la caficultura colombiana. *Agricultura Tropical, 31*(3), 97-106.

Posada, F. J. (1993). Control biológico de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) con hongos. En Sociedad Colombiana de Entomología (Socolen), *Memorias Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología (Socolen)*. Cali, Colombia: Socolen.

Prabhakar, A., Krishnaiah, K., Janaun, J., & Bono, A. (2005). An overview of engineering aspects of solid state fermentation. *Malaysian Journal of Microbiology, 1*(2), 10-16.

Prior, C. (1995). Advances in mycopesticide formulation and application. En R. Hall (Ed.),*The Biological Control of Crop Pests in the Caribbean: Report of a Workshop Held in Roseau, Dominica* (pp. 17-22). Londres, Reino Unido: Commonwealth Secretariat.

Rangel, D. E., Braga, G. U., Anderson, A. J., & Roberts, D. W. (2005). Variability in conidial thermotolerance of *Metarhizium anisopliae* isolates from different geographic origins. *Journal of Invertebrate Pathology, 88*(2), 116-125.

Rangel, D. E., Fernandes, É. K., Braga, G. U., & Roberts, D. W. (2011). Visible light during mycelial growth and conidiation of *Metarhizium robertsii* produces conidia with increased stress tolerance. *FEMS Microbiology Letters, 315*(2), 81-86.

Ribera, M., & Paradelo, C. (1997). El sol y la piel. Fotoprotección y filtros solares. *Medicina Integral, 30*(2), 64-71.

Rivera, H. F., & Zuluaga, M. V. (2012). Uso del bioplaguicida a base de *Lecanicillium lecanii* para el control de *Bemisia tabaci* en el cultivo de algodón. En M. Gómez, L. Villamizar, C. Espinel, E. Varón, N. Jiménez, M. V. Zuluaga & A. López-Ávila (Eds.), *Uso de Lecanicillium lecanii para el control de la mosca blanca Bemisia tabaci en algodón y berenjena*. Bogotá, Colombia: Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica).

Rodríguez, I. V., Bueno, J. M., Cardona, C. M., & Morales, H. M. (2012). Biotipo B de *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae): plaga de pimentón en el Valle del Cauca, Colombia. *Revista Colombiana de Entomología, 38*(1), 14.

Sabaratnam, S., & Traquair, J. A. (2002). Formulation of a *Streptomyces* biocontrol agent for the suppression of *Rhizoctonia* damping-off in tomato transplants. *Biological Control, 23*(3), 245-253.

Santos, A. M., De Brito-Brandão, P. F., & Rivero, L. F. V. (2017). Efecto del estrés térmico y la radiación ultravioleta durante la producción masiva de *Nomuraea rileyi*. *Revista Colombiana de Biotecnología, 19*(1), 82-91.

Santos, A. M., Uribe, L. A., Zuluaga, M. V., & Villamizar, L. F. (2012). Estabilidad de un bioplaguicida a base de *Lecanicillium lecanii* formulado como un granulado dispersable (WG). En M. Gómez, L. Villamizar, C. Espinel, E. Varón, N. Jiménez, M. V. Zuluaga … A. López-Ávila. (Eds.), Uso de *Lecanicillium lecanii para el control de la mosca blanca Bemisia tabaci en algodón y berenjena*. Bogotá, Colombia: Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica).

Saxena, D., Ben-Dov, E., Manasherob, R., Barak, Z. E., Boussiba, S., & Zaritsky, A. (2002). A UV tolerant mutant of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* producing melanin. *Current Microbiology, 44*(1), 25-30.

Shahid, A. A., Rao, Q. A., Bakhsh, A., & Husnain, T. (2012). Entomopathogenic fungi as biological controllers: new insights into their virulence and pathogenicity. *Archives of Biological Sciences, 64*(1), 21-42.

Smits, N., & Sinoquet, H. (2004). Fungal bioinsecticide survival in response to UVB in 3D digitized grapevine canopies: a simulation study. En C. Godin, J. Hanan, W. Kurt, A. Lacointe, A. Takenaka, P. Prusinkiewicz, … B. Andrieu (Eds.), *Proceedings of the 4th International Workshop on Functional-Structural Plant Models* (pp. 7-11). Montpellier, Francia: UMR AMAP

Sponagel, K. W. (1994). *La broca del café Hypothenemus hampei en plantaciones de café robusta en la amazonía ecuatoriana*. Giessen, Alemania: Wissenschaftlicher Fachverlag.

Steinhaus, E. (1956). Microbial control —the emergence of an idea. A brief history of insect pathology through the nineteenth century. *Hilgardia, 26*(2), 107-160.

Tobar, S., Vélez, P., & Montoya, E. (1996). Selección de aislamientos patogénicos de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* por resistencia a la luz ultravioleta. Documento presentado en Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología (Socolen). Cartagena, Colombia.

Valdés-Gutiérrez, S., Escobar-López, L., Córdoba-Castro, L., & Góngora-Botero, C. (2014). Efecto de la luz ultravioleta sobre *Beauveria bassiana* y su virulencia a la broca. *Revista Cenicafé, 62*(2), 58-68.

Van Lenteren, J. C., Bolckmans, K., Köhl, J., Ravensberg, W. J., & Urbaneja, A. (2017). Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. *BioControl, 62*(1), 1-21. doi:10.1007/s10526-017-9801-4.

Vega, F. E., Jackson, M. A., Mercadier, G., & Poprawski, T. J. (2003). The impact of nutrition on spore yields for various fungal entomopathogens in liquid culture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology, 19*(4), 363-368.

Vélez, P., & Montoya, E. (1993). Supervivencia del hongo *Beauveria bassiana* bajo radiación solar en condiciones de laboratorio y campo. *Revista Cenicafé, 44*(3), 111-122.

Vélez, P. E., Posada, F., Marín, P., González, M., Osorio, E., & Bustillo, A. (1997). *Técnicas para el control de calidad de formulaciones de hongos entomopatógenos* (Boletín técnico N.º 17). Chinchiná, Colombia: Centro Nacional de Investigaciones de Café (Cenicafé).

Villamizar, L., Grijalba, E., Zuluaga, V., Gómez, M., & Cotes, A. M. (2009). Evaluation of some parameters influencing the activity of a fungal biocontrol agent used for *Bemisia tabaci* control. *IOBC-WPRS Bulletin, 45*, 327-330.

Wang, C., & Wang, S. (2017). Insect pathogenic fungi: genomics, molecular interactions and genetic improvements. *Annual Review of Entomology, 62*, 73-90. doi:10.1146/annurev-ento-031616-035509.

Wang, S., Miao, X., Zhao, W., Huang, B., Fan, M., Li, Z., & Huang, Y. (2005). Genetic diversity and population structure among strains of the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana*, as revealed by inter-simple sequence repeats (ISSR). *Mycological Research, 109*(12), 1364-1372.

Zárate, C., Cotes, A., & Villamizar, L. (2010). *Estudio de la estabilidad en almacenamiento de tres formulaciones oleosas a base de Nomuraea rileyi*. Documento presentado en XXXIII Congreso Nacional de Control Biológico. Ciudad de México, México.

Zhang, S., & Xia, Y. (2008). Identification of genes preferentially expressed during microcycle conidiation of *Metarhizium anisopliae* using suppression subtractive hybridization. *FEMS Microbiology Letters, 286*(1), 71-77.

Zhao, J., Yao, R., Wei, Y., Huang, S., Keyhani, N.O., & Huang, Z. (2016). Screening of *Metarhizium anisopliae* UV-induced mutants for faster growth yields a hyper-virulent isolate with greater UV and thermal tolerances. *Applied Microbiology and Biotechnology, 100*(21), 9217-9228.

Zimmermann, G. (2008). The entomopathogenic fungi *Isaria farinosa* (formerly *Paecilomyces farinosus*) and the *Isaria fumosorosea* species complex (formerly *Paecilomyces fumosoroseus*): biology, ecology and use in biological control. *Biocontrol Science and Technology, 18*(9), 865-901.

Capítulo 7

Virus entomopatógenos en el control biológico de insectos

Chapter 7

Entomopathogenic viruses in the biological control of insects

Laura Villamizar,[1] Paola Cuartas,[2] Juliana Gómez,[2]
Gloria Patricia Barrera,[2] Carlos Espinel,[2] Miguel Lopez-Ferber[3]

[1] AgResearch Ltd. Lincoln Science Centre

[2] Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA)

[3] LGEI, Mines Alès, Institut Mines-Télécom y Montpellier Université d'Excellence

Contenido

Contexto histórico 372

Clasificación, hospederos y uso en control biológico 374

- Ascoviridae 376
- Iridoviridae 376
- Baculoviridae 377
- Poxviridae 381
- Polydnaviridae 381
- Reoviridae 382
- Parvoviridae (densovirus) 382

Ejemplos de desarrollo y uso de baculovirus como bioinsecticidas 383

- Granulovirus de *Phthorimaea operculella* para el control de la polilla guatemalteca de la papa en Colombia 383
- Nucleopoliedrovirus de *Spodoptera frugiperda* para el control del gusano cogollero del maíz en Colombia 385
- Granulovirus de *Erinnyis ello* para el control del gusano cachón en cultivos de caucho en Colombia 386
- Granulovirus de *Cydia pomonella* para el control de la polilla del manzano en Europa y Estados Unidos 387
- Nucleopoliedrovirus de *Anticarsia gemmatalis* para el control de la oruga de las leguminosas en Brasil 388

Productos en el mercado 389

Estrategias de potenciación para mejorar la actividad biocontroladora de los baculovirus 390

Limitantes para la producción y el uso de virus entomopatógenos 392

- Limitantes ambientales 392
- Limitantes para la producción viral 394

Conclusiones y perspectivas 397

Agradecimientos 400

Referencias 401

Resumen

En este capítulo se sintetizan las posibilidades de uso de virus para controlar los insectos plagas de los cultivos. Desde los primeros trabajos relativamente empíricos hasta los desarrollos actuales, se describe el potencial de diferentes familias de virus para regular las poblaciones de insectos. Sin embargo, solo virus de una familia, los baculovirus, han podido ser registrados como agentes de control biológico. El proceso necesario para llegar del descubrimiento de un aislado viral hasta la producción de un bioinsecticida se muestra con ejemplos reales. Las estrategias de este uso han conducido, en un caso, a la aparición de resistencia, lo cual permite plantear las diferencias entre el modo de acción natural y el aplicado en los agroecosistemas, proponiendo nuevas vías de uso, más sostenibles desde el punto de vista ecológico.

Palabras clave

Baculovirus, bioplaguicida, entomopatógeno, virus

Abstract

This chapter presents a summary of the possible uses of viruses to control insect pests of crops. Since the first relatively empirical works through to current developments, the potential of different families of viruses to regulate insect populations has been recognized. However, only viruses of one family, the baculovirus, have been able to be registered as biological control agents. The process necessary to go from discovering a viral isolate to producing a biopesticide is shown with real examples. Previous application strategies for viruses against insects have given rise to host resistance. We suggest an alternative strategy which adopts an ecological point of view in order to ensure sustainable use of these valuable control agents.

Keywords

Baculovirus, biopesticide, entomopathogen, virus

Contexto histórico

Los virus son la forma más simple de vida y consisten básicamente en un ácido nucleico y una proteína de cubierta (cápsida) que juega un papel importante en el proceso de infección. La nucleocápside puede estar rodeada por una bicapa lipídica formando un virión, y algunos viriones se encuentran embebidos en una matriz proteica denominada *cuerpo de inclusión* (CI) (Del Rincón & Ibarra, 2011).

La imposibilidad de observar la mayoría de los virus, debido a su pequeño tamaño, hizo que la identificación de agentes virales haya sido más lenta que la de otros agentes, como las bacterias o los hongos. Solo los virus que producen cuerpos de inclusión pueden ser observados en el microscopio óptico, aun cuando estos cuerpos de inclusión se encuentran próximos al límite de resolución. Los virus que producen cuerpos de inclusión son los baculovirus (virus de poliedrosis nuclear y virus de granulosis), los entomopoxvirus y los cypovirus (reovirus de insectos) (Caballero & Williams, 2008; Del Rincón & Ibarra, 2011).

La proposición más antigua conocida acerca de la transmisión de una patología viral se encuentra en el texto de Vida (1527), en su libro sobre la cría del gusano de seda. En este poema, Vida describe la patología e indica que en la hemolinfa se acumulan "cristales de sal", enfermedad denominada *la grasería*, cuya transmisión podría hacerse mediante la aspersión de la hemolinfa de gusanos muertos que contienen estos cristales sobre hojas de morera, que servirán de alimento a gusanos sanos (figura 7.1).

La relación entre el agente de la "grasería" y los "cristales de sal", según la descripción de Vida, fue objeto de estudios y debate entre 1870 y 1940. La evolución de los conocimientos para llegar a admitir que estos cristales en forma de poliedro contenían el agente causal de la enfermedad, es decir, lo que Vida

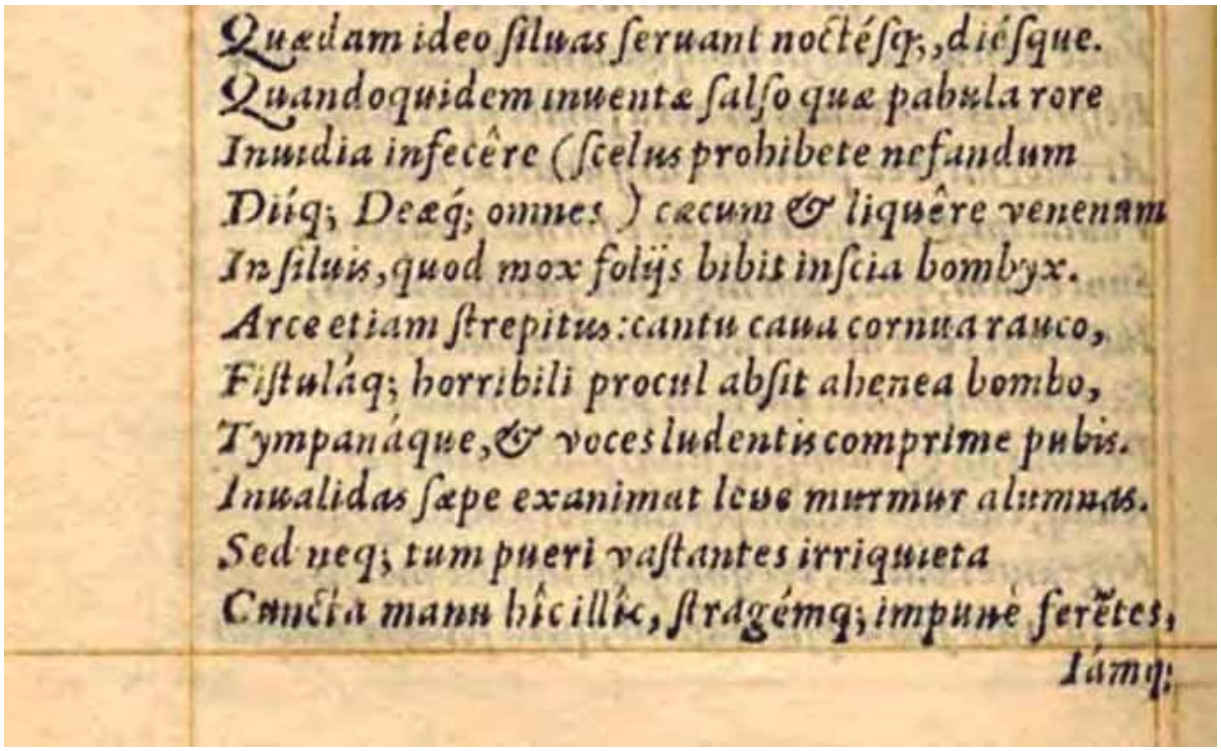

Quædam ideo ſiluas ſeruant noctéſq;, diéſque.
Quandoquidem inuentæ ſalſo quæ pabula rore
Inuidia infecêre (ſcelus prohibete nefandum
Diiq; Deæq; omnes) cæcum & liquêre venenum
In ſiluis, quod mox foliis bibit inſcia bombyx.
Arce etiam ſtrepitus: cantu cana cornua rauco,
Fiſtuláq; horribili procul abſit ahenea bombo,
Tympanáque, & voces ludentis comprime pubis.
Inualidas ſæpe exanimat leue murmur alumnas.
Sed neq; tum pueri vaſtantes irriquieta
Cuncta manu hîc illîc, ſtragémq; impunè ferêtes,
Iámq;

Figura 7.1. Extracto de Vida (1527), De Bombyce, libre II.

Fuente: Universität Mannheim (s. f.)

intuía en 1527, está magistralmente descrita por Benz (1986). En 1924, Komárek y Breindl demostraron que los poliedros contenían el agente infeccioso, pero que este también podía existir en forma libre.

Las epizootias en las poblaciones naturales de *Lymantria monarca* (L) permitieron observar que las larvas muertas del Wipfelkranhheit presentaban poliedros similares a los de la grasería (Von Tubeuf, 1892). En este mismo año, Gehren (1982, citado por Huber, 1986), que pensaba que los poliedros eran bacterias, intentó cultivarlos en un medio de carne y papa para transmitir la infección, siguiendo la idea, propuesta por LeConte (1874), de combatir la plaga con su propia enfermedad.

Después Paillot, en 1926, descubrió otro tipo de agente patógeno en el gusano de la berza, *Pieris brassicae* (L). Este agente producía cuerpos de inclusión mucho más pequeños que los poliedros, apenas visibles con el microscopio óptico (Paillot, 1926). En los años siguientes, este autor describió agentes similares en varias especies de insectos de interés agronómico, en enfermedades conocidas como *granulosis*.

Antes de 1940, la mayoría de los estudios se focalizaron en la identificación de los agentes causales de las poliedrosis y de las granulosis. En cuanto el microscopio electrónico, desarrollado entre 1928 y 1933 (Kruger, Schneck, & Gelderblom, 2000), tuvo una resolución superior a la del microscopio óptico, la identificación de otros agentes virales fue posible.

En la década de 1940 se demostró de forma convincente que las graserías (poliedrosis) eran causadas por virus en forma de bastón y se desarrollaron las técnicas que permitieron su purificación. También se tomaron las primeras imágenes de baculovirus con microscopía electrónica (Bergold, 1947) y estos trabajos estimularon a otros investigadores en Europa, América del Norte y Japón para estudiar la biología de los baculovirus en detalle y para utilizarlos en el control biológico.

Ya en la década anterior, Ishimori (1934) publicó sus observaciones sobre las patologías de la grasería. Este autor describió ciertos tipos de grasería en los cuales, contrario a lo que es habitual, se observaba una multiplicación importante de los poliedros en las células del tubo digestivo. Con el desarrollo de la microscopía electrónica, rápidamente se observó que los poliedros producidos en ciertos insectos eran diferentes de los observados por Bergold (1947), ya que, al disolverlos, en lugar de producir viriones en forma de bastón, producían viriones esféricos (Smith & Wyckoff, 1950). Poco después, Xeros (1952) diferenció los dos grupos de virus productores de poliedros: los causantes de las poliedrosis nucleares, con virus en forma de bastón, y los causantes de las poliedrosis citoplasmáticas, con forma de esfera.

Las primeras referencias a la patología de insectos se remontan a Aristóteles, que describe ciertas enfermedades de las abejas en su trabajo *Historia Animalum*. Kirby y Spencer (1826) dedicaron un capítulo a las enfermedades de los insectos en su libro *An Introduction to Entomology*. Este capítulo está dedicado, en su mayoría, al gusano de seda, que ha motivado la mayoría de los trabajos más antiguos. Así, Bassi (1835), en Italia, fue el primero que demostró experimentalmente que un microorganismo era la causa de una enfermedad infecciosa. Se trataba del hongo *Beauveria bassiana*. Los trabajos de Pasteur en Alès, entre 1865 y 1870 (Pasteur, 1870), permitieron restaurar la producción de seda en la región de Cevennes, gracias al desarrollo de técnicas de selección y de asepsia.

Los trabajos sobre la patología de los insectos se desarrollaron originalmente con una visión de protección de los insectos útiles, pero con el tiempo se amplió hacia el uso de virus para combatir los insectos nocivos, plagas de cultivos o vectores de enfermedades. La publicación del libro *Principles of Insect Pathology* de Steinhaus (1949) marcó un punto clave en el desarrollo de esta disciplina. Entre las décadas de 1950 a 1980 se exploró el uso de diferentes tipos de virus entomopatógenos en diferentes países, y en los apartados que siguen en este capítulo se describen algunos resultados de control. Sin embargo, muchos de estos ensayos, algunos de ellos muy exitosos, no se transformaron en realidades industriales, salvo en el caso de algunos baculovirus, en gran parte debido al temor que despertaba el riesgo de infecciones por estos virus en vertebrados y principalmente en el hombre. Actualmente los únicos virus que se encuentran en productos registrados son baculovirus, pero hay grandes esfuerzos para demostrar la seguridad del uso de otras familias de virus entomopatógenos.

Clasificación, hospederos y uso en control biológico

La clasificación de los virus patógenos de insectos ha cambiado con el paso del tiempo. Inicialmente, se agruparon de acuerdo con la presencia o ausencia de cuerpos de inclusión (CI) y la morfología del virión, y después se utilizaron otros criterios, como el grupo de hospederos y el tipo de tejido afectado. Actualmente se clasifican siguiendo los parámetros utilizados para la clasificación de los virus patógenos de animales, como, por ejemplo: el tipo de ácido nucleico, la simetría de las subunidades de la cubierta de proteína, la forma y el tamaño de la partícula viral y la presencia o ausencia de envoltura (Del Rincón & Ibarra, 2011). La clasificación y las características generales de los virus entomopatógenos se presenta en la tabla 7.1.

Tabla 7.1. Características de las principales familias y géneros de los virus entomopatógenos

Familia (subfamilia) género	Ácido nucleico[a]	Cuerpo de inclusión	Virión envuelto	Forma del virión	Hospederos[b]	Sitio de replicación
Ascoviridae						
Ascovirus	csADN	No	Sí	Baciliforme, ovoide o alantoide	L	Núcleo: cuerpo graso, hipodermis y matriz traqueal
Toursvirus		No	Sí		Hy	
Baculoviridae						
Alphabaculovirus	cdADN	Sí	Sí	Baciliforme	L	Núcleo: intestino medio o infección sistémica
Betabaculovirus		Sí	Sí		L	
Deltabaculovirus		Sí	Sí		D	
Gammabaculovirus		Sí	Sí		Hy	
Iridoviridae (Betairidovirinae)						
Chloriridovirus	cdADN	No	No	Icosaédrica	C, D, He, L, O, Tr, D	Núcleo y citoplasma: cuerpo graso, hemocitos, hipodermis, algunas veces sistémica
Iridovirus		No	No			
Hytrosaviridae						
Glossinavirus	cdADN	No	Sí	Baciliforme	D	Núcleo: glándula salivar, ovarios y tejidos gonadales
Muscavirus		No	Sí		D	
Nudiviridae						
Alphanudivirus	cdADN	No	Sí	Baciliforme	O, C	Núcleo: intestino medio o infección sistémica
Betanudivirus		No	Sí		L	
Parvoviridae (Densovirinae)						
Ambidensovirus	csADN	No	No	Redondeada	D, He, Hy, L, O	Núcleo: mayoría de tejidos, excepto el intestino medio
Brevidensovirus		No	No			
Iteravirus		No	No		D	
Sin clasificar		No	No		L, O	

(Continúa)

(Continuación tabla 7.1)

Familia (subfamilia) género	Ácido nucleico[a]	Cuerpo de inclusión	Virión envuelto	Forma del virión	Hospederos[b]	Sitio de replicación
Polydnaviridae						
Bracovirus	cdADN	No	Sí	Cilíndrica	Hy	No en parasitoides. Hemocitos y cuerpo graso
Ichnovirus		No	Sí	Elipsoide	Hy	
Poxviridae						
(Entomopoxvirinae)						Citoplasma: principalmente en cuerpo graso y hemocitos, pero otros órganos se pueden infectar
Alphaentomopoxvirus	cdADN	Sí	Sí	Ovoide	C	
Betaentomopoxvirus		Sí	Sí		L, O	
Gammaentomopoxviru		Sí	Sí		L, O	
Sin clasificar		Sí	Sí		Hy, O	
Birnaviridae						
Entomobirnavirus	csARN	No	No	Icosaédrica	D	Citoplasma: no en tejidos, adultos sensibles al CO_2
Dicistroviridae						
Aparavirus	csARN	No	No	Icosaédrica	Hy	Intestino y sistema reproductor
Cripavirus		No	No		He, O, D	
Triatovirus		No	No		He	
Iflaviridae						
Iflavirus	csARN	No	No	Icosaédrica	L, Hy, He	Citoplasma: células epiteliales del intestino medio y células caliciformes
Metaviridae						
Errantivirus	csARN	No	No/Sí	Esféricos u ovoides	D	Hemocitos, infección sistémica
Metavirus		No	No		L, D, C	
Semotivirus		No	No/Sí		D	
Nodaviridae						
Alphanodavirus	csARN	No	No	Icosaédrica	C, D, L	Citoplasma: intestino y después infección sistémica
Pseudoviridae						
Hermivirus	csARN	No	No	Redondeada	D	Citoplasma o núcleo
Reoviridae						
(Spinareovirinae)						Citoplasma: células del intestino
Cypovirus	cdARN	Sí	No	Icosaédrica	L, Hy	
Idnoreovirus		No	No		L, Hy	
(Sedoreovirinae)		No	No		D	
Seadornavirus						

(Continúa)

(Continuación tabla 7.1)

Familia (subfamilia) género	Ácido nucleico[a]	Cuerpo de inclusión	Virión envuelto	Forma del virión	Hospederos[b]	Sitio de replicación
Alphatetraviridae						
Betatetravirus	csARN	No	No	Icosaédrica	L	Citoplasma: infección crónica
Omegatetravirus		No	No		L	
Carmotetraviridae						
Alphacarmotetravirus	csARN	No	No	Icosaédrica	L	Citoplasma: células del intestino medio
Permutotetraviridae						
Alphapermutotetravirus	csARN	No	No	Icosaédrica	L	Citoplasma: células del intestino medio

a ADN o ARN cs: cadena sencilla; cd: cadena doble.

b Órdenes de insectos: C: Coleoptera; D: Diptera; Di: Dictioptera; He: Hemiptera; Hy: Himenoptera; L: Lepidoptera; O: Ortoptera; Od: Odonata; Tr: Trichoptera.

Fuente: Elaboración propia con base en Caballero y Williams (2008) y Rohrmann (2011)

Con base en esta clasificación, a continuación se describirán algunas de las familias o géneros virales que han sido estudiados o eficientemente utilizados para el control biológico de insectos.

Ascoviridae

Los virus de la familia Ascoviridae son virus ADN de doble cadena con viriones de forma baciliforme (Federici, Bideshi, Tan, Spears, & Bigot, 2009). Estos virus son transmitidos por avispas parasitoides a las larvas y pupas de lepidópteros, principalmente de la familia Noctuidae, causando una prolongada y fatal enfermedad (Cheng, Carner, & Arif, 2000; Federici & Govindarajan, 1990). El desarrollo de la larva es atrofiado por la infección viral y modifica la muerte celular programada o apoptosis (Bideshi, Bigot, Federici, & Spears, 2010), lo que favorece la replicación del virus y la formación de grandes vesículas llenas de viriones que circulan libremente por la hemolinfa del insecto infectado (Caballero & Williams, 2008).

El ciclo de infección empieza por el mantenimiento y la diseminación de las partículas virales en el insecto infectado, seguido de la transmisión a nuevos hospederos a través de hembras de avispas parasitoides que contaminan su ovipositor al introducirlo en las larvas infectadas. Después, estas hembras contaminadas continúan diseminando el virus horizontalmente a nuevos hospederos, con una eficiencia del 80 % (Bideshi et al., 2010). Dicho mecanismo es muy eficiente en campo, por lo que estos virus pueden ser un importante componente del complejo de enemigos naturales en poblaciones de lepidópteros plaga. Sin embargo, su lenta progresión y la ausencia de síntomas de infección viral de fácil reconocimiento han limitado su uso como bioinsecticidas (Caballero & Williams, 2008).

Iridoviridae

Los iridovirus infectan solamente animales poiquilotermos: peces, anfibios y reptiles (dentro de los vertebrados), además de insectos, crustáceos y moluscos (en los invertebrados) (Williams, Barbosa-Solomieu, & Chinchar, 2005). La familia Iridoviridae se divide en dos subfamilias (International Committee on Taxonomy of Viruses [ICTV], 2016; Williams & Ward, 2010), de las cuales, en la subfamilia Betairidoviridae,

se encuentra el género *Iridovirus* que es específico de invertebrados (sobre todo insectos), y el género *Chloriridovirus*, que infecta dípteros (mosquitos). Estos virus no forman cuerpos de inclusión (CI) y sus viriones están envueltos (Del Rincón & Ibarra, 2011). Son virus DNA de doble cadena, con una partícula viral de forma icosaédrica y tamaño entre 125 a 300 nm, que tienen la particularidad de presentar iridiscencia debido al arreglo cristalino de los viriones en el citoplasma de las células infectadas. Esta iridiscencia es evidenciada en los insectos enfermos, que pueden presentar diferentes colores (violeta, azul, naranja o verde). El mecanismo de acción es por ingestión. Una vez las partículas virales son ingeridas por el hospedero, el virus se replica en el cuerpo graso de los insectos, aunque también pueden encontrarse en el citoplasma de las células sanguíneas epidérmicas y en el tejido embrionario (Rodríguez, Salas, & Viñuela, 1992).

Se han aislado virus iridiscentes en mosquitos como *Aedes taeniorhynchus*, con el cual se hicieron experimentos de transmisión que demostraron que provocaba mortalidad en las larvas y que podía ser transmitido verticalmente por una generación (Linley & Nielsen, 1968). Sin embargo, los porcentajes de mortalidad producidos por estos virus son bajos (alrededor de 11 %), pero las infecciones persistentes afectan de forma significativa la eficacia biológica del insecto hospedero y reducen la fecundidad entre un 22 y un 40 %. Los iridovirus parecen ser un factor importante de mortalidad en las poblaciones naturales de invertebrados (Williams et al., 2005), aunque no se ha establecido su importancia en la regulación de las poblaciones de insectos y no se consideran con gran potencial en el control biológico (Williams & Ward, 2010).

Baculoviridae

La familia Baculoviridae es la más numerosa y ampliamente estudiada de todos los grupos de virus patógenos de insectos y han sido exitosamente utilizados para el control de insectos de importancia agrícola (Kelly, 1982; Moscardi, 1999).

Estos virus tienen una molécula de ADN circular superenrollado, de tamaño entre 80 y 180 kilobases, envuelta por una capa de proteínas compuestas de subunidades denominadas *capsómeros* que forman la cápside. Una o más nucleocápsides (NC) alargadas (30-60 nm de diámetro y 250-300 nm de largo) están envueltas por una membrana generalmente formada por material celular del hospedero. Esta envoltura y la nucleocápside constituyen el virión, que es la unidad infectiva del virus. Los viriones tienen forma bacilar y están inmovilizados en una matriz de proteína formando la estructura denominada *cuerpo de inclusión* (CI) (Caballero & Williams, 2008).

Esta familia consta de cuatro géneros asignados de acuerdo con características moleculares, biológicas y estructurales, principalmente de los CI: los alphabaculovirus correspondientes a nucleopoliedrovirus (NPV) aislados de lepidópteros, los betabaculovirus o granulovirus (GV) aislados de lepidópteros, los gammabaculovirus o NPV aislados de himenópteros y los deltabaculovirus o NPV aislados de dípteros (ICTV, 2016; Jehle et al., 2006; Miele, Garavaglia, Belaich, & Ghiringhelli, 2011).

Los NPV se caracterizan por poseer cuerpos de inclusión (CI) de forma poliédrica o irregular, con tamaños variables entre 0,1 y 15 µm. Cada CI posee múltiples viriones (figura 7.2a) que, a su vez, pueden contener una o varias nucleocápsides, por lo que se clasifican en NPV-S (simples) o NPV-M (múltiples) (Caballero, López-Feber, & Williams, 2001; Kelly, 1982). Los CI están constituidos por una matriz proteica cristalina cuyo componente principal es la poliedrina (con un peso molecular entre 25-33 kDa). Estos virus se replican en el núcleo de las células de varios tejidos (poliorganotrópicos), incluida la epidermis de las larvas infectas, en donde se producen millones de partículas virales que son diseminadas al medio después de la muerte del insecto. Por su parte, los GV se caracterizan por su forma granular, pequeños CI constituidos por una proteína mayoritaria denominada *granulina*, con tamaños que oscilan entre los 160-300 nm de ancho por 300-500 nm de largo y, en la mayoría de los casos, con viriones de tipo simple, los cuales están incluidos individualmente en los CI (figura 7.2b) (Possee et al. 2010). Su patología depende del tipo de virus y se han identificado tres tipos de infección. En el tipo 1, como es el caso del GV de *Trichoplusia ni*, el virus invade al hospedero a través del epitelio del intestino medio, pero posteriormente solo infecta el tejido del

cuerpo graso (Federici, 1993). Debido a que no se atacan otros tejidos importantes, la larva puede vivir más tiempo, mantener su apetito y crecer más, pero cambia su estado a letárgico uno o dos días antes de su muerte. Después de la infección, las larvas se hinchan y desarrollan un aspecto cremoso de color blanco debido a la acumulación, en el cuerpo graso, de un gran número de células infectadas llenas de gránulos virales. Normalmente no hay licuefacción del tejido, ya que la epidermis no se encuentra infectada.

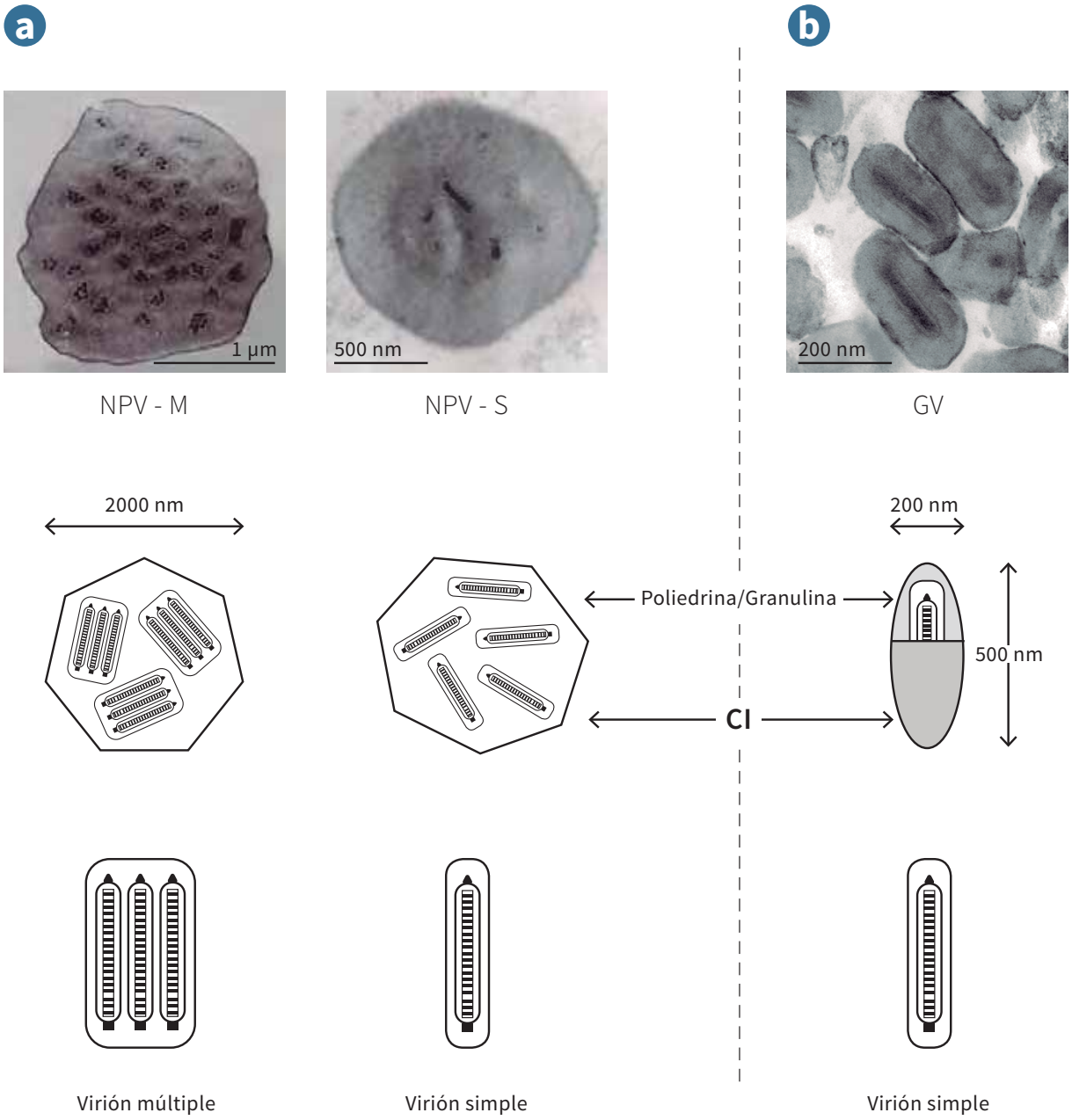


Figura 7.2. Micrografías y representación esquemática de la morfología de los cuerpos de inclusión de los géneros de la familia Baculoviridae. a. Cuerpos de inclusión de nucleopoliedrovirus; b. Cuerpos de inclusión de granulovirus.

Fuente: Barrera (2013)

La infección tipo 2, como es el caso del GV de *Cryptophlebia leucotreta*, en general, es similar a la de los NPV de lepidópteros. Este tipo de infección es más grave que la causada por el granulovirus tipo 1 y, por lo general, requiere solo de cinco a diez días para causar la muerte; después el cuerpo de la larva se licúa (Miller, 1997). El tercer tipo de enfermedad (GV tipo 3) es exclusiva del granulovirus de *Harrisia brillians* y se caracteriza por el tropismo tisular restringido al epitelio del intestino medio, la producción de viriones y cuerpos de inclusión tanto en larvas como en adultos y la muerte del insecto de cuatro a siete días después de la infección (McWilliam, 2006).

Modo de acción

El ciclo de infección de los baculovirus es un proceso complejo que involucra diferentes etapas (figura 7.3). El proceso da inicio con las partículas virales que se encuentran en el ambiente en forma de cuerpos de inclusión (CI) y son consumidas por las larvas del insecto blanco. Una vez ingeridos, los CI se disuelven en el intestino medio del insecto debido al pH alcalino (9-11) que solubiliza las proteínas y libera los virus derivados de los cuerpos de inclusión denominados ODV (debido su nombre en inglés, *occlusion derived virus*).

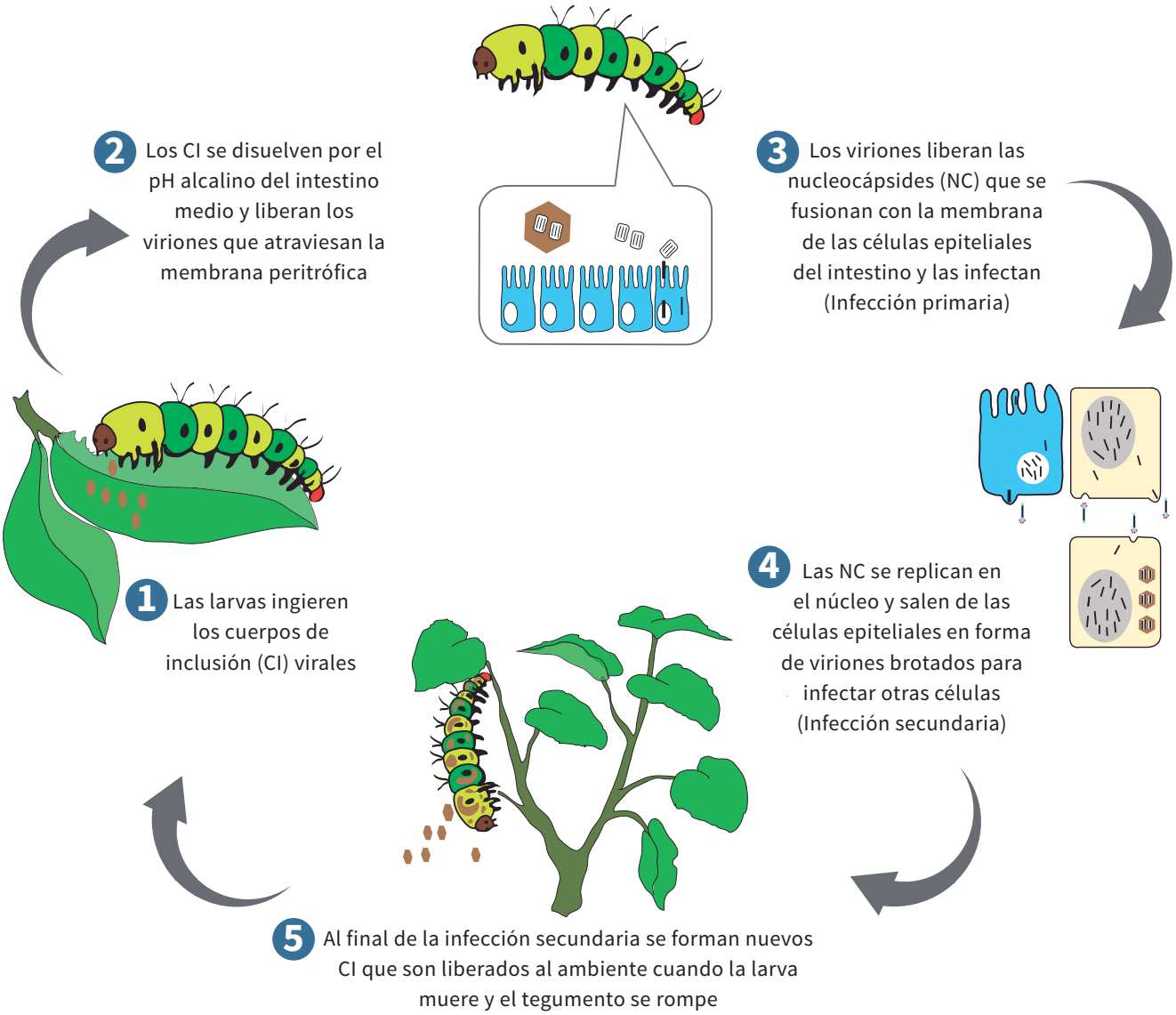


Figura 7.3. Ciclo de infección de los baculovirus.

Fuente: Elaboración propia

Posteriormente, los viriones atraviesan la membrana peritrófica del intestino y se unen por fusión a las microvellosidades de las células epiteliales del intestino medio para, de esta forma, ingresar a las células (Rohrmann, 2011).

Las nucleocápsides entran en las células, penetran en el citoplasma y se dirigen al núcleo, donde comienza la transcripción de los genes virales y se genera la nueva progenie viral. Durante este proceso se generan alteraciones fisiológicas en el insecto, las cuales favorecen el desarrollo de la infección (Caballero et al. 2001). Las nuevas nucleocápsides son después transportadas hasta la membrana celular y allí brotan al espacio extracelular, pero al atravesar la membrana celular adquieren una envoltura a partir de esta, la cual forma los viriones brotados o *budded virus* (BV). Los BV desarrollan la infección secundaria, allí los viriones circulan por la hemolinfa infectando otros tejidos y órganos susceptibles, como los hemocitos, el cuerpo graso y la tráquea. Los estados finales de la infección se caracterizan por la oclusión o encapsulación de la nucleocápside en una matriz proteica de poliedrina o granulina que forma nuevamente los CI. Finalmente la larva muere y, dependiendo del tipo de virus, los CI pueden ser liberados al ambiente debido a la licuefacción de la larva infectada y la ruptura del tegumento, lo que da inicio a un nuevo ciclo de infección (Rohrmann, 2011).

Las larvas infectadas se tornan lentas en sus movimientos, dejan de alimentarse y se movilizan a las partes superiores de las plantas, donde mueren y pueden encontrarse pendiendo con la parte cefálica hacia abajo y adheridas de las pseudopatas anales al tejido vegetal (figura 7.4) (Ibarra & Del Rincón, 1998).

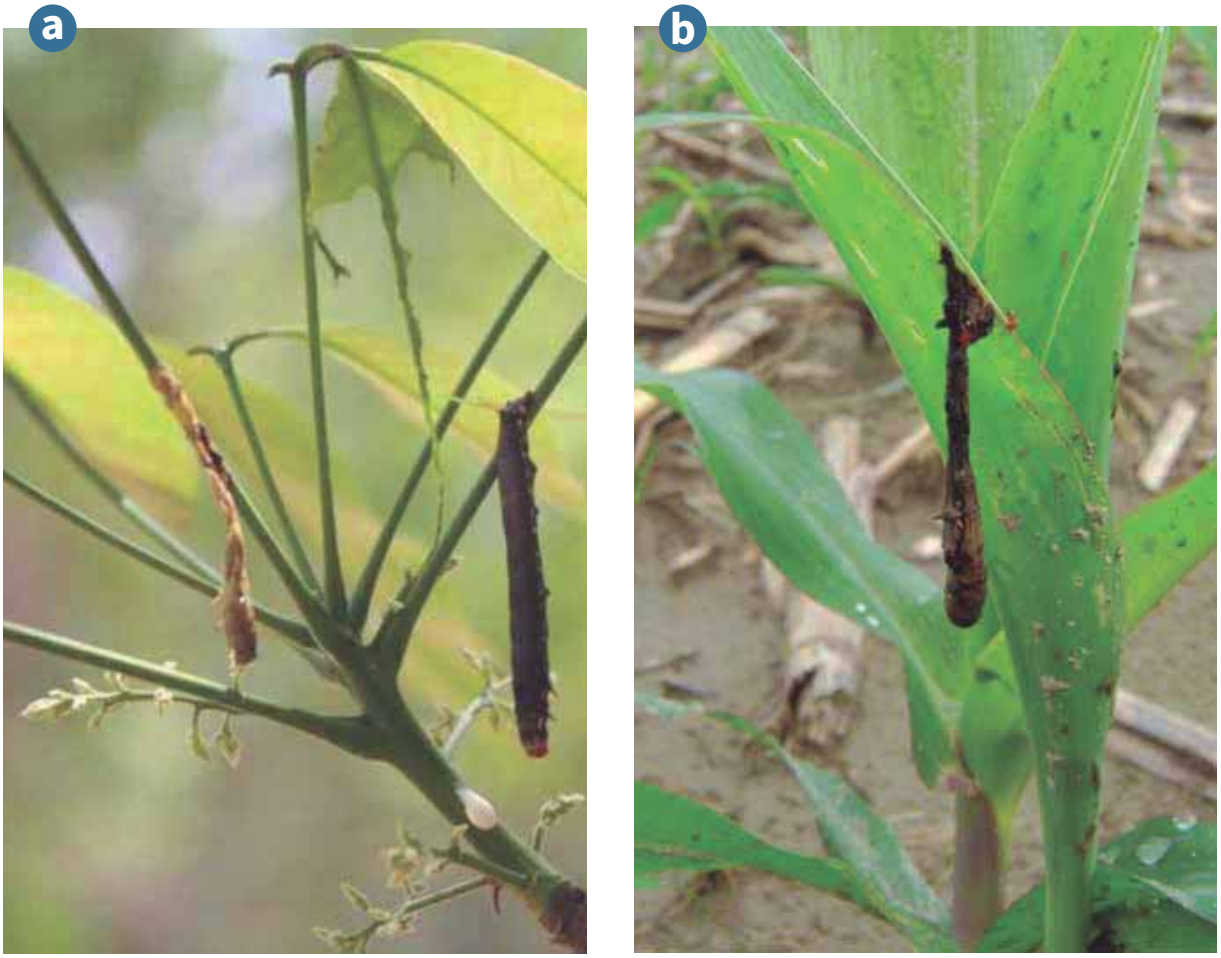


Foto: Grupo de Investigación en Control Biológico de Corpoica.

Figura 7.4. Larvas muertas por infección con baculovirus en campo. a. Larva de *Erinnyis ello* infectada con EeGV; b. Larva de *Spodoptera frugiperda* infectada con SfNPV.

La demostración de la capacidad de los baculovirus (poliedrosis nucleares y granulosis) en el control de insectos plaga data de la década de 1940, pero hubo que esperar hasta 1973, tras nueve años de experimentación, para obtener el primer producto comercial: Viron/H. Se trata del virus *Helicoverpa zea* nucleopolyhedrovirus, HzNPV (Falcon, 1976), producto que fue comercializado después bajo el nombre de Elcar™.

Los aspectos de especificidad y seguridad de los baculovirus han sido los argumentos fundamentales que permitieron el registro de estos virus. Gröner (1986) recapitula los trabajos en este tema y concluye que los baculovirus no son ni tóxicos, ni teratogénicos, ni mutagénicos. A pesar de estas ventajas, en 1984 solo un producto comercial estaba disponible en el mercado (Elcar™) y otros tres fueron producidos en masa por agencias del gobierno de los Estados Unidos (U. S. Forest Services) para el control de insectos plagas en bosques: *Lymantria dispar*, *Orgya pseudotsugata* y *Neodiprion sertifer*, respectivamente.

Todos los bioinsecticidas a base de baculovirus se producen *in vivo*, en el huésped original o en huéspedes heterólogos. Se ha intentado producir baculovirus *in vitro*, en cultivos celulares, pero hay problemas de factibilidad económica (Del Rincón & Ibarra, 2011) y de producción de partículas defectivas interferentes (Giri, Feiss, Bonning, & Murhammer, 2012), que podrían asociarse con la pérdida de la capacidad de infección oral.

Hoy en día se usan insecticidas a base de baculovirus en varios agrosistemas, en superficies importantes, que sean de bosque (LdMNPV, NeseNPV), de frutales (CpGV) o cultivos de ciclo corto (PhopGV, SfMNPV) (ver ejemplos en la última parte de este capítulo).

Poxviridae

Los virus de esta familia son virus ADN de doble cadena que comprenden dos subfamilias: la Entomopoxvirinae y la Chordopoxvirinae. La primera de ellas comprende a los entomopoxvirus patógenos de insectos, que se caracterizan por formar CI ovoidales, conocidos como *esferoides*, que contienen viriones de tipo esferoide que se replican en el citoplasma de las células infectadas y utilizan los hemocitos para diseminarse por todos los tejidos de la larva (Del Rincón, 2010). Estos CI les proveen protección de ciertas condiciones ambientales como la luz UV, el calor y la desecación, entre otros. Los CI se disuelven en el intestino medio por el pH alcalino y por la acción de proteasas, liberando las partículas infectivas que ingresan a las células intestinales por fusión y que se replican en el citoplasma de las mismas. Al final del proceso infeccioso se producen nuevas partículas virales que infectan otros tejidos susceptibles y se convierten en la fuente de nuevas infecciones (Perera, Li, Pavlik, & Arif, 2010).

Las larvas de lepidópteros con infección viral se hinchan y toman un color blancuzco o lechoso. La muerte puede ocurrir entre 10 y hasta 70 días después de haberse iniciado la infección, dependiendo de diferentes factores como el tipo de virus, la dosis, el tamaño y la edad de la larva, y la temperatura, entre otros. En coleópteros, el desarrollo de la infección puede ser aún más lento. Los EPV aislados de algunas especies de insectos plaga para los que no se han encontrado baculovirus patógenos tienen alto potencial para el desarrollo de bioplaguicidas, y su formulación sería estratégica para mejorar la virulencia y reducir el tiempo letal (Caballero & Williams, 2008).

Polydnaviridae

Los virus de la familia Polydnaviridae solo han sido aislados de especies de parasitoides bracónidos (Bracovirus) e ichneumónidos (Ichnovirus) (ICTV, 2016). Los polidnavirus (PDV) se caracterizan por ser virus simbióticos ADN de doble cadena, de genoma segmentado (Federici & Bigot, 2003; Strand, 2010). Estos virus se encuentran integrados en el genoma de los cromosomas de la avispa y solo se separan cuando el insecto está a punto de alcanzar el estado adulto. Posteriormente, cuando las avispas inyectan los huevos con el ovopositor en el hospedero, los virus son inyectados también y desarrollan un papel importante, suprimiendo el sistema inmune para que los hemocitos (granulocitos y plasmatocitos) no encapsulen los huevos o las larvas de la avispa. Tal función se da mediante la alteración de las propiedades adhesivas de las células del sistema inmune o por la lisis de las

mismas como consecuencia de la replicación viral en su interior (Rodríguez-Pérez & Beckage, 2006).

El proceso de replicación del PDV se lleva a cabo únicamente en el ovario de la avispa. En el momento en que el parasitoide emerge del hospedero como una larva de tercer estadio, un alto número de viriones se encuentran en el núcleo de las células del cáliz del ovario. Cuando las células se rompen, los viriones son liberados en el lumen y el fluido del cáliz se llena de viriones (Rodríguez-Pérez & Beckage, 2006). Cuando la hembra del parasitoide oviposita en un insecto hospedero, el virus es transferido junto con los huevos para suprimir el sistema inmune del huésped y generar alteraciones en el crecimiento y desarrollo de este, lo que favorecen la supervivencia del huevo de la larva del parasitoide y la progenie viral se desarrolla dentro del hemocele del hospedero (Strand, 2010). En las larvas de los hospederos infectadas con un polidnavirus se disminuye el crecimiento y se observa una alteración de las proteínas, los aminoácidos y las hormonas de la hemolinfa, así como de los procesos de melanización y encapsulación (Shelby & Webb, 1999).

Reoviridae

La familia Reoviridae está compuesta por virus ARN de doble cadena que se caracterizan por tener viriones con forma icosaédrica incluidos dentro de cuerpos de inclusión poliedrales (Renault, Stasiak, Federici, & Bigot, 2005). Los reovirus de insectos se clasifican dentro de las dos subfamilias: Sedoreovirinae y Spinareovirinae. Dentro de la subfamilia Spinareovirinae se encuentran los géneros *Cypovirus* e *Idnoreovirus*, entre otros; los primeros son los más estudiados y de mayor interés (Caballero & Williams, 2008). Los *Cypovirus*, que infectan exclusivamente lepidópteros, se caracterizan por sus partículas infecciosas, que están incluidas dentro de un CI que tiene forma poliedral similar a la de los NPV, pero se diferencian de estos porque su morfogénesis ocurre en el citoplasma y no en el núcleo de las células infectadas, por lo cual se les denomina *virus de la poliedrosis citoplasmática* (Caballero & Williams, 2008; Mori & Metcalf, 2010). Las partículas virales ingresan por vía oral e infectan células epiteliales del intestino medio de los insectos, donde producen nuevos viriones y cuerpos de inclusión que se excretan en las heces (Renault et al., 2005). La progresión de la enfermedad puede ser bastante lenta, aunque normalmente es fatal. Además de diseminarse por las heces, se presenta contaminación de huevos o transmisión transovárica (Caballero & Williams, 2008). Entre 1956 y 1960 se utilizó un virus de poliedrosis citoplasmática (*Cypovirus, Reovirus*) para el control exitoso de la procesionaria del pino *Thaumetopoea pityocampa* en el Mont Ventoux (Francia). Estos ensayos fueron posibles gracias a una producción del virus en larvas sobre pinos. El virus fue formulado como polvo seco y distribuido sobre los arboles con un helicóptero (Grison, 1969; Grison, Vago, & Maury, 1959). Después de estos trabajos no hubo más referencias hasta la publicación del trabajo de Ince, Demir, Demirbag y Nalcacioglu (2007), quienes reportaron un virus de poliedrosis citoplasmática en bosques de Turquía.

Parvoviridae (densovirus)

Los densovirus son virus no ocluidos, con ADN de cadena sencilla y viriones no envueltos de forma icosaédrica con diámetro entre 16 y 22 nm (Caballero & Williams, 2008). Los densovirus tienen una elevada virulencia e infectividad para algunas de sus especies huéspedes.

En un trabajo pionero, Kurstak, Belloncik y Brailovsky (1969) observaron cambios en las células de la línea celular L de ratón tras la infección con el densovirus de *Galleria mellonella* (L). Estas células presentaron cambios fisiológicos y presencia de antígenos. Sin embargo, a partir de este cultivo celular no fue posible obtener de nuevo la patología característica en larvas del hospedero original. Mucho más reciente, El-Far, Li, Fédière, Abol-Ela y Tijssen (2004) indicaron la ausencia de replicación en células de vertebrados por un densovirus del lepidóptero *Mythimna loreyi*. Estos trabajos modernos refuerzan la idea de una utilización sin riesgo de densovirus en el control de insectos plaga; es así como se ha propuesto el uso de densovirus para el control de mosquitos (Carlson, Suchman, & Buchatsky, 2006) y de lepidópteros (Tijssen & Bergoin, 1995).

Ejemplos de desarrollo y uso de baculovirus como bioinsecticidas

Actualmente, hay un número importante de bioplaguicidas a base de baculovirus registrados, comercializados y utilizados en todo el mundo, además de aquellos en proceso de investigación y desarrollo. En América Latina, se destacan las investigaciones y desarrollos adelantados en Colombia y Brasil, algunos de los cuales serán descritos a continuación junto con un ejemplo en Europa y Estados Unidos.

Granulovirus de *Phthorimaea operculella* para el control de la polilla guatemalteca de la papa en Colombia

La polilla guatemalteca de la papa *Tecia solanivora* (Povolny 1973) (Lepidoptera: Gelechiidae) es el insecto plaga de mayor impacto económico en el cultivo de papa en Colombia y otros países productores en América. La plaga es originaria de Centro América y fue descrita por primera vez en Guatemala en 1956. Posteriormente fue reportada en Costa Rica en 1970, en Panamá en 1973, en Venezuela en 1983 y en Colombia en 1985 (Vargas, Rubio, & López-Ávila, 2004). Este insecto desplaza o coexiste con la palomilla de la papa, *Phthorimaea operculella* (Zeller, 1873) (Lepidoptera: Gelechiidae), tradicionalmente presente en este y otros cultivos. *T. solanivora* presenta un ciclo de vida holometábolo, es decir, que pasa por los estadios de huevo, larva, pupa y adulto, el cual tiene una duración de 65 a 90 días dependiendo de las condiciones ambientales (López-Ávila & Espitia-Malagón, 2000).

Las larvas del insecto forman galerías en los tubérculos que deterioran su apariencia (figura 7.5) y permiten la entrada y el desarrollo de hongos y bacterias que hacen que dichos productos no se puedan utilizar para semilla ni para consumo humano o animal. En los lugares donde se encuentra la plaga se han reportado pérdidas de hasta el 100 %, tanto en semilla almacenada como en tubérculos en campo (Villanueva & Saldamando, 2013). Sin embargo, existen aislados de granulovirus activos contra *P. operculella* (PhopGV), con eficacias superiores al 98 % (Pérez, Puerta, Bustillo, & Madrigal, 1988), que también presentan actividad insecticida sobre la polilla guatemalteca (Cuartas, Villamizar, Espinel, & Cotes, 2009). Es así como la producción industrial de uno de estos aislados proveniente del Perú fue desarrollada por Corpoica en el 2000 para responder a la emergencia sanitaria causada por la plaga. El proceso de producción viral *in vivo* y formulación fue estandarizado y escalado en una planta piloto con capacidad de producción de siete toneladas al mes del bioplaguicida. Este fue formulado como un polvo para aplicación por vía seca y protección de tubérculos en almacenamiento, presenta una eficacia superior al 90 % (Villamizar, Zeddam, Espinel, & Cotes, 2005) y una vida útil de 24 meses a temperatura ambiente. Este producto es actualmente el único a base de baculovirus registrado ante el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) en Colombia (ICA, 2017). La dosis de aplicación es de 2,5 kg por tonelada de tubérculos y el registro comercial permite su uso tanto para protección de semilla como de papa para consumo humano (Resolución 004921, 2011).

Posteriormente, en el 2004, Corpoica conformó una colección de granulovirus nativos aislados de larvas de *T. solanivora* colectadas en diferentes zonas productoras de papa en Colombia, los cuales estuvieran posiblemente mejor adaptados a dicho hospedero. De esta colección se seleccionó el aislado VG003 por presentar la mayor actividad biocontroladora contra *T. solanivora* (Gómez, Villamizar, Espinel, & Cotes, 2009). Este aislado viral es un variante geográfico de PhopGV que se adaptó de forma natural al nuevo hospedero (Espinel-Correal et al., 2010). Después de su caracterización biológica y molecular, este nuevo aislado colombiano fue formulado como un concentrado emulsionable (EC) para su aplicación por aspersión en condiciones de campo, utilizando también eficientes estrategias de fotoprotección frente a la radiación ultravioleta (Chaparro, Espinel, Cotes, & Villamizar, 2010); su evaluación en condiciones semicontroladas evidenció una eficacia superior al 80 % (Gómez, Moreno, Vega, Cotes, & Villamizar, 2011; Gómez et al., 2009). Una nueva formulación

en polvo mojable fue desarrollada recientemente con este aislamiento, utilizando el proceso de encapsulación desarrollado por Villamizar, Barrera, Cotes y Martínez (2010) con algunas modificaciones; este bioinsumo se encuentra actualmente en proceso de escalamiento y registro comercial en Colombia. Considerando que esta cepa también ha demostrado patogenicidad sobre larvas del minador del tomate *Tuta absoluta* (figura 7.5) (Gómez et al., 2017) y la palomilla de la papa *P. operculella* (Espinel-Correal et al., 2010), este bioplaguicida podría tener una gran aplicabilidad en diferentes cultivos donde se encuentran independientemente o coexisten estas tres polillas plaga.

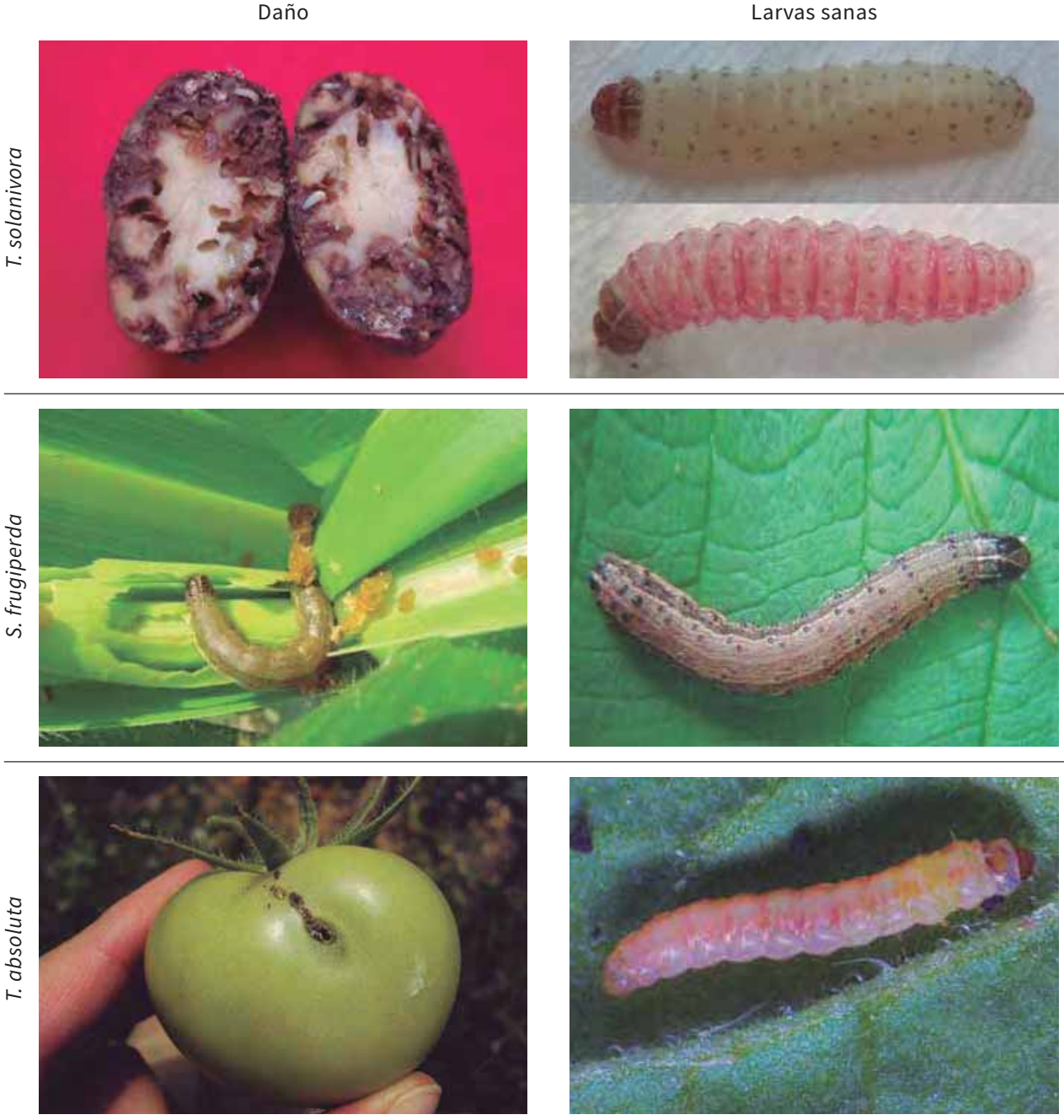


Figura 7.5. Daño causado, larvas sanas y larvas con infección viral de *T. solanivora*, *S. frugiperda* y *T. absoluta*.

Nucleopoliedrovirus de *Spodoptera frugiperda* para el control del gusano cogollero del maíz en Colombia

El gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) es un insecto polífago de amplia distribución geográfica, el cual ha sido reportado a nivel mundial como insecto plaga de más de 23 especies vegetales, entre las que se destacan el maíz, el sorgo, el algodón, la soya y el arroz, entre otras (García, Mosquera, Vargas, & Rojas, 2002; Zenner, Arévalo, & Mejía, 2007). Este insecto desarrolla una metamorfosis completa pasando por los estadios de huevo, larva, pupa y adulto, con normalmente seis estadios larvales y un ciclo con una duración de entre 30 y 90 días, dependiendo principalmente de la temperatura. El único estadio de la plaga que presenta importancia económica es el de larva. Las larvas de *S. frugiperda* tienen comportamiento de tierreras, cortadoras, perforadoras y cogolleras (figura 7.5), según el momento de desarrollo (Negrete & Morales, 2003). Es así como puede ocasionar la defoliación de las plantas jóvenes, retraso en el crecimiento de las plantas afectadas, disminución de la capacidad fotosintética y daño en los estigmas durante la floración, lo cual reduce la polinización, ocasiona la muerte de las plantas y causa reducciones importantes en los rendimientos del cultivo (García et al., 2002; Negrete & Morales, 2003).

Infección viral

Fotos: Grupo de Investigación en Control Biológico de Corpoica.

Los virus de la familia Baculoviridae (baculovirus), específicamente del género *Alphabaculovirus* (nucleopoliedrovirus), han demostrado alta eficiencia y especificidad para el control de este insecto. El nucleopoliedrovirus de *S. frugiperda* (SfNPV) ha sido aislado en varios países como Estados Unidos, Nicaragua y Argentina, y ha demostrado resultados promisorios para su control (Ordóñez-García et al., 2015). En Brasil, a partir de un producto desarrollado con un aislamiento nativo de SfNPV, se aplicaron en aproximadamente 20.000 ha/año para el control de la plaga en cultivos de maíz; sin embargo, la producción que era realizada por la Empresa Brasilera de Investigación Agropecuaria (Embrapa) fue descontinuada por los altos costos y las dificultades tecnológicas involucradas en la producción (Moscardi, 1999; Moscardi, de Souza, de Castro, Moscardi, & Szewczyk, 2011). Hasta el momento no existe ningún producto a base de este baculovirus registrado para el control del cogollero del maíz.

En Colombia, la investigación para el uso de este virus como bioinsumo inició en el 2008 con la búsqueda de aislamientos nativos de SfNPV y su posterior desarrollo como un bioplaguicida estable ante condiciones ambientales, y eficiente para controlar la plaga en condiciones de campo. En dicho trabajo se encontraron tres aislamientos de SfNPV que fueron caracterizados morfológica, molecular y biológicamente. Se seleccionó el aislamiento NPV003 proveniente de Córdoba por ser el único en el cual se observaron larvas con sintomatología de infección viral (figura 7.5) en condiciones de campo. El análisis genómico reveló que este virus tiene 145 *open reading frames* (ORF), dos de los cuales no están presentes en los otros genotipos de SfNPV secuenciados hasta el momento y que pudieron haber sido adquiridos por un proceso de recombinación homóloga entre el NPV de *S. frugiperda* y *S. litura*, fenómeno evolutivo interesante y único en esta especie viral (Barrera, Belaich, Patarroyo, Villamizar, & Ghiringhelli, 2015).

El virus seleccionado fue formulado empleando un proceso de microencapsulación que fotoestabilizó eficientemente las partículas virales. La formulación fue evaluada en plantas de maíz bajo condiciones de casa de malla y campo en dos localidades del departamento del Meta y se seleccionaron 1,5 x 10^{12} ci/ha como la concentración mínima efectiva, con una eficacia superior al 60 % para controlar la plaga (Gómez, Guevara, Cuartas, Espinel, & Villamizar, 2013). En los experimentos en campo se demostró también que la aplicación del bioplaguicida favorece la diversidad y la riqueza específica de la entomofauna benéfica asociada al cultivo, lo que tiene un efecto sinérgico en el manejo de la población del insecto plaga (Barrera Cubillos, Gómez-Valderrama, & Villamizar Rivero, 2017; Gómez et al., 2013). Actualmente este producto se encuentra en proceso de registro para su comercialización en Colombia con el nombre comercial Spobiol®, y se están desarrollando negociaciones con empresas multinacionales para su futura producción y comercialización a nivel mundial.

Granulovirus de *Erinnyis ello* para el control del gusano cachón en cultivos de caucho en Colombia

Erinnyis ello (Lepidotera: Sphingidae) (Linnaeaus, 1758) o gusano cachón es una plaga con amplia distribución en zonas tropicales y subtropicales de América. Este insecto es polífago y con un amplio rango de hospederos que incluye más de 35 especies de plantas, algunas de gran importancia económica como el tomate, el caucho, la yuca, el tabaco, la papaya y el algodón (Pratissoli, Zanúncio, Barros, & Oliveira, 2002). Es un insecto holometábolo cuyo ciclo de vida comprende desde el huevo hasta el estado adulto, con una duración de 32 a 49 días, dependiendo de las condiciones ambientales (Bellotti et al., 1989).

El gusano cachón se destaca entre los insectos plaga de mayor importancia económica para el cultivo del caucho, puesto que afecta viveros, jardines clonales y plantaciones. Por su alta capacidad de consumo, cuando hay presencia de altas poblaciones puede defoliar completamente los árboles de una plantación (Alarcón, Arévalo, Díaz, Galindo, & Rosero, 2012; León, Beltrán, Campos, & Juan, 2010). Su control se realiza principalmente mediante el uso de insecticidas de síntesis química, con ingredientes activos como carbamatos (carbaril), organofosforados (monocrotofós), diazoles (diazinón), benzoylureas (diflubenzuron) y piretroides (deltametrina y beta-ciflutrina), de categorías toxicológicas que van desde moderadamente tóxicos (III) hasta extremadamente tóxicos (I) (Martínez et al., 2013).

Entre los organismos entomopatógenos que afectan este insecto se destaca el granulovirus de *E. ello* (EeGV), que presenta alta especificidad y virulencia contra larvas de esta plaga, con eficacias superiores al 80 % (Bellotti, Arias, & Guzmán, 1992; Gómez et al., 2016; Schmitt, 1988). En este sentido, Corpoica cuenta con un aislamiento colombiano de granulovirus de *E. ello* (EeGV VG010) (Barrera, Gómez, Cuartas, León, & Villamizar Rivero, 2014). Este aislamiento sin formular fue evaluado en cultivos de caucho, con resultados promisorios para el control de larvas de la plaga y eficacias superiores al 70 % (León et al., 2010). Al formularlo, mantuvo y mejoró las características del virus asegurando su persistencia por más de siete

días en condiciones de campo y presentó una vida útil de 15 meses sin necesidad de refrigeración. Esta formulación del virus presenta compatibilidad con los principales agroquímicos empleados en el cultivo del caucho (Gómez-Valderrama et al., 2014).

En cuanto a la actividad biológica, este bioplaguicida presenta una eficacia del 80 % sobre larvas del segundo y cuarto instar con una concentración mínima efectiva de 6,7 x 10^5 CI/ml en casa de malla, en condiciones de campo en un jardín clonal y en plantación comercial (Gómez, Cuartas, Ruiz, Villamizar, & León, 2015).

Actualmente, este bioinsumo se encuentra en proceso de escalamiento y registro comercial en Colombia con el nombre de Erytec®.

Granulovirus de *Cydia pomonella* para el control de la polilla del manzano en Europa y Estados Unidos

La Carpocapsa *Cydia pomonella* (Linnaeus) (Lepidoptera: Tortricidae), conocida también como la "polilla de la pera y la manzana", es la principal plaga de manzanas, peras y ocasionalmente del nogal en las regiones templadas del mundo. Este insecto barrena los frutos al punto de dejarlos inservibles para el mercado y puede alcanzar varias generaciones durante la estación (Arthurs & Lacey, 2004). Debido a que los cultivadores deben tener baja tolerancia al daño en sus cultivos (1 % de incidencia), recurren al uso rutinario de insecticidas de amplio espectro con el fin de mantener esta plaga en niveles económicos aceptables. Esto ocasiona problemas, como la obligación de mantener los periodos de carencia, la residualidad de los productos, la afectación de insectos benéficos y la aparición de resistencia (Arthurs, Lacey, & Fritts, 2005). Como alternativa biológica se ha utilizado el granulovirus de *Cydia pomonella* (CpGV), por su alta especificidad y su gran capacidad patogénica. Varios productos basados en CpGV son usados y comercializados a nivel mundial, tanto en sistemas de producción biológicos como dentro del manejo integrado de este insecto. Se estima que se ha utilizado en más de 100.000 hectáreas en Europa, pero también es ampliamente usado en Estados Unidos, Canadá y Australia (Eberle & Jehle, 2006). Sin embargo, en el 2003 se observó que el CpGV estaba fallando para controlar el daño en manzana, y comenzó a sospecharse resistencia en Alemania y en Francia, y luego en Italia, Holanda y Suiza (Asser-Kaiser et al., 2007). Este fue el primer caso de resistencia de un insecto a un virus observado en poblaciones de campo, y se convirtió en un asunto de gran importancia debido a la capacidad de dispersión de poblaciones resistentes en los cultivos europeos. El primer aislamiento de CpGV fue encontrado en México (CpGV-M) y todas las formulaciones utilizadas en Europa se derivan de este, lo que puede facilitar la generación de resistencia debido a la baja variabilidad genotípica (Berling et al., 2009). Bajo condiciones controladas, se han encontrado poblaciones de la Carpocapsa desde 100 a 60.000 veces más resistentes (Asser-Kaiser et al., 2007; Berling et al., 2009). Hay casos de cultivos que han recibido aplicaciones de CpGV por 20 años y no han generado resistencia en las poblaciones de insectos, mientras que, en cultivos tratados con el virus por pocos años, se evidenciaron poblaciones con bajas susceptibilidades al entomopatógeno. Las causas de esta disparidad de respuesta no han sido establecidas (Eberle & Jehle, 2006). Esta resistencia es monogénica, dominante y ligada al sexo. Además, es específica para el genotipo contenido en el CpGV-M, lo cual quiere decir que los insectos resistentes pueden ser controlados por otros genotipos del CpGV (Asser-Kaiser et al., 2007; Berling et al., 2009). Actualmente, varios productos que contienen otros variantes genotípicos de CpGV han sido homologados.

Nucleopoliedrovirus de *Anticarsia gemmatalis* para el control de la oruga de las leguminosas en Brasil

La oruga de las leguminosas *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) es el principal insecto defoliador de la soya y se encuentra distribuido desde el norte de Argentina hasta el sudoeste de los Estados Unidos (Sosa-Gómez, Moscardi, Santos, Alves, & Alves, 2008). En Brasil acostumbra atacar los cultivos a partir de noviembre en las regiones del norte de Paraná y en diciembre y enero al sur del país, y puede causar un 100 % de defoliación (Hoffmann-Campo et al., 2000). En Brasil es la responsable de la mayor cantidad de insecticidas químicos aplicados anualmente (Moscardi, 1989), y se requiere un promedio de dos aplicaciones de insecticidas químicos por cosecha en 20 millones de hectáreas aproximadamente. Esto ocasionaba desequilibrios importantes debido a la reducción de enemigos naturales, lo cual permite la resurgencia de esta plaga o la ocurrencia de plagas secundarias. Esto sin mencionar las afectaciones ambientales o de salud que podía ocasionar el uso indiscriminado de insecticidas de amplio espectro (Sosa-Gómez et al., 2008).

Una opción exitosa para el manejo de este insecto fue el uso del nucleopoliedrovirus de *Anticarsia gemmatalis* (AgMNPV), que es un ejemplo de la interacción entre las instituciones oficiales, la empresa privada y los agricultores. El programa fue implementado en Brasil por Embrapa Soja, a comienzos de la década de los ochenta, a partir de un aislamiento de AgMNPV proveniente de Londrina (Paraná) en 1979 (Moscardi, 1989). Este programa fue implementado conjuntamente con agricultores, y se trataron inicialmente 2.000 hectáreas de soya a nivel de parcelas demostrativas y producción viral en el campo como inóculo necesario para la aplicación en otras parcelas durante el mismo periodo o subsecuentes periodos de siembra (Szewczyk, Hoyos-Carvajal, Paluszek, Skrzecz, De Souza, 2006). El programa se llevó a cabo entre 1982 y 1983 en fincas de productores de Paraná y Rio Grande do Sul y se expandió progresivamente hasta llegar a utilizarse en un millón de hectáreas en el periodo 1989-1990, abarcando otros estados (Sosa-Gómez et al. 2008; Szewczyk et al. 2006). En su fase inicial, el virus era aplicado luego de la maceración y la filtración de larvas mantenidas en colonias con dieta artificial, pero a partir de 1986 se desarrolló una formulación del entomopatógeno consistente en un polvo mojable (WP). A inicios de la década de 1990, Embrapa Soja estableció contratos con cinco empresas privadas para la producción y la comercialización del bioinsecticida (Sosa-Gómez et al., 2008).

El método de producción viral varió, ya que se hizo en su totalidad colectando larvas muertas en campo luego de una aplicación de 3 x 10^{11} CI/ha (el doble de la concentración recomendada). En un solo lugar se podían colectar 600 kg de larvas muertas empleando de 200 a 300 operarios por día. Esta producción en campo podía obtener de 13 a 45 toneladas por año, suficientes para tratar de 650.000 a dos millones de hectáreas (Sosa-Gómez et al., 2008) y convertirse en un negocio rentable, dado que se producían grandes cantidades a bajo costo, (entre un 20 y un 30 % menos que el promedio de insecticidas químicos). Además, proporciona un control efectivo con una aplicación por temporada, mientras que el método químico utiliza dos (Szewczyk et al., 2006).

Aunque para la temporada 2004-2005 el producto fue elaborado y comercializado para el tratamiento de dos millones de hectáreas (10 % del área cultivada en Brasil), el método de producción y colecta en campo debía tener algunas precauciones, como, por ejemplo, cuidar que la colecta fuera solo de larvas con signos y síntomas virales, no colectar larvas de otras especies ni que estuvieran infectadas por hongos entomopatógenos, como *Metarhizium rileyi*. Además, el material colectado se debía congelar a -10 °C con el fin de evitar la proliferación de bacterias saprofitas u otros contaminantes o el rompimiento del tejido como característica propia de la mayoría de NPV (Sosa-Gómez et al., 2008).

Como método de producción masiva en campo abierto, se enfrentaron diferentes retos como que la incidencia anual de los insectos fuera variable en función de factores bióticos y abióticos, con una consecuente variabilidad en la producción y dificultad

en la planificación de una producción continua; esto además de la variabilidad en la calidad del material colectado, que depende del método de colecta y del tratamiento poscolecta (Sosa-Gómez et al., 2008). Posteriormente, la empresa Codetec implementó la producción de este virus con capacidad para tratar hasta dos millones de hectáreas al año. Sin embargo, la producción se descontinuó debido a la baja demanda del producto ocasionada por la masiva adopción, por parte de los agricultores, de paquetes comerciales que combinan insecticidas y herbicidas químicos. Es así como en el 2014 solamente se aplicó este bioplaguicida viral en 200.000 ha (Haase, Sciocco-Cap, & Romanowski, 2015).

Productos en el mercado

Existe un número importante de productos comerciales a base de baculovirus, varios de los cuales han sido exitosamente implementados en programas de manejo integrado de plagas (tabla 7.2).

Tabla 7.2. Ejemplo de productos a base de baculovirus registrados y comercializados a nivel mundial

Virus	Nombre comercial	Empresa (país)	Plaga blanco
SeNPV	Spod-X	Certis (USA)	*Spodoptera exigua*
LdNPV	Gypcheck	U. S. Forest Service (USA)	*Lymantria dispar*
HzNPV	Gemstar	Certis (USA)	*Helicoverpa zea* y *Heliothis virescens*
OpMNPV	TM Biocontrol-1	(Estados Unidos)	*Orgya pseudotsugata*
AcMNPV	SAN 404	(Estados Unidos)	*Autographa californica*
SpliNPV	Spodopterin	(Francia)	*Spodoptera littoralis*
CpGV	Granupom	Biobest (Bélgica)	*Cydia pomonella*
CpGV	Carpovirus Plus	NPP-Arysta Life Science (Francia)	*Cydia pomonella*
SeNPV	SPOD-X LC	Certis (USA) y Summit Agro (México)	*Spodoptera exigua*
PhoGV	PTM-Baculovirus	CIP (Perú)	*Phthorimaea operculella*
HearNPV	Helicovex	Andermatt (Suiza)	*Helicoverpa armigera*, *H. zea*, *H. virescens* y *H. punctigera*
CpGV	Madex Twin	Andermatt (Suiza)	*Grapholita molesta*, *Cydia pomonella*
SeNPV	Spexit	Andermatt (Suiza)	*Spodoptera exigua*
SpliNPV	Littovir	Andermatt (Suiza)	*Spodoptera littoralis*
GV	Baculovirus Corpoica	Corpoica (Colombia)	*Tecia solanivora*

Fuente: Elaboración propia con base en Haase et al. (2015); Pesticideinfo (2018) y Andermatt Biocontrol (s. f.)

Estrategias de potenciación para mejorar la actividad biocontroladora de los baculovirus

Los baculovirus son los virus entomopatógenos con mayor desarrollo como bioplaguicidas; sin embargo, su inclusión exitosa en sistemas de manejo integrado de plagas depende de la combinación de varios factores, entre ellos su capacidad insecticida. Algunas desventajas de los bioplaguicidas a base de baculovirus están asociadas directamente con la biología del virus, como su baja velocidad de acción y otras, que incluyen los altos costos de producción (Battu, Arora, & Dhaliwal, 2002).

Un enfoque para solventar estos inconvenientes es el mejoramiento de las características insecticidas del virus mediante su potenciación con diferentes estrategias. La potenciación se define como una técnica química o biológica que permite mejorar la actividad insecticida de un baculovirus, aumentando la susceptibilidad de su hospedero y disminuyendo su tiempo de supervivencia (Caballero et al., 2001; Szewczyk et al., 2006). La estrategia convencional incluye la selección de cepas con mayor potencial insecticida, de las cuales se conocen variantes virales con mutaciones naturales que proveen características especiales. Un ejemplo de ello es el SfMNPV, para el que algunos aislamientos muestran un reducido tiempo letal; sin embargo, presentan inconvenientes por la baja producción de partículas virales (Behle & Popham, 2012). Otros aislamientos de este virus no producen la licuefacción de las larvas infectadas (Valicente et al., 2008), lo cual es deseable porque facilita el proceso de producción masiva y de cosecha del virus, pero se reduce la posibilidad de diseminación natural en el campo.

El uso de agentes sinergistas puede aumentar la infectividad oral de los virus y reducir la cantidad necesaria para aplicar por unidad de área. Esto podría disminuir los costos y promover el uso de los baculovirus en programas de manejo integrado de plagas.

Dentro de las estrategias basadas en la adición de potenciadores químicos a los bioplaguicidas virales, se ha descrito que los blanqueadores ópticos (Phorwite AR, Leucophor BS, Tinopal LPW y Blankophor RKH, etc.), además de actuar como absorbentes de la luz ultravioleta, pueden ser potentes sinergistas de los nucleopoliedrovirus (Martínez, Simón, Williams, & Caballero, 2003; Okuno et al., 2003; Shapiro, El Salamouny, & Merle Shepard, 2008). Los abrillantadores inhiben el desprendimiento de las células infectadas del intestino medio e inhiben la respuesta apoptótica de las mismas (Dougherty, Narang, Loeb, Lynn, & Shapiro, 2006), lo que aumenta la probabilidad de establecimiento de la infección primaria. Esos compuestos también inhiben la síntesis de quitina y aumentan dramáticamente la porosidad de la membrana peritrófica, lo que facilita el movimiento de los viriones derivados de la oclusión desde el lumen del intestino hasta las células epiteliales (Zhu, Liu, Peng, Yang, Hong, 2007). Varios estudios han demostrado que los abrillantadores incrementan la actividad insecticida de los aislamientos en condiciones de laboratorio (Shapiro et al., 2008) y en cultivo (Bernal, Simón, Williams, & Caballero, 2014; Lasa et al., 2007). Además, se ha demostrado que el efecto sinergista de estos compuestos permite que los aislamientos virales puedan infectar especies de insectos semipermisivas y biotipos resistentes (Morales, Moscardi, Sosa-Gómez, Paro, & Soldorio, 2001).

Por otra parte, se ha encontrado que sustancias como el ácido bórico y el ácido sórbico tienen un efecto potenciador de los baculovirus en laboratorio y en campo (Bell, Owens, Shapiro, Tardif,, 1981; Cisneros et al., 2002). Las bajas concentraciones mejoran hasta 11 veces la actividad insecticida de aislamientos de NPV de *L. dispar* y *Spodoptera litura* (Fabricius, 1775) (Lepidoptera: Noctuidae), y también disminuyen el tiempo medio de muerte (TMM) hasta en 56 horas. Aunque su modo de acción aún no ha sido establecido, se cree que actúan como factores de estrés fisiológico para el insecto, incrementando así su susceptibilidad a los entomopatógenos (Cisneros et al., 2002; Szewczyk, Rabalski, Krol, Sihler, & Lobo de Souza, 2009).

En ese mismo sentido, para incrementar la susceptibilidad a la infección por NPV de larvas de *Bombyx mori* también se han probado sustancias

químicas comerciales para uso agrícola que inhiben la síntesis de quitina, como polyoxin AL y orthocide (fungicidas) o flufenoxuron (Arakawa, 2003; Arakawa, Furuta, Miyazawa, & Kato, 2002). A pesar de los beneficios descritos, se ha demostrado que algunos potenciadores tienen efectos nocivos, por ejemplo, que afectan los polinizadores, lo cual sugiere la necesidad de estudios más profundos sobre los posibles efectos secundarios de los candidatos, especialmente si se trata de químicos estables (Goulson, Martínez, Hughes, & Williams, 2000).

En general, los agentes sinergistas naturales son menos perjudiciales para el medio ambiente que los compuestos sintéticos por su baja característica residual y su factibilidad de uso en producciones orgánicas. Por ello se han planteado alternativas que utilizan compuestos provenientes de extractos de plantas, proteínas derivadas de otros virus o la coinfección para potencializar la actividad de los NPV. La adición de azadirachtina tetranortriterpeno (AZA1), ingrediente activo de la planta *Azadirachta indica* A. Juss, conocida como *nim* (*neem* en inglés), ha demostrado tener un efecto sinérgico sobre la nucleopoliedrovirus para infectar *Spodoptera litura*, *Lymantria dispar*, *Helicoverpa armigera* y *Pieris brassicae* (Bhandari, Sood, Mehta, Choudhary, & Prabhakar, 2009; Senthil, Murugan, & Zhang, 2008; Senthil & Kalaivani, 2005). AZA1 actúa como represor de la alimentación y regulador de crecimiento, aumentando así la susceptibilidad a la infección (Schmutterer, 1990).

Otras iniciativas para la potenciación de NPV utilizan proteínas como la fusolina, que es el principal componente de los cuerpos de inclusión producidos por los entomopoxvirus (EPV), y su modo de acción se basa en la disrupción de la membrana peritrófica (Mitsuhashi, 2009). En este aspecto, se ha reportado la potenciación de infectividad de NPV de *P. unipuncta* (PuNPV) sobre larvas de *P. separata* utilizando esferoides de entomopoxvirus de *P. separata* (PsEPV) (Xu & Hukuhara, 1992) y de NPV de *B. mori* (BmNPV) sobre larvas de *B. mori* utilizando proteínas del EPV de *Anomala cuprea* (AcEPV) (Mitsuhashi & Sato, 2000).

Mukawa y Goto (2007, 2010, 2011) reportaron el uso de proteínas alcalinas solubles de cápsulas (GVP) derivadas del granulovirus de *Xestia c-nigrum* como potenciadoras de la actividad de NPV de *Mamestra brassicae* (MabrNPV) sobre larvas de *Helicoverpa armigera*, *Mamestra brassicae* y *Autographa nigrisigna*. Trabajos posteriores, realizados en cultivos de repollo y brócoli, demuestran resultados promisorios de las GVP para ser utilizadas como aditivos del bioplaguicida a base de MabrNPV (Goto, Mukawa, & Mitsunaga, 2015).

Las características potenciadoras de los GV se han atribuido a una proteína denominada *enhancina*, la cual actúa como una metaloproteinasa que degrada las proteínas de la matriz peritrófica alterando su continuidad (Derksen & Granados, 1988); además existe evidencia de que la enhancina incrementa la fusión de las envolturas virales con las membranas de las células del intestino medio (Kozuma & Hukuhara, 1994). Esto permite el ingreso rápido de las partículas virales a las células, lo cual reduce el tiempo de mortalidad y aumenta la patogenicidad viral (Hoover, Humphries, Gendron, & Slavicek, 2010; Mukawa & Goto, 2010, 2011). Esta proteína corresponde al 5 % de las proteínas presentes en el cuerpo de inclusión y se conoce como "factor sinérgico de la infección viral" (Lepore, Roelvink, & Granados, 1996).

La potenciación con el uso de coinfección entre dos aislamientos virales diferentes ha sido demostrada en diferentes trabajos. Este proceso se puede dar específicamente para los nucleopoliedrovirus a través de interacciones indirectas de tipo ayuda que dependen de la infección simultánea con genotipos virales completos y defectivos en el mismo hospedero. (Cuartas & Villamizar, 2011; López-Ferber, Simón, Williams, & Caballero, 2003). También hay otras interacciones indirectas, como las que ocasionan un cambio en la susceptibilidad del hospedero por alteración de las barreras físicas debido a la acción de proteasas como la proteína enhancina y que se ha presentado en la mayoría de los casos de potenciación con granulovirus (Guo, Fang, Wang, Zhong, & Liu, 2007); y las interacciones que ocasionan cambios citopáticos en las células hospederas (Cuartas & Villamizar, 2011; Hukuhara & Wijonarko, 2001).

La primera evidencia de potenciación de un NPV por un GV fue encontrada por Tanada (1959a, 1959b) en larvas de *Pseudaletia unipuncta* (Haworth, 1809) (Lepidoptera: Noctuidae), y desde entonces se

han desarrollado diversos trabajos que confirman estas interacciones (Slavicek, 2012). Por ejemplo, la coinfección entre MNPV de *L. dispar* y GV de *H. armigera* potenció la actividad insecticida (300 veces) y el tiempo de mortalidad (18 %) sobre larvas de *L. dispar* y la coinfección con GV de *S. frugiperda* aumentó la patogenicidad 13 veces (Hoover et al., 2010; Shapiro, 2000). Otros trabajos reportan potenciación de NPV de *Mamestra brassicae* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Noctuidae) con el GV de *Xestia c-nigrum* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Noctuidae) en larvas de *M. brassicae* (Mukawa & Goto, 2007, 2010). En larvas de *Spodoptera litura* (Fabricius, 1775) (Lepidoptera: Noctuidae) también se ha evidenciado el efecto potenciador de este GV al ser coinfectado con el NPV de *S. litura* (Guo et al., 2007). Se han publicado trabajos sobre coinfección que demuestran que el granulovirus de *Epinotia aporema* (EpapGV) incrementa la potencia del nucleopoliedrovirus de *Anticarsia gemmatalis* (AgMNPV), lo cual sugiere que las formulaciones con los dos virus pueden ser una herramienta valiosa para su inclusión en sistemas de manejo integrado de plagas (Biedma, Salvador, Ferrelli, Sciocco-Cap, & Romanowski, 2015).

Otros virus, como los iflavirus, también han sido probados para potenciar la actividad insecticida del NPV de *S. exigua* y presentaron una reducción de la concentración letal media del virus, aunque no se observó efecto en el tiempo medio letal (Carballo et al., 2017).

La estrategia de utilizar la coinfección de dos aislamientos virales potencia la actividad insecticida de un agente viral; sin embargo, la multiplicación de dos ingredientes activos eleva los costos de producción de un bioplaguicida. Debido a ello se han estudiado estrategias que emplean herramientas de la ingeniería genética para introducir los genes de las proteínas potenciadoras dentro de los genomas de los virus utilizados para el control. Las herramientas de modificación genética han sido aplicadas por más de 20 años para ampliar el rango de hospederos, aumentar la actividad insecticida e inclusive para proveer fotoestabilidad. Algunos trabajos están dirigidos a la expresión de efectores fisiológicos (hormonas y enzimas) para interrumpir el metabolismo normal del insecto, la expresión de toxinas específicas o eliminar genes que modifican el comportamiento viral (Arora & Shera, 2014). A pesar de las innumerables investigaciones sobre estrategias genéticas para mejorar el desempeño viral en los bioplaguicidas, no existen en el mercado productos recombinantes con desempeño mejorado y no se avizoran en el futuro cercano, debido a la opinión desfavorable de los consumidores y las barreras regulatorias en mercados potenciales como la Unión Europea (Lacey et al., 2015).

Limitantes para la producción y el uso de virus entomopatógenos

Limitantes de diferente tipo se presentan para la producción masiva de los virus entomopatógenos, principalmente relacionadas con su característica de ser patógenos obligados y de necesitar las células hospederas para su producción. Además, dependiendo del tipo de virus (estructura y ácido nucleico), estos pueden ser inactivados por condiciones ambientales que limitan su utilización en campo para el control de insectos plaga, por lo que deben tener una formulación adecuada y eficiente que los proteja de dichas condiciones. A continuación, se describen y analizan con más detalle los factores y efectos asociados a las limitantes en mención.

Limitantes ambientales

La *persistencia viral* es el término que describe la capacidad de un virus para mantener su infectividad en un escenario determinado. La persistencia de los virus, así como la de otros agentes microbianos de control biológico en el medio ambiente, se ve influenciada por factores abióticos como la temperatura, la humedad y la radiación solar, entre otros, y podrían persistir desde horas hasta décadas dependiendo de su estructura y de las condiciones ambientales (Bosch, Pintó & Abad, 2006). Son numerosos los factores químicos,

físicos y biológicos que determinan la persistencia o estabilidad de los virus en el ambiente, y los más importantes se resumen en la tabla 7.3.

Por ejemplo, algunas investigaciones de campo han demostrado que la persistencia de los virus en los sistemas acuáticos y terrestres es mayor cuando el virus se asocia con partículas inorgánicas de origen natural, tales como la arcilla y los sedimentos (Nazir, Haumacher, Ike, & Marschang, 2011). Los mecanismos por los cuales la materia orgánica influye en la adsorción del virus a las partículas no están bien definidos, probablemente porque en la mayoría de los estudios se han utilizado productos orgánicos heterogéneos (por ejemplo, las aguas residuales) o compuestos orgánicos con propiedades biofísicas. Sin embargo, los resultados de estos estudios indican que, en el caso de los reovirus, la persistencia puede variar según el tipo de materia orgánica y mineral de la arcilla con la que el virus entra en contacto (Lipsont & Stotzky, 1984).

Los cypovirus y los baculovirus son notoriamente difíciles de erradicar porque las partículas virales están incrustadas en cristales de proteínas o cuerpos de inclusión y la notable estabilidad de los CI significa que, al igual que las esporas bacterianas, los virus de los insectos pueden seguir siendo infecciosos durante algún tiempo en reservorios como el suelo (Coulibaly et al., 2007). Los factores ambientales más limitantes para la persistencia viral son la temperatura y la radiación ultravioleta, como se detalla a continuación.

Tabla 7.3. Principales factores ambientales que afectan la persistencia viral

Tipo de factores	Factor	Efecto
Físicos	Temperatura	Las altas temperaturas causan inactivación viral
	Luz	La luz ultravioleta causa inactivación directamente proporcional al tiempo de irradiación
	Desecación	La deshidratación puede inducir inactivación de algunos virus
	Presión	La alta presión puede inducir inactivación
Químicos	pH	Los valores extremos de pH causan inactivación viral
	Salinidad	Las concentraciones altas de sales en medio acuoso causan inactivación viral
	Amonio	Actividad viricida
	Iones inorgánicos	Algunos son viricidas
	Materia orgánica	La adsorción a materia orgánica puede reducir la inactivación viral
	Enzimas	Las proteasas y las nucleasas contribuyen a la inactivación viral
Biológicos	Actividad microbiana	Contribuye a la inactivación
	Biopelículas	La adsorción a biopelículas puede reducir la inactivación, pero la actividad microbiana en la biopelícula puede ser viricida
	Tipo de virus	La estabilidad de la partícula viral depende de la estructura viral, la especie, e incluso de la cepa

Fuente: Elaboración propia con base en Bosch et al. (2006)

En los granulovirus, así como en la mayoría de los virus, la partícula infectiva no contiene nada más que un genoma. En este caso, para obtener una diversidad genotípica en la larva hay que considerar una ingestión múltiple, pero ¿cuál es la frecuencia de estas infecciones múltiples en condiciones naturales? En la literatura solo hay datos de un aislado de CpGV, I68, obtenido de una sola larva, y que presenta una diversidad genética (Rezapanah et al., 2008).

Sin embargo, Espinel-Correal et al. (2010) también encontraron, con las polillas de la papa, que en zonas en las cuales hay una sustitución periódica del insecto huésped la población viral está compuesta mayoritariamente de dos genotipos, cada uno adaptado a uno de los huéspedes, y que los dos se transmiten, lo cual implica una coinfección, al menos en algunas larvas.

La importancia de este punto para la definición de las estrategias de control biológico reside en la garantía de la perennidad, es decir, la ausencia de aparición de resistencias o, más bien, la ausencia de sobrevivientes. En la carrera de armamentos entre las poblaciones virales y las poblaciones de insectos que los albergan, el pseudoequilibrio será alcanzado cuando el costo de defenderse por parte del insecto no compense la pérdida de eficacia biológica (Combes, 2001). Desde la perspectiva del virus, este equilibrio será alcanzado cuando el costo del desarrollo de nuevas estrategias de infección no compense las ganancias en capacidad de transmisión (es decir, generación de descendencia y persistencia a lo largo del tiempo).

Supongamos que cada genotipo viral ataca a su insecto huésped de una forma ligeramente diferente. Apliquemos una metáfora para explicar nuestro propósito. Cada genotipo viral ataca al huésped como cada viajero sigue una ruta para ir de un sitio A hacia un sitio B en una ciudad. Todos los viajeros no seguirán exactamente la misma ruta; los puntos neurálgicos son aquellos por los que necesariamente todos los viajeros deban pasar. Cualquier gestor de tráfico sabe que estos puntos deben ser reforzados y vigilados para evitar colapsos de tráfico. Este sería el caso de una resistencia generalizada a todos los genotipos virales. Para evitar este escollo, el virus empleará los sistemas más seguros posibles, aunque esto conlleve un costo importante. La infección por un baculovirus depende de la capacidad de este virus para colonizar las células del intestino medio. Hasta hoy se han descrito ocho proteínas *per os infectivity factor* (PIF) que actúan de forma coordinada para asegurar esta entrada (Song et al., 2016). El paso de esta etapa es, ciertamente, un punto neurálgico. El bloqueo de una calle que no sea común tendrá como consecuencia la imposibilidad de infección con un genotipo, pero no con los otros. Si hay infección múltiple, la larva morirá de todas formas.

En un trabajo reciente, Erez et al. (2017) demostraron que en poblaciones virales de bacteriófagos se desarrollan estrategias de grupo. Estas estrategias son posibles gracias a la existencia de sistemas de comunicación entre virus que infectan bacterias diferentes. Físicamente, estos sistemas consisten en pequeñas proteínas codificadas por el virus que son secretadas al medio. La concentración de estas proteínas indica la frecuencia de células infectadas, en un sistema similar al *quorum sensing* (Nealson & Hastings, 1979). El resultado es una coordinación en la respuesta a nivel de la población viral que maximiza la probabilidad de supervivencia de esta población (y no la probabilidad de supervivencia de cada bacteriófago aislado). Las variaciones entre estrategias de transmisión, de infecciones con bajo nivel de mortalidad (infecciones latentes, persistentes, transmisión vertical) hacia infecciones francas, que producen altos niveles de mortalidad o morbilidad, podrían deberse también a este tipo de acción de grupo.

Conclusiones y perspectivas

El uso de virus como agentes de control de las poblaciones de insectos plaga, en su origen, fue formulado como un método para establecer equilibrios ecológicos. Sin embargo, progresivamente este concepto evolucionó hacia el desarrollo y la producción de bioinsecticidas, como productos alternativos para remplazar a los insecticidas químicos.

El principio subyacente de un insecticida químico es la existencia de una o varias moléculas perfectamente definidas, y que son siempre las mismas en el producto. El control de calidad verifica que la composición es fija tanto en los componentes como en sus proporciones. La consecuencia de este paradigma es que las poblaciones blanco son sometidas a una presión de selección fija, y que, con velocidades variables en función de la complejidad de la preparación, aparecerán fenómenos de resistencia.

La aparición de resistencias en campo contra el granulovirus de *Cydia pomonella* CpGV (Fritsch, Undorf-Spahn, Kienzle, Zebitz, & Huber, 2005; Sauphanor et al., 2006) y la obtención de aislados virales capaces de sobrepasar esta resistencia (Berling et al., 2009; Rezapanah, Shojai-Estabragh, Huber, & Jehle, 2008) muestran que las poblaciones virales pueden adaptarse rápidamente, pero que la reacción del huésped es inevitable. Así, un segundo tipo de resistencia ha sido descrito (Jehle, Schulze-Bopp, Undorf-Spahn, & Fritsch, 2017), así como una variabilidad en la sensibilidad (Berling, Sauphanor, Bonhomme, Siegwart, & Lopez Ferber, 2013). Para controlar esta reacción, la estrategia usual es la rotación entre productos (que deriva del paradigma de los insecticidas químicos o de los antibióticos). Sin embargo, puede proponerse un paradigma alternativo basándose en el funcionamiento de las poblaciones virales.

En las poblaciones naturales de los virus de poliedrosis nucleares se ha observado una gran variabilidad genética, pero, a pesar de que la eficacia de diversos genotipos ha sido estudiada desde hace tiempo (Lewis, 1981), el análisis de la función de esta variabilidad es relativamente reciente (López-Ferber et al., 2003) y se ha observado que la asociación de varios genotipos en la misma población aumenta la eficacia en esta población. En un trabajo posterior, Simón, Williams, López-Ferber y Caballero (2005) encontraron un resultado sorprendente: las características de la población para varios parámetros de eficacia no corresponden a la media de las características de cada uno de los componentes, sino que corresponden, unas veces, a uno de los genotipos, no necesariamente mayoritario, y otras veces son diferentes de las de cada uno. Esto quiere decir que el comportamiento de la población no se puede predecir a partir de las características de cada uno de los genotipos que la componen. También se ha demostrado que, en los NPV, cada poliedro transporta varios genotipos. De esta forma se asegura que una larva que haya ingerido un solo poliedro tendrá una representación de la diversidad genotípica de la población.

Temperatura

El efecto del calor sobre los virus depende del tiempo de exposición y de la temperatura que provoca desnaturalización de proteínas, fusión y desorganización de las membranas o procesos oxidantes irreversibles. El efecto de la temperatura también se ve influenciado por la presencia de humedad y es mayor en presencia de agua, ya que esta permite que se altere con mayor facilidad la configuración de las proteínas y proporciona un medio para distribuir el calor uniformemente (Romero, 2007).

Las temperaturas exageradamente elevadas pueden inactivar a los virus antes de que estos alcancen su hospedero, además aceleran la muerte del insecto infectado, disminuyendo la productividad del virus y, de esta forma, el inóculo disponible para infectar otros individuos (Caballero et al., 2001).

Por ejemplo, en el trabajo de Marina, Feliciano, Valle y Williams (2000) se determinó que la dosis infectiva media (DI50) de un virus iridiscente de invertebrados aislado de *Chilo suppressalis* (Lepidoptera: Pyralidae) presentó una disminución constante de la infectividad en el tiempo cuando fue expuesto a temperaturas entre 4 y 25 °C durante 50 días. La tasa de inactivación aumentó con el incremento de la temperatura. Cincuenta días después del inicio del experimento, la infectividad de las preparaciones de virus expuestas a 25 °C disminuyó aproximadamente un orden de magnitud.

Radiación ultravioleta

La región del espectro solar comprendida entre 100 y 400 nm corresponde a la radiación ultravioleta (UV), que juega un papel determinante en la vida de los microorganismos y se divide en tres tipos: UVA (400-320 nm), UVB (320-290) y UVC (290-100 nm). Los efectos negativos de esta radiación son consecuencia de su acción sobre moléculas como las porfirinas, los carotenoides, los esteroides, las quinonas, las proteínas y los ácidos nucleicos. La radiación UV puede causar daños directos e indirectos sobre el ADN, que resultan en la formación de fotoproductos como los dímeros de pirimidinas (aparición de enlaces covalentes entre bases pirimidínicas adyacentes: citosina-citosina o citosina-timina), los hidratos de pirimidina y el entrecruzamiento entre ADN y proteínas. Los daños directos son los más nocivos para la sobrevivencia de los microorganismos y principalmente se deben a la formación de especies reactivas de oxígeno, dentro de las que se destacan el peróxido de hidrógeno, el oxígeno singlete y los radicales hidroxilos, cuya acción se debe a que oxidan la pentosa presente en el ADN y generan el rompimiento de la hebra del ácido nucleico. En general, tanto los daños directos como los indirectos interfieren en la replicación normal del ADN y la intensidad del efecto depende de la cantidad de energía recibida (Devotto & Gerding, 2003).

El principal daño que produce la radiación ultravioleta sobre el ADN viral es la generación de dos tipos de dímeros de pirimidina: dímeros de pirimidin-ciclobutano y pirimidin-pirimidona (Friedberg, Walker & Siede, 1995). Otros autores han atribuido el efecto deletéreo de la radiación ultravioleta a la fotooxidación de uno o más aminoácidos como el triptófano, lo que produce altas cantidades de peróxido de hidrógeno y afectan negativamente los agentes de biocontrol (Ignoffo et al., 1977). Los virus ocluidos y no ocluidos expuestos a la radiación ultravioleta son rápidamente inactivados y su vida media es de pocas horas, como se observa en la tabla 7.4.

Limitantes para la producción viral

Uno de los principales problemas que limitan el uso y la comercialización de productos a base de virus es la producción viral. Los virus son patógenos obligados, lo que hace necesaria la infección de un hospedero para realizar su multiplicación, por lo cual la implementación de un sistema de producción *in vivo* es forzosa. El sistema *in vivo* sobre larvas del insecto es dispendioso y altamente demandante de mano de obra, lo que aumenta los costos de producción, además de presentar contaminación por otros microorganismos y diferencias en la productividad viral por falta de métodos estandarizados (Ruiz, Gómez-Valderrama, Chaparro, Sotelo, & Villamizar, 2015).

Además, existen otros problemas que afectan la producción, como la licuefacción del tegumento

de los insectos que dificulta la recuperación de las partículas virales o los hábitos propios de los insectos, como el canibalismo, que obliga a realizar una individualización de las larvas que requiere de mano de obra intensiva (Valicente, Tuelher, Pena, Andreazza, & Guimarães, 2013).

En sentido general, el proceso para la producción de virus sobre larvas del insecto abarca varias etapas (tabla 7.5), cuya estandarización, optimización y mecanización es crucial para la viabilidad económica del producto a comercializar.

A pesar de las limitantes descritas, hasta la fecha la producción a gran escala de virus entomopatógenos sobre larvas de insectos es la usada para todos los productos comerciales. Es por esto que existen diferentes productos ya registrados con sistemas estandarizados y con alta capacidad de producción. Tal es el caso del nucleopoliedrovirus de *Lymantria dispar* para el control de este insecto en cultivos de frutales y forestales, entre otros. Para su producción, se estandarizó un sistema que permite el manejo de 12.000 larvas/día y que redujo de manera significativa los costos por larva e hizo económicamente viable el producto (Bell et al., 1981). Otro de los casos más estudiados ha sido el del NPV de *Helicoverpa zea* en China, donde se producen anualmente 100 toneladas del bioinsecticida para ser comercializado por diferentes compañías (Van Beek & Davis, 2016). Otros virus se producen a escala más pequeña, como es el caso del NPV de *Spodoptera litura*, *S. frugiperda*, GV de *C. pomonella*, entre otros, con miras a aumentar la producción para cubrir sus demandas a nivel mundial (Cherry, Parnell, Grzywacz, & Jones, 1997; Ruiz et al., 2015; Sun, 2015; Van Beek & Davis, 2016).

Dentro de las perspectivas en la producción de virus entomopatógenos, se estudia la producción *in vitro* en cultivo celular, lo que permitiría superar algunas limitantes de la producción sobre larvas, como la disminución de la contaminación tanto de microorganismos como de partes del insecto, la producción de virus salvajes y recombinantes de manera homogénea y la obtención de una mayor productividad. Aunque se ha sugerido una variedad de métodos para la producción *in vitro*, la escala de producción aún es muy baja para una introducción comercial y, además, debe superar limitantes como la producción de partículas defectivas con baja infectividad por vía oral después de pases sucesivos sobre las líneas celulares (Murhammer, 2007).

Tabla 7.4. Persistencia de algunas especies de baculovirus expuestos a la radiación solar

Virus	Luz	Inactivación
Helicoverpa zea NPV	Solar	82 % en 16 horas
Pieris brassicae GV	Solar	70 % en 7 días
Plodia interpunctella GV	Solar	98 % en 4 minutos
Helicoverpa zea NPV	Solar	96,7 % en 24 horas
Galleria mellonella NPV	Solar	50 % en 14 horas
Phthorimaea operculella GV	UVA/UVB	70 % en 10 horas
Spodoptera frugiperda NPV	UVB	85 % en 1 hora
Spodoptera frugiperda GV	UVB	94 % en 1 hora

Fuente: Elaboración propia con base en Villamizar (2011)

Tabla 7.5. Etapas en el proceso de producción masiva de virus entomopatógenos

Etapa	Descripción	Factores a considerar
Cría del insecto	Producción sistemática y automatizada de insectos que puede alcanzar una relación beneficio-costo aceptable, ya que excede la productividad promedio en poblaciones silvestres (Kondo, 2011). Generalmente se busca beneficiar la obtención de un gran número de larvas en condiciones de asepsia y libres de virus.	• Uso de dieta artificial o natural a un bajo costo • Capacidad de producción • Tabla de vida del insecto • Obtención de insectos sanos (libres de patógenos, uniformes y vigorosos)
Selección de la edad larval para inoculación	Como este factor influye en la susceptibilidad del insecto a infecciones por entomopatógenos (Adamo, 2009), es necesario seleccionar la edad adecuada para la inoculación de larvas, que permita obtener la mayor mortalidad y los cadáveres de mayor tamaño, para garantizar la recuperación de gran cantidad de partículas virales.	• Desarrollo larval en la dieta seleccionada para producción • Método de inoculación: gota, dieta, etc. • Edad de las larvas (días, instar o peso)
	La vía de adquisición de la infección por virus es oral, por lo que es importante definir la forma de inoculación de las larvas. Asimismo, la dosis o concentración viral de inoculación tiene un efecto importante en la cantidad de tejido larval infectado, en la mortalidad de las larvas y en la cantidad de partículas virales que se producen.	• Método de inoculación: gota o dieta • Inóculo: pureza, pases y concentración • Respuesta uniforme de las larvas
Mantenimiento de larvas	Una vez inoculadas, las larvas deben mantenerse en las condiciones apropiadas que les permitan desarrollar la infección. Este proceso puede durar varios días o semanas, dependiendo del tipo de virus, la dosis de inoculación y la edad de las larvas.	• Dieta de alimentación • Densidad larval • Contenedores para la incubación • Temperatura, fotoperiodo y humedad
Cosecha	Momento de recolección de las larvas infectadas que permite la obtención de la mayor cantidad de partículas virales con la menor contaminación. Puede ser manual o, idealmente, automatizada.	• Tiempo de cosecha • Método • Peso de larvas • Mortalidad • Productividad • Contaminantes • Almacenamiento
Procesamiento y control de calidad	Elaboración del principio activo (suspensión viral) con las características deseadas para ingresar al proceso de formulación.	• Licuefacción de tejidos • Disminución de contaminantes • Concentración viral • Actividad biológica • Almacenamiento

Fuente: Elaboración propia

Así, en condiciones en las que la densidad de insectos es baja, la probabilidad de ingerir varias partículas virales que contengan genomas diferentes será también baja. A medida que la densidad de población del insecto huésped aumente, la probabilidad de ingerir varios genotipos aumentará rápidamente a lo largo del tiempo hasta situarse en condiciones de epizootia, en las cuales cada insecto ingerirá una dosis elevada de partículas, maximizando así la diversidad viral a medida que aumenta la presión de selección para la resistencia al virus.

En las condiciones de protección de cultivos por métodos de control inundativos, el objetivo es copiar estas condiciones de epizootia. Se debe, por tanto, aumentar la diversidad viral y aumentar las dosis, de forma que se garantice que cada individuo haya recibido varias partículas.

Por otro lado, si cada cultivo se intenta proteger con un mismo producto, y todavía peor, si este producto está compuesto por un solo genotipo, nos encontraremos en las condiciones ideales para el desarrollo de resistencias por parte del insecto huésped. El cambio de genotipos por rotación, tal y como se hace con las resistencias a los antibióticos, puede retrasar el fenómeno de multiresistencia, pero no conseguirá hacerlo desaparecer. Este cambio de perspectiva comienza a admitirse.

Según Ehlers (2011), la primera petición en el *White Paper on Registration of Biological Control Agents* de la International Biocontrol Manufacturers' Association (IBMA) en 2005 fue que el registro de agentes de control biológico no sea extrapolado de la reglamentación de registro de agentes químicos. En continuidad con esta reflexión se realizó el proyecto Rebeca, con financiación del 6º Programa marco para la investigación y el desarrollo tecnológico (Programme-cadre de recherche et développement technologique [PCRDT], en inglés, Framework Programme for Research and Technological Development) de la Dirección General de Investigación de la Comisión Europea. Las conclusiones de este proyecto europeo están contenidas en el libro *Regulation of Biological Control Agents* (Ehlers, 2011), donde se ha propuesto que, en los productos de control biológico a base de baculovirus, el registro pueda hacerse a nivel del aislado, y tal vez de la especie y no del genotipo (Hauschild, 2011). El conjunto de estos aspectos implica un cambio completo en la forma de programar la producción y el uso de los baculovirus y, por extensión, de todos los otros microorganismos que se usan como agentes de control biológico.

Desde el punto de vista del usuario final, es decir, del agricultor, se debe garantizar un seguimiento de las poblaciones de insectos, así como de su nivel de sensibilidad a los diferentes agentes que se puedan usar. Desde el punto de vista del fabricante del bioinsumo, hay que adaptar continuamente el producto a la población en la que se vaya a usar. Estos dos aspectos implican una cooperación necesaria entre los agricultores y los productores de agentes de control que no se puede reducir a una relación cliente-vendedor. Este cambio de perspectiva no implica una producción a pequeña escala, donde cada producto sea utilizable solamente en una zona geográfica reducida. Es posible una fabricación industrial importante, pero adaptada cada año a las poblaciones de insectos presentes.

El control de *Anticarsia gemmatalis* en Brasil es revelador, ya que en este caso se usaba una producción en campo sobre las larvas presentes. El análisis de los genomas por RFLP (del inglés *restriction fragment length polymorphism*) reveló que la composición genética de la población no era fija y la frecuencia relativa de ciertos fragmentos presentaba variaciones cíclicas a lo largo del tiempo. Este mismo fenómeno se observa en la composición de los aislados del nucleopoliedrovirus de la polilla gitana (*Lymantria dispar*). Las poblaciones

naturales de este insecto presentan ciclos de abundancia periódicamente, de entre 6 y 12 años, en los bosques del sur de Francia. Cuando el nivel de la población de insectos culmina, hay un desarrollo epizoótico del virus. Los aislamientos de estos virus obtenidos a lo largo del tiempo no son similares, sino que ciertas variantes predominan en un momento dado y su frecuencia se reduce en otros momentos.

En el caso particular de los NPV, se ha podido demostrar que los cuerpos de inclusión pueden contener viriones genotípicamente diferentes (Arrizubieta, Simón, Caballero, & Williams, 2015). Por otro lado, la existencia de sinergia entre genotipos ya ha sido demostrada (López-Ferber et al., 2003). La conservación de la diversidad genética de la población viral, en este caso, está asegurada, ya que al ingerir un solo CI la larva puede infectarse con un gran número de genotipos diferentes. La utilización de este fenómeno para coocluir genotipos que presenten características apropiadas en un programa de control biológico abre nuevas facetas en el desarrollo de bioinsecticidas. Así, Bernal et al. (2014) optimizaron la eficacia de un aislado viral contra *Chrysodeixis chalcites* (Lepidoptera: Noctuidae). De forma similar, Arrizubieta et al. (2015) concluyeron diversos genotipos del HearSNPV para el control de *H. armigera*.

Una de las vías que se ha explorado para mejorar la eficacia de los virus entomopatógenos en su utilización como bioinsecticidas es su modificación genética, es decir, añadir o retirar del virus una secuencia. De esta forma se podrá mejorar la velocidad de acción mediante la inserción de una toxina o una hormona que perturbe el desarrollo de la larva o el espectro de huéspedes, si se introduce una proteína que permita sobrepasar un punto de bloqueo específico de un huésped. Desde los éxitos de los primeros trabajos (O'Reilly & Miller, 1991; Stewart et al., 1991; Tomalski & Miller, 1991) se ha conseguido mejorar un 20 % algunas características (Popham, Nusawardani, & Bonning, 2016).

Un ejemplo es el trabajo desarrollado por Nalcacioglu et al. (2016) para introducir el gen de la toxina del escorpión *Androctonus australis* en el genoma del *Chilo iriscent* virus. En dicha investigación se obtuvo una mejora en el tiempo letal, pero sin mejorar el parámetro principal para su posible utilización en control biológico, que es la capacidad de infección oral.

A pesar de los posibles beneficios, la modificación genética de virus se enfrenta con los mismos problemas de aceptación social que las plantas genéticamente modificadas, pero con más fuerza, dado el hecho del carácter infectivo de los virus. Además de esto, están los riesgos de desarrollo de resistencias de parte del huésped, dado que no se podrá tener una diversidad en las poblaciones virales.

Agradecimientos

Los autores manifiestan sus agradecimientos a todo el equipo de trabajo del Laboratorio de Control Biológico de AGROSAVIA y muy especialmente a la doctora Alba Marina Cotes por su contribución pionera en el desarrollo de bioplaguicidas a base de baculovirus en Colombia. También a los doctores Octavio Zegarra, Jean Louis Zeddam, Xavier Léry, Primitivo Caballero, Ohiane Simon, Mariano Belaich, Pablo Daniel Ghiringhelli y Fernando Valicente por su generosa contribución en la capacitación de investigadores y el desarrollo de los proyectos y bioproductos virales de AGROSAVIA.

Referencias

Adamo, S. (2009). The impact of physiological state on immune function in insects. En: J. Rolff y S. E. Reynolds (Eds.), *Insect Infection and Immunity: Evolution, Ecology and Mechanisms* (pp. 173-186). Nueva York, EE. UU.: Oxford University Press.

Alarcón, J., Arévalo, E., Díaz, A., Galindo, J., & Rosero, A. (2012). *Manejo integrado de plagas enfermedades en el cultivo del caucho*. Bogotá, Colombia: Instituto Colombiano Agropecuario (ICA).

Andermatt Biocontrol. (s. f.). *Our products*. Recuperado de http://www.andermattbiocontrol.com.

Arakawa, T. (2003). Chitin synthesis inhibiting antifungal agents promote nucleopolyhedrovirus infection in silkworm, *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) larvae. *Journal of Invertebrate Pathology*, *83*(3), 261-263.

Arakawa, T., Furuta, Y., Miyazawa, M., & Kato, M. (2002). Flufenoxuron, an insect growth regulator, promotes peroral infection by nucleopolyhedrovirus (BmNPV) budded particles in the silkworm, *Bombyx mori* L. *Journal of Virological Methods*, *100*(1-2), 141-147.

Arora, R., & Shera, P. S. (2014). Genetic improvement of biocontrol agents for sustainable pest management. En: K. Sahayaraj (Ed.), *Basic and applied aspects of biopesticides* (pp. 255-285). Nueva Delhi, India: Springer.

Arrizubieta, M., Simón, O., Caballero, P., & Williams, T. (2015). *Novel genotypes of the Helicoverpa armigera single nucleopolyhedrovirus (hearSNPV), method for the production thereof, and use of same as a biological control agent*. World Intellectual Property Organization (WIPO) Patent WO/2015/197900A1. Recuperado de http://www.sumobrain.com/patents/wipo/Novel-genotypes-helicoverpa-armigera-single/WO2015197900A1.pdf.

Arthurs, S., & Lacey, L. (2004). Field evaluation of commercial formulations of the codling moth granulovirus: persistence of activity and success of seasonal applications against natural infestations of codling moth in Pacific Northwest apple orchards. *Biological Control*, *31*(3), 388-397. Recuperado de https://pubag.nal.usda.gov/download/9802/PDF.

Arthurs, S., Lacey, L., & Fritts R. Jr. (2005). Optimizing use of codling moth granulovirus: effects of application rate and spraying frequency on control of codling moth larvae in Pacific Northwest apple orchards. *Journal of Economic Entomology*, *98*(5), 1459-1468. Recuperado de https://naldc.nal.usda.gov/download/1556/PDF.

Asser-Kaiser, S., Fritsch, E., Undorf-Spahn, K., Kienzle, J., Eberle, K., Gund, N., … Jehle, J. A. (2007). Rapid emergence of baculovirus resistance in codling moth due to dominant, sex-linked inheritance. *Science*, *317*(5846), 1916-1918. doi:10.1126/science.1146542.

Barrera, G. P. (2013). *Spodoptera frugiperda nucleopolyhedrovirus: the basis for a biopesticide product in Colombia* (tesis doctoral). Universidad Pública de Navarra, Pamplona, España. Recuperado de http://academica-e.unavarra.es/xmlui/bitstream/handle/2454/16983/Tesis_Barrera.pdf?sequence=4.

Barrera, G. P., Belaich, M. N., Patarroyo, M. A., Villamizar, L. F., & Ghiringhelli, P. D. (2015). Evidence of recent interspecies horizontal gene transfer regarding nucleopolyhedrovirus infection of *Spodoptera frugiperda*. *BMC Genomics*, 16, 1008. doi:10.1186/s12864-015-2218-5.

Barrera Cubillos, G. P., Gómez-Valderrama, J. A., & Villamizar Rivero, L. F. (2017). Efficacy of microencapsulated nucleopolyhedroviruses from Colombia as biological insecticides against *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Acta Agronómica*, *66*(2), 267-274. doi:10.15446/acag.v66n2.54354.

Barrera Cubillos, G. P., Gómez, J., Cuartas, P., León, G., & Villamizar Rivero, L. F. (2014). Caracterización morfológica, biológica y genética de un aislamiento colombiano de granulovirus de *Erinnyis ello* (L.) (Lepidoptera: Sphingidae). *Revista Colombiana de Biotecnología 16*(2), 129-140. doi:10.15446/rev.colomb.biote.v16n2.41663.

Bassi, A. (1835). And the sign of the plaster or disease that dormice afflicts bugs daseta Part-I., Tip Terica Orcesi Lod, pp. 1-67.

Battu, G., Arora, R., & Dhaliwal, G. (2002). Prospects of baculoviruses in integrated pest management. In: O. Koul and G. S. Dhalival (Eds.), *Microbial biopesticides* (pp. 215-238). Londres, Inglaterra: Taylor & Francis.

Behle, R. W., & Popham, H. J. (2012). Laboratory and field evaluations of the efficacy of a fast-killing baculovirus isolate from *Spodoptera frugiperda*. *Journal of Invertebrate Pathology 109*(2), 194-200. doi:10.1016/j.jip.2011.11.002.

Bell, R. A., Owens, C. D., Shapiro, M., Tardif, J. R. (1981). Mass rearing and virus production. Development of Mass-Rearing Technology. En C. Doane and M. L. McManus (Eds.), *The gypsy moth: research toward integrated pest management* (pp. 599-655). Recuperado de https://naldc.nal.usda.gov/download/CAT82474520/PDF.

Bellotti, A. C., Arias, B., & Guzmán, O. (1992). Biological control of the cassava hornworm *Erinnyis ello* (Lepidoptera: Sphingidae). *The Florida Entomologist*, *75*(4), 506-515. doi:10.2307/3496132.

Bellotti, A. C., Arias, B., Reyes, J. A., Fernández, F. O., Ceballos, L. F., & Medina, L. M. (1989). *Manejo integrado* de Erinnyis ello *(L.) (gusano cachón de la yuca), guía de estudio para ser usada como complemento de la Unidad Audiotutorial sobre el mismo tema*. Recuperado de http://books.google.com.co/books?id=Rud9PMRWUrkC&printsec=frontcover&source=gbs_atb#v=onepage&q&f=false.

Benz, G. A. (1986). Introduction: historical perspectives. En R. R. Granados, & B. Federici (Eds.). *Biology of Baculoviruses* (Vol. I; pp. 1-36). Boca Ratón, EE. UU.: CRC Press.

Bergold, G. H. (1947). Die isolierung des polyeder-virus und die natur der polyeder. *Zeitschrift für Naturforschung*, *2*(3-4), 122-143. doi:10.1515/znb-1947-3-408.

Berling, M., Blachere-Lopez, C., Soubabere, O., Lery, X., Bonhomme, A., Sauphanor, B., & Lopez-Ferber, M. (2009). *Cydia pomonella* granulovirus genotypes overcome virus resistance in the codling moth and improve virus efficiency by selection against resistant hosts. *Applied and Environmental Microbiology*, *75*(4), 925-930.

Berling, M., Sauphanor, B., Bonhomme, A., Siegwart, M., & Lopez Ferber, M. (2013). A single sex-linked dominant gene does not fully explain the codling moth's resistance to granulovirus. *Pest Management Science*, *69*(11), 1261-1266. doi:10.1002/ps.3493.

Bernal, A., Simón, O., Williams, T., & Caballero, P. (2014). Stage-specific insecticidal characteristics of a nucleopolyhedrovirus isolate from *Chrysodeixis chalcites* enhanced by optical brighteners. *Pest Management Science*, *70*(5), 798-804. doi:10.1002/ps.3617.

Bhandari, K., Sood, P., Mehta, P. K., Choudhary, A., & Prabhakar, C. S. (2009). Effect of botanical extracts on the biological activity of granulosis virus against *Pieris brassicae*. *Phytoparasitica*, *37*(4), 317-322.

Bideshi, D., Bigot, Y., Federici, B., & Spears, T. (2010). Ascoviruses. En S. Asgari & K. Johnson (Eds.), *Insect virology* (pp. 3-34). Norfolk, Reino Unido: Caister Academic Press.

Biedma, M. E., Salvador, R., Ferrelli, M. L., Sciocco-Cap, A., & Romanowski, V. (2015). Effect of the interaction between *Anticarsia gemmatalis* multiple nucleopolyhedrovirus and *Epinotia aporema* granulovirus, on *A. gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. *Biological Control*, *91*, 17-21. doi:10.1016/j.biocontrol.2015.07.006.

Bosch, A., Pintó, R. M., & Abad, F. X. (2006). Survival and transport of enteric viruses in the environment. En S. M. Mgoyal (Ed.), *Viruses in foods* (pp. 151-187). Recuperado de http://www.ub.edu/virusenterics/wp-content/uploads/2013/06/GOY6.pdf.

Caballero, P., López-Feber, T. L., & Williams, T. (2001). *Los baculovirus y sus aplicaciones como bioinsecticidas en el control biológico de plagas*. Valencia, España: Phytoma-España.

Caballero, P. W., & Williams, T. (2008). Virus entomopatógenos. En J. A. Jacas & A. Urbaneja (Eds.), *Control biológico de plagas agrícolas* (pp. 121-135). Valencia, España: Phytoma-España.

Carballo, A., Murillo, R., Jakubowska, A., Herrero, S., Williams, T., & Caballero, P. (2017). Co-infection with iflaviruses influences the insecticidal properties of *Spodoptera exigua* multiple nucleopolyhedrovirus occlusion bodies: Implications for the production and biosecurity of baculovirus insecticides. *Plos One 12*(5), e0177301. doi:10.1371/journal.pone.0177301.

Carlson, J., Suchman, E., & Buchatsky, L. (2006). Densoviruses for control and genetic manipulation of mosquitoes. *Advances in Virus Research*, *68*, 361-392. doi:10.1016/S0065-3527(06)68010-X.

Cisneros, J., Pérez, J. A., Penagos, D. I., Ruiz, J., Goulson, D., Caballero, P., … Williams, T. (2002). Formulation of a nucleopolyhedrovirus with boric acid for control of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in maize. *Biological Control*, *23*(1), 87-95. doi:10.1006/bcon.2001.0985

Combes, C. (2001). *L'art d'être parasite: les associations du vivant*. París, Francia: Flammarion.

Coulibaly, F., Chiu, E., Ikeda, K., Gutmann, S., Haebel, P., Schulze-Briese, C., … Metcalf, P. (2007). The molecular organization of cypovirus polyhedra. *Nature*, *446*(7131), 97-101.

Cuartas, P., & Villamizar, L. (2011). Interacciones de los Virus Entomopatógenos y su Efecto sobre la Actividad

Biológica. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, *7*(2), 220-239. Recuperado de https://revistas.unimilitar.edu.co/index.php/rfcb/article/viewFile/2056/1586+&cd=1&hl=es&ct=clnk&gl=co&client=firefox-b-ab.

Cuartas, P., Villamizar, L., Espinel, C., & Cotes, A. M. (2009). Infección de granulovirus nativos sobre *Tecia solanivora* y *Phthorimaea operculella* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Revista Colombiana de Entomología*, *35*(2), 122-129. Recuperado de http://www.scielo.org.co/pdf/rcen/v35n2/v35n2a03.pdf.

Chaparro, M., Espinel, C. C., Cotes, A. M. P., & Villamizar, L. R. (2010). Fotoestabilidad y actividad insecticida de dos formulaciones de granulovirus sobre larvas de *Tecia solanivora*. *Revista Colombiana de Entomología*, *36*(1), 25-30. Recuperado de http://www.scielo.org.co/pdf/rcen/v36n1/v36n1a06.pdf.

Cheng, X. W., Carner, G. R., & Arif, B. M. (2000). A new ascovirus from *Spodoptera exigua* and its relatedness to the isolate from *Spodoptera frugiperda*. *Journal of General Virology*, *81*, 3083-3092. Recuperado de http://www.microbiologyresearch.org/docserver/fulltext/jgv/81/12/0813083a.pdf?expires=1516921147&id=id&accname=guest&checksum=3F04092C76D1AAB9DC45718EC18176CA.

Cherry, A., Parnell, M., Grzywacz, D., & Jones, K. (1997). The Optimization ofin VivoNuclear Polyhedrosis Virus Production in *Spodoptera exempta* (Walker) and *Spodoptera exigua* (Hübner). *Journal of Invertebrate Pathology*, *70*(1), 50-58.

Del Rincón, M. (2010). Los virus entomopatógenos: una alternativa viable en el control de plagas. En: Sociedad Mexicana de Control Biológico, *Memorias xxi Curso Nacional de Control Biológico* (pp. 111-120). Uruapan, México: Impresos Gutiérrez.

Del Rincón, M., & Ibarra, J. (2011). Entomopathogenic Viruses. En: N. Rosas (Ed.), *Biological Control of Insect Pests* (pp. 29-64). Houston, EE. UU.: Studium Press llc.

Derksen, A. C., & Granados, R. R. (1988). Alteration of a lepidopteran peritrophic membrane by baculoviruses and enhancement of viral infectivity. *Virology*, *167*, 242-250.

Devotto, L., & Gerding, M. (2003). Respuesta de dos aislamientos chilenos de *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin a la adición de un protector solar. *Agricultura Técnica*, *63*(4), 339-346.

Dougherty, E. M., Narang, N., Loeb, M., Lynn, D. E., & Shapiro, M. (2006). Fluorescent brightener inhibits apoptosis in baculovirus-infected gypsy moth larval midgut cells in vitro. *Biocontrol Science and Technology*, *16*(2), 157-168.

Eberle, K. E., & Jehle, J. A. (2006). Field resistance of codling moth against *Cydia pomonella* granulovirus (CpGV) is autosomal and incompletely dominant inherited. *Journal of Invertebrate Pathology*, *93*(3), 201-206.

Ehlers, R. U. (Ed.). (2011). *Regulation of Biological Control Agents*. Dordrecht, Holanda: Springer.

El-Far, M., Li, Y., Fédière, G., Abol-Ela, S., & Tijssen, P. (2004). Lack of infection of vertebrate cells by the densovirus from the maize worm *Mythimna loreyi* (MlDNV). *Virus Research*, *99*(1), 17-24.

Erez, Z., Steinberger-Levy, I., Shamir, M., Doron, S., Stokar-Avihail, A., Peleg, Y., … Albeck, S. (2017). Communication between viruses guides lysis–lysogeny decisions. *Nature*, *541*, 488-493.

Espinel-Correal, C., Léry, X., Villamizar, L., Gómez, J., Zeddam, J. L., Cotes, A. M., & López-Ferber, M. (2010). Genetic and biological analysis of Colombian *Phthorimaea operculella* granulovirus isolated from *Tecia solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Applied and Environmental Microbiology*, *76*(22), 7617-7625.

Falcon, L. A. (1976). Problems associated with the use of arthropod viruses in pest control. *Annual Review of Entomology*, *21*, 305-324.

Federici, B. A., Bideshi, D. K., Tan, Y., Spears, T., & Bigot, Y. (2009). Ascoviruses: superb manipulators of apoptosis for viral replication and transmission. En J. L. Van Etten (Ed.). *Lesser Known Large dsDNA Viruses* (pp. 171-196). Berlín, Alemania: Springer.

Federici, B., & Bigot, Y. (2003). Origin and evolution of polydnaviruses by symbiogenesis of insect dna viruses in endoparasitic wasps. *Journal of Insect Physiology*, *49*(5), 419-432.

Federici, B. A., & Govindarajan, R. (1990). Comparative histopathology of three ascovirus isolates in larval noctuids. *Journal of Invertebrate Pathology*, *56*(3), 300-311.

Federici, B. A. (1993). Viral pathobiology in relation to insect control. En N. E. Beckage, S. N. Thompson, & B. A. Federici. *Parasites and pathogens of insects* (Vol. 2, Pathogen, pp. 81-101). San Diego, EE. UU.: Academic Press.

Friedberg, E. C., Walker, G. C., & Siede, W. (1995). dna *repair and mutagenesis*. Washington, EE. UU.: ASM Press.

Fritsch, E., Undorf-Spahn, K., Kienzle, J., Zebitz, C. P., & Huber, J. (2005). Apfelwickler-granulovirus: erste Hinweise auf Unterschiede in der Empfindlichkeit lokaler Apfelwickler-populationen. *Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes*, *57*(2), 29-34.

García, F., Mosquera, M. T., Vargas, C., & Rojas, L. A. (2002). Control biológico, microbiológico y físico de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), plaga del maíz y otros cultivos en Colombia. *Revista Colombiana de Entomología*, *28*(1), 53-60.

Giri, L., Feiss, M. G., Bonning, B. C., & Murhammer, D. W. (2012). Production of baculovirus defective interfering

particles during serial passage is delayed by removing transposon target sites in fp25k. *Journal of General Virology*, *93*(Pt 2), 389-399. doi:10.1099/vir.0.036566-0.

Gómez-Valderrama, J., Cuartas, P., Ruiz, J., Uribe, L., Santos, A., León, G., & Villamizar, L. (2014). Estabilidad de una formulación a base de un granulovirus colombiano de *Erinnyis ello* (Lepidoptera:Sphingidae). *Revista Hechos Microbiológicos*, *5*(2, suplemento 2), 128. Recuperado de http://aprendeenlinea.udea.edu.co/revistas/index.php/hm/article/view/21416/17752.

Gómez, J., Cuartas, P., Ruiz, J., Villamizar, L., & León, G. (2015). Eficacia de una formulación a base de un granulovirus colombiano de *Erinnyis ello* (Lepidoptera: Sphingidae). En Sociedad Colombiana de Entomología (Socolen), *Resumenes xlii Congreso Colombiano de Entomología* (pp. 79). Medellín, Colombia: Socolen.

Gómez, J., Cuartas, P., León, G., Campos, J., Ruiz, C., Santos, A., & Villamizar, L. (2016). *Granulovirus para el control de Erinniys ello (Lepidoptera: Sphingidae) en el cultivo de caucho natural*. Ponencia presentada en xxiii Congreso Latinoamericano de Microbiología y xiv Congreso Argentino de Microbiología. Rosario, Argentina.

Gómez, J., Guevara, J., Cuartas, P., Espinel, C., & Villamizar, L. (2013). Microencapsulated *Spodoptera frugiperda* nucleopolyhedrovirus: insecticidal activity and effect on arthropod populations in maize. *Biocontrol Science and Technology*, *23*(7), 829-846.

Gómez, J., Moreno, C., Vega, K., Cotes, A., & Villamizar, L. (2011). Formulation effect over insecticidal activity of *Phthorimaea operculella* granulovirus VG003 for controlling *Tecia solanivora*. *IOBC/WPRS Bulletin, 66*, 441-445.

Gómez, J., Villamizar, L., Espinel, C., & Cotes, A. M. (2009). Comparación de la eficacia y la productividad de tres granulovirus nativos sobre larvas de *Tecia solanivora* (Povolny) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, *10*(2), 152-158. Recuperado de http://revista.corpoica.org.co/index.php/revista/article/download/137/140.

Gómez, J. A., Barrera, G., López-Ferber, M., Belaich, M., Ghiringhelli, P., & Villamizar, L. (2017). Potential of betabaculoviruses to control the tomato leafminer *Tuta absoluta* (Meyrick). *Journal of Applied Entomology*, *142*(1-2), 67-77.

Goto, C., Mukawa, S., & Mitsunaga, T. (2015). Two Year Field Study to Evaluate the Efficacy of *Mamestra brassicae* Nucleopolyhedrovirus Combined with Proteins Derived from *Xestia c-nigrum* Granulovirus. *Viruses*, *7*(3), 1062-1078. doi:10.3390/v7031062.

Goulson, D., Martínez, A.-M., Hughes, W. O., & Williams, T. (2000). Effects of optical brighteners used in biopesticide formulations on the behavior of pollinators. *Biological Control, 19*(3), 232-236. Recuperado de http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.418.8527&rep=rep1&type=pdf.

Grison, P. (1969). Reflexiones sobre la utilizacion de *Smithiavirus pityocampae* Vago en la lucha microbiologica contra *Thaumetopoea pityocampa* Schiff. *Boletín del Servicio de Plagas Forestales, 24*, 105-112.

Grison, P., Vago, C., & Maury, R. (1959). La lutte contre la processionnaire du pin "*Thaumetopoca pityocampa*" Schiff dans le massif du ventoux. Essai d'utilisation pratique d'un virus spécifique. *Revue Forestière Française, 5*, 353-370. Recuperado de http://hdl.handle.net/2042/27499.

Gröner, A. (1986). Specificity and safety of baculoviruses. En: R. R. Granados & B. Federici (Eds.), *The Biology of Baculoviruses*. (Vol. I, Biological Properties and Molecular Biology, pp. 177-202). Boca Ratón, EE. UU.: CRC Press.

Guo, H., Fang, J., Wang, J., Zhong, W., & Liu, B. (2007). Interaction of *Xestia c-nigrum* granulovirus with peritrophic matrix and *Spodoptera litura* nucleopolyhedrovirus in *Spodoptera litura*. *Journal of Economic Entomology*, *100*(1), 20-25. Recuperado de http://ipp.jaas.ac.cn/Article/UploadFiles/200907/2009072310303981.pdf.

Haase, S., Sciocco-Cap, A., & Romanowski, V. (2015). Baculovirus insecticides in Latin America: historical overview, current status and future perspectives. *Viruses*, *7*(5), 2230-2267. doi:10.3390/v7052230.

Hauschild, R. (2011). Facilitations in the regulation of plant protection products containing baculoviruses. En R. Ehlers (Ed.), *Regulation of Biological Control Agents* (pp. 259-266). Dordrecht, Holanda: Springer.

Hoffmann-Campo, C. B., Moscardi, F., Corrêa-Ferreira, B. S., Oliveira, L. J., Sosa-Gómez, D. R., Panizzi, A. R., ... Oliveira, E. D. (2000). *Pragas da soja no Brasil e seu manejo integrado*. Recuperado de https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/circtec30_000g46xpyyv02wx5ok0iuqaqkbbpq943.pdf.

Hoover, K., Humphries, M. A., Gendron, A. R., & Slavicek, J. M. (2010). Impact of viral enhancin genes on potency of *Lymantria dispar* multiple nucleopolyhedrovirus in *L. dispar* following disruption of the peritrophic matrix. *Journal of Invertebrate Pathology*, *104*(2010), 150-152. Recuperado de https://pdfs.semanticscholar.org/13d3/3cd93ea157b8f2bc278ed906fbc123d871b5.pdf.

Huber, J. (1986). Use of baculoviruses in pest management programmes. En: R. R. Granados, & B. Federici (Eds.), *The Biology of Baculoviruses*. (Vol. ii, Practical Application for Insect Control, pp. 181-202). Boca Raton, EE. UU.: CRC Press.

Hukuhara, T., & Wijonarko, A. (2001). Enhanced fusion of a nucleopolyhedrovirus with cultured cells by a virus enhancing factor from an entomopoxvirus. *Journal of Invertebrate Pathology*, *77*(1), 62-67.

Ibarra, J. E., & Del Rincón M. C. (1998). Virus entomopatógenos. En *Curso Nacional de Control Biológico* (pp. 90-103). Río Bravo, México: Sociedad Mexicana de Control Biológico.

Ignoffo, C. M, Hostetter, D. L., Sikorowski, P. P., Sutter, G., & Brooks, W. M. (1977). Inactivation of representative species of entomopathogenic viruses, a bacterium, fungus and protozoan by an ultraviolet light source. *Environmental Entomology*, *6*(3), 411-415.

Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). 2017. *Productos registrados bioinsumos*. Recuperado de http://www.ica.gov.co/getdoc/2ad9e987-8f69-4358-b8a9-e6ee6dcc8132/PRODUCTOSBIOINSUMOS-MAYO-13-DE-2008.aspx.

International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). (2016). *Virus taxonomy: 2016 Release*. Recuparado de https://talk.ictvonline.org/taxonomy.

Ince, I. A., Demir, I., Demirbag, Z., & Nalcacioglu, R. (2007). A cytoplasmic polyhedrosis virus isolated from the pine processionary caterpillar, *Thaumetopoea pityocampa*. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, *17*(4), 632-637.

Ishimori, N. (1934). Contribution à l'étude de la grasserie du ver a soie (*Bombyx mori*). *Comptes Rendus des Seances de la Societe de Biologie et de ses filiales*, *116*, 1169-1170.

Jehle, J., Schulze-Bopp, S., Undorf-Spahn, K., & Fritsch, E. (2017). Evidence for a second type of resistance against *Cydia pomonella* Granulovirus in Field populations of codling moths. *Applied and Environmental Microbiology*, *83*(2), e02330-02316. doi:10.1128/AEM.02330-16.

Jehle, J. A., Lange, M., Wang, H., Hu, Z., Wang, Y., & Hauschild, R. (2006). Molecular identification and phylogenetic analysis of baculoviruses from Lepidoptera. *Virology*, *346*(1), 180-193. doi:10.1016/j.virol.2005.10.032.

Kelly, D. (1982). Baculovirus replication. *Journal of General Virology*, *63*, 1-13.

Kirby, W., & Spencer, W. (1826). *An introduction to entomology*. Londres, Inglaterra: Longman, Hurst, Rees, Orme, and Borwn.

Komárek, J., & Breindl, V. (1924). Die Wipfelkrankheit der Nonne und der Erreger derselben. *Journal of Applied Entomology*, *10*(1), 99-162.

Kondo, T. (2011). Notas sobre el uso correcto del término técnico para referirse a la cría masiva de insectos y otros artrópodos: cría masiva vs. cría masal y cría en masa. *Boletín del Museo de Entomología de la Universidad del Valle*, *12*(2), 26-28. Recuperado de http://entomologia.univalle.edu.co/boletin/5Kondo2.pdf.

Kozuma, K., & Hukuhara, T. (1994). Fusion characteristics of a nuclear polyhedrosis virus in cultured cells: time course and effect of a synergistic factor and pH. *Journal of Invertebrate Pathology*, *63*(1), 63-67. doi:10.1006/jipa.1994.1010.

Kruger, D., Schneck, P., & Gelderblom, H. (2000). Helmut Ruska and the visualisation of viruses. *The Lancet*, *355*(9216), 1713-1717.

Kurstak, S., Belloncik, S., & Brailovsky, C. (1969). Transformation de cellules L de souris par un virus d'invertébrés: le virus de la densonucléose (VDN). *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, *269*, 1716-1719.

Lacey, L., Grzywacz, D., Shapiro-Ilan, D., Frutos, R., Brownbridge, M., & Goettel, M. (2015). Insect pathogens as biological control agents: back to the future. *Journal of Invertebrate Pathology*, *132*, 1-41. doi:10.1016/j.jip.2015.07.009.

Lasa, R., Pagola, I., Ibanez, I., Belda, J. E., Williams, T., & Caballero, P. (2007). Efficacy of *Spodoptera exigua* multiple nucleopolyhedrovirus as a biological insecticide for beet armyworm control in greenhouses of southern Spain. *Biocontrol Science and Technology*, *17*(3), 221-232. doi:10.1080/09583150701211335.

LeConte, J. (1874). Hints for the promotion of economic entomology. *Proceedings of the American Association for the Advancement of Science*, *22*, 10-22.

León, M., Beltrán, G. A., Campos, J. A., & Juan, C. (2010). *Enemigos naturales y manejo integrado del gusano cachón* (*Erinnyis ello*) *en el cultivo del caucho* (*Hevea brasiliensis*). Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/270161239_Enemigos_naturales_y_manejo_integrado_del_gusano_cachon_Erinnyis_ello_en_el_cultivo_del_caucho.

Lepore, L. S., Roelvink, P. R., & Granados, R. R. (1996). Enhancin, the granulosis virus protein that facilitates nucleopolyhedrovirus (NPV) infections, is a metalloprotease. *Journal of Invertebrate Pathology*, *68*(2), 131-140. doi:10.1006/jipa.1996.0070.

Lewis, F. (1981). Gypsy moth nuclepolyhedrosis virus. En C. Doane, & M. L. McManus (Eds.), *The gypsy moth: research toward integrated pest management* (pp. 454-455). Recuperado de https://naldc.nal.usda.gov/download/CAT82474520/PDF.

Linley, J., & Nielsen, H. (1968). Transmission of a mosquito iridescent virus in *Aedes taeniorhynchus*: I. Laboratory experiments. *Journal of Invertebrate Pathology*, *12*(1), 7-16.

Lipsont, S. M., & Stotzky, G. (1984). Effect of proteins on reovirus adsorption to clay minerals. *Applied and Environmental Microbiology*, *48*(3), 525-530.

López-Ávila, A., & Espitia-Malagón, E. (2000). *Plagas y benéficos en el cultivo de la papa en Colombia*. [Boletín Técnico Divulgativo Corpoica]. Bogotá, Colombia: Produmedios.

López-Ferber, M., Simón, O., Williams, T., & Caballero, P. (2003). Defective or effective? Mutualistic interactions between virus genotypes. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, *270*(1530), 2249-2255. doi:10.1098/rspb.2003.2498.

Marina, C. F., Feliciano, J. M., Valle, J., & Williams, T. (2000). Effect of temperature, pH, ion concentration, and chloroform treatment on the stability of invertebrate iridescent virus 6. *Journal of Invertebrate Pathology*, *75*(1), 91-94.

Martínez, A., Tapiero, A., León, G., Arguello, O., Gutiérrez, A., García, F., … Pinzón, Y. (2013). *Modelo productivo para el cultivo del árbol de caucho natural en la Orinoquía. Zonas de escape y no escape al Mal Suramericano de la hojas de Caucho*. Bogotá, Colombia: Corporación Centro de Investigación en Caucho (Cenicaucho), Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica).

Martínez, A. M., Simón, O., Williams, T., & Caballero, P. (2003). Effect of optical brighteners on the insecticidal activity of a nucleopolyhedrovirus in three instars of *Spodoptera frugiperda*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, *109*(2), 139-146. Recuperado de http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.485.406&rep=rep1&type=pdf.

McWilliam, A. (2006). *Environmental impact of baculoviruses*. Recuperado de http://www.fao.org/docs/eims/upload/agrotech/2003/R7299_FTR_anx3.pdf.

Miele, S. A. B., Garavaglia, M. J., Belaich, M. N., & Ghiringhelli, P. D. (2011). Baculovirus: molecular insights on their diversity and conservation. *International Journal of Evolutionary Biology*, *2011*, 379424. doi:10.4061/2011/379424.

Miller, L. K. (1997). *The Viruses: The baculoviruses*. Nueva York, EE. UU.: Plenum Press.

Mitsuhashi, W. (2009). Recent advances in studies for the application of a protein produced by entomopoxviruses (poxviridae) for insect-pest control. *Japan Agricultural Research Quarterly* JARQ, *43*(4), 289-294. Recuperado de https://www.jircas.go.jp/sites/default/files/publication/jarq/43-04-03_0.pdf.

Mitsuhashi, W., & Sato, M. (2000). Enhanced infection of a nucleopolyhedrovirus in a lepidopteran pest (*Spilosoma imparilis*) by spindles of a coleopteran entomopoxvirus (EPV) (*Anomala cuprea* EPV). *Journal of Forest Research*, *5*(4), 285-287. doi:10.1007/BF02767123.

Morales, L., Moscardi, F., Sosa-Gómez, D. R., Paro, F. E., & Soldorio, I. L. (2001). Fluorescent brighteners improve *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) nucleopolyhedrovirus (AgMNPV) activity on AgMNPV-susceptible and resistant strains of the insect. *Biological Control*, *20*(3), 247-253. doi:10.1006/bcon.2000.0904.

Mori, H., & Metcalf, P. (2010). Cypoviruses. En S. Asgari, & K. N. Johnson (Eds.), *Insect virology* (pp. 307-323). Haverhill, Reino Unido: Caister Academic Press.

Moscardi, F. (1989). Use of viruses for pest control in Brazil: the case of the nuclear polyhedrosis virus of the soybean caterpillar, *Anticarsia gemmatalis*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, *84*(3), 51-56.

Moscardi, F. (1999). Assessment of the application of baculoviruses for control of Lepidoptera. *Annual Review of Entomology*, *44*, 257-289. doi:10.1146/annurev.ento.44.1.257.

Moscardi, F., de Souza, M. L., de Castro, M. E. B., Moscardi, M. L., & Szewczyk, B. (2011). Baculovirus pesticides: present state and future perspectives. En I. Ahmad, F. Ahmad, & J. Pichtel (Eds.), *Microbes and microbial technology* (pp. 415-445). Nueva York, EE. UU.: Springer.

Mukawa, S., & Goto, C. (2007). Enhancement of nucleopolyhedrovirus infectivity against *Mamestra brassicae* (Lepidoptera: Noctuidae) by proteins derived from granulovirus and a fluorescent brightener. *Journal of Economic Entomology*, *100*(4), 1075-1083.

Mukawa, S., & Goto, C. (2010). Mamestra brassicae nucleopolyhedrovirus infection and enhancing effect of proteins derived from *Xestia c-nigrum* granulovirus in larvae of *Mamestra brassicae* and *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) on cabbage. *Journal of Economic Entomology*, *103*(2), 257-264.

Mukawa, S., & Goto, C. (2011). Enhancing effect of proteins derived from *Xestia c-nigrum* granulovirus on *Mamestra brassicae* nucleopolyhedrovirus infection in larvae of *Autographa nigrisigna* (Lepidoptera: Noctuidae) on cabbage. *Applied Entomology and Zoology*, *46*(1), 55-63.

Murhammer, D. W. (Ed.). (2007). *Baculovirus and insect cell expression protocols*. Recuperado de https://link.springer.com/book/10.1007%2F978-1-59745-457-5.

Nalcacioglu, R., Muratoğlu, H., Yeşilyurt, A., Van Oers, M. M., Vlak, J. M., & Demirbağ, Z. (2016). Enhanced insecticidal activity of Chilo iridescent virus expressing an insect specific neurotoxin. *Journal of Invertebrate Pathology*, *138*, 104-111.

Nazir, J., Haumacher, R., Ike, A. C., & Marschang, R. E. (2011). Persistence of Avian Influenza Viruses in Lake Sediment, Duck Feces, and Duck Meat. *Applied and Environmental Microbiology*, *77*(14), 4981-4985. doi:10.1128/AEM.00415-11.

Nealson, K., & Hastings, J.W. (1979). Bacterial bioluminescence: its control and ecological significance. *Microbiological Reviews*, *43*(4), 496-518.

Negrete, F., & Morales, A. (2003). *El gusano cogollero del maíz* (*Spodoptera frugiperda. Smith*). Recuperado de http://bibliotecadigital.agronet.gov.co/bitstream/11348/4870/2/20061127153058_El%20gusano%20cogollero%20del%20maiz.pdf.

Okuno, S., Takatsuka, J., Nakai, M., Ototake, S., Masui, A., & Kunimi, Y. (2003). Viral-enhancing activity of various stilbene-derived brighteners for a *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) nucleopolyhedrovirus. *Biological Control*, *26*(2), 146-152. doi:10.1016/s1049-9644(02)00122-6.

Ordóñez-García, M., Ríos-Velasco, C., Berlanga-Reyes, D. I., Acosta-Muñiz, C. H., Salas-Marina, M. Á., & Cambero-Campos, O. J. (2015). Occurrence of natural enemies of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Chihuahua, Mexico. *The Florida Entomologist, 98*(3), 843-847. doi:10.1653/024.098.0305.

O'Reilly D. R., & Miller L. K. (1991) Improvement of a baculovirus pesticide by deletion of the EGT gene. *Bio/Technology 9*, 1086-1089. doi:10.1038/nbt1191-1086.

Paillot, A. (1926). Sur une nouvelle maladie du noyau ou grasserie des chenilles de *P. brassicae* et un nouveau groupe de microorganismes parasites. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences, 182*, 180-182.

Pasteur, L. (1870). *Études sur la maladie des vers à soie*. París, Francia: Gauthier-Villars.

Perera, S., Li, Z., Pavlik, L., & Arif, B. (2010). Entomopoxviruses. Ascoviruses. En S. Asgari & K. Johnson (Eds.), *Insect virology* (pp. 83-102). Norfolk, Reino Unido: Caister Academic Press.

Pérez, L., Puerta, M. C., Bustillo, A., & Madrigal, A. (1988). Evaluación del Baculovirus phthorimaea VG en larvas de la polilla de la papa *Phthorimaea operculella* (Zeller). *Revista Colombiana de Entomología, 14*(2), 33-40.

Pesticideinfo. (2018). *PANPesticides Database*. Recuperado de http://www.pesticideinfo.org.

Popham, H. J., Nusawardani, T., & Bonning, B. C. (2016). Introduction to the use of baculoviruses as biological insecticides. En D. W. Murhammer (Ed.), *Baculovirus and insect cell expression protocols* (pp. 383-392). Recuperado de https://link.springer.com/book/10.1007%2F978-1-59745-457-5.

Possee, R. D., Griffiths, C. M., Hitchman, R. B., Chambers, A., Murguia-Meca, F., Danquah, J. ... King, L. (2010). Baculoviruses: biology, replication and exploitation. En S. Asgari, & K. Johnson. *Insect virology* (pp. 35-57). Norfolk, Reino Unido: Caister Academic Press.

Pratissoli, D., Zanúncio, J. C., Barros, R., & Oliveira, H. N. d. (2002). Leaf consumption and duration of instars of the cassava defoliator *Erinnyis ello* (L., 1758) (Lepidoptera, Sphingidae). *Revista Brasileira de Entomologia, 46*(3), 251-254.

Renault, S., Stasiak, K., Federici, B., & Bigot, Y. (2005). Commensal and mutualistic relationships of reoviruses with their parasitoid wasp hosts. *Journal of Insect Physiology, 51*(2), 137-148.

Rezapanah, M., Shojai-Estabragh, S., Huber, J., & Jehle, J. (2008). Molecular and biological characterization of new isolates of *Cydia pomonella* granulovirus from Iran. *Journal of Pest Science, 81*, 187. doi:10.1007/s10340-008-0204-2.

Rodríguez-Pérez, M. A., & Beckage, N. E. (2006). Estrategias co-evolutivas de la interacción entre parasitoides y polidnavirus. *Revista Latinoamericana de Microbiología, 48*(1), 31-43.

Rodríguez, J. M., Salas, M. L., & Viñuela, E. (1992). Genes homologous to ubiquitin-conjugating proteins and eukaryotic transcription factor SII in African swine fever virus. *Virology, 186*(1), 40-52.

Romero, R. (2007). *Microbiología y parasitología humana. Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas y parasíticas* (3.a ed.). Madrid, España: Editorial Médica Panamericana.

Rohrmann, G. (2011). *Baculovirus molecular biology*. Recuperado de https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK49500/.

Ruiz, C., Gómez-Valderrama, J., Chaparro, M., Sotelo, P., & Villamizar, L. (2015). Ajuste de las condiciones de un sistema para la producción *in vivo* de un nucleopoliedrovirus de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Biotecnología Aplicada, 32*(4), 4311-4316.

Sauphanor, B., Berling, M., Toubon, J.-F., Reyes, M., Delnatte, J., & Allemoz, P. (2006). Carpocapse des pommes cas de résistance au virus de la granulose en vergers biologiques: fruits et légumes. *Phytoma-La défense des végétaux, 590*, 24-27.

Schmitt, A. (1988). Uso de Baculovirus erinnyis para el control biológico del gusano cachón de la yuca. *Yuca: Boletín Informativo 12*(1), 1-4.

Schmutterer, H. (1990). Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. *Annual Review of Entomology, 35*, 271-297. doi:10.1146/annurev.en.35.010190.001415.

Senthil, N. K., Murugan, K., & Zhang, W. (2008). Additive interaction of *Helicoverpa armigera* Nucleopolyhedrovirus and Azadirachtin. *BioControl, 53*, 869. doi:10.1007/s10526-007-9115-z.

Senthil, N. S., & Kalaivani, K. (2005). Efficacy of nucleopolyhedrovirus and azadirachtin on *Spodoptera litura* Fabricius (Lepidoptera: Noctuidae). *Biological Control, 34*(1), 93-98. doi:10.1016/j.biocontrol.2005.03.001.

Shapiro, M. (2000). Enhancement in activity of homologous and heterologous baculoviruses infectious to beet armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) by an optical brightener. *Journal of Economic Entomology, 93*(3), 572-576.

Shapiro, M., El Salamouny, S., & Merle Shepard, B. (2008). Green tea extracts as ultraviolet protectants for the beet armyworm, *Spodoptera exigua*, nucleopolyhedrovirus. *Biocontrol Science and Technology, 18*(6), 591-603.

Shelby, K. S., & Webb, B. A. (1999). Polydnavirus-mediated suppression of insect immunity. *Journal of Insect Physiology, 45*(5), 507-514.

Smith, K. M., & Wyckoff, R. W. G. (1950). Structure within polyhedra associated with insect virus diseases. *Nature, 166*, 861-862

Simón, O., Williams, T., López-Ferber, M., & Caballero, P. (2005). Functional importance of deletion

mutant genotypes in an insect nucleopolyhedrovirus population. *Applied and Environmental Microbiology, 71*(8), 4254-4262.

Slavicek, J. M. (2012). Baculovirus enhancins and their role in viral pathogenicity. En M. P. Adoga (Ed.), *Molecular virology* (pp. 147-168). Recuperado de https://www.nrs.fs.fed.us/pubs/jrnl/2012/nrs_2012_slavicek_001.pdf.

Song, J., Wang, X., Hou, D., Huang, H., Liu, X., Deng, F., … & Wang, M. (2016). The host specificities of baculovirus *per os* infectivity factors. *PloS One, 11*(7), e0159862. doi:10.1371/journal.pone.0159862.

Sosa-Gómez, D., Moscardi, F., Santos, B., Alves, L., & Alves, S. (2008). Produção e uso de vírus para o controle de pragas na América Latina. En S. Alves & R. Lopes (Eds.), *Controle microbiano de pragas na América Latina: Avanços e desafios* (pp. 49-58). Piracicaba, Brasil: Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz (FEALQ).

Steinhaus, E.A. (1949). *Principles of Insect Pathology*. Nueva York, EE. UU.: McGraw-Hill.

Stewart, L. M., Hirst, M., López Ferber, M., Merryweather, A. T., Cayley, P. J., & Posses, R. D. (1991): Construction of an improved baculovirus insecticide containing an insect specific toxin gene. *Nature, 352*(6330), 85-88.

Strand, M. (2010). Polydnaviruses. En S. Asgari & K. Johnson (Eds.), *Insect virology* (pp. 171-197). Norfolk, Reino Unido: Caister Academic Press.

Sun, X. (2015). History and current status of development and use of viral insecticides in China. *Viruses, 7*(1), 306-319.

Szewczyk, B., Hoyos-Carvajal, L., Paluszek, M., Skrzecz, I., & De Souza, M. L. (2006). Baculoviruses—re-emerging biopesticides. *Biotechnology Advances, 24*(2), 143-160.

Szewczyk, B., Rabalski, L., Krol, E., Sihler, W., & Lobo de Souza, M. (2009). Baculovirus biopesticides–a safe alternative to chemical protection of plants. *Journal of Biopesticides, 2*(2), 209-216.

Tanada, Y. (1959a). Descriptions and characteristics of a nuclear polyhedrosis virus and a granulosis virus of the armyworm, *Pseudaletia unipuncta* (Haworth) (Lepidoptera, Noctuidae). *Journal of Insect Pathology, 1*, 197-214

Tanada, Y. (1959b). Synergism between two viruses of the armyworm, *Pseudaletia unipuncta* (Haworth) (Lepidoptera, Noctuidae). *Journal of Insect Pathology, 1*, 215-231.

Tijssen, P., & Bergoin, M. (1995). Densonucleosis viruses constitute an increasingly diversified subfamily among the parvoviruses. *Seminars in Virology, 6*(5), 347-355. doi:10.1006/smvy.1995.0041.

Tomalski, M. D., & Miller, L. K. (1991). Insect paralysis by baculovirus-mediated expression of a mite neurotoxin gene. *Nature, 352*(6330), 82-85.

Universität Mannheim. (s. f.). *Vida, Marco Girolamo (c. 1485-1566)*. Recuperado de http://www.uni-mannheim.de/mateo/itali/autoren/vida_itali.html.

Valicente, F., Tuelher, E., Pena, R., Andreazza, R., & Guimarães, M. (2013). Cannibalism and virus production in *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera:

Noctuidae) larvae fed with two leaf substrates inoculated with baculovirus spodoptera. *Neotropical Entomology*, *42*(2), 191-199.

Valicente, F. H., Tuelher, E. d. S., Paiva, C., Gumaraes, M., Macedo, C., & Wolff, J. (2008). A new baculovirus isolate that does not cause the liquefaction of the integument in *Spodoptera frugiperda* dead larvae. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, *7*(1), 77-82.

Van Beek, N., & Davis, D.C. (2016). Baculovirus Insecticide Production in Insect Larvae. *Methods in Molecular Biology*, *1350*, 393-405. doi:10.1007/978-1-4939-3043-2_20.

Vargas, B., Rubio, S., & López-Ávila, A. (2004). Estudios de hábitos y comportamiento de la polilla guatemalteca de la papa *Tecia solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae) en papa almacenada. *Revista Colombiana de Entomología*, *30*(2), 211-217.

Villamizar, L., Zeddam, J., Espinel, C., & Cotes, A. (2005). Implementación de técnicas de control de calidad para la producción de un bioplaguicida a base del granulovirus de *Phthorimaea operculella* Phop GV. *Revista Colombiana de Entomología*, *31*(2), 127-132.

Villamizar, L., Barrera, G., Cotes, A. M. & Martínez, F. (2010). Eudragit S100 microparticles containing *Spodoptera frugiperda* nucleopolyehedrovirus: physicochemical characterization, photostability and in vitro virus release. *Journal of Microencapsulation*, *27*(4), 314-324.

Villamizar, L. F. (2011). Virus entomopatógenos y cambio climático. En Sociedad Colombiana de Entomología (Socolen) (Ed.), *Memorias xxxvii Congreso Socolen Cambio climático: Retos y oportunidades para la entomología* (pp. 127-143). Manizales, Colombia: Socolen.

Villanueva, D., & Saldamando, C. (2013). *Tecia solanivora*, Povolny (Lepidoptera: Gelechiidae): una revisión sobre su origen, dispersión y estrategias de control biológico. *Ingeniería y Ciencia*, *9*(18), 197-214.

Von Tubeuf, C. (1892). Die Krankheiten der Nonne. *Naturwissenschaften Z*, *1*, 34-47.

Williams, T., Barbosa-Solomieu, V., & Chinchar, V. G. (2005). A decade of advances in iridovirus research. *Advances in Virus Research*, *65*, 173-248.

Williams, T., & Ward, V. (2010). Iridoviruses. En S. Asgari & K. Johnson (Eds.), *Insect virology* (pp. 123-152). Norfolk, Reino Unido: Caister Academic Press.

Xeros, N. (1952). Cytoplasmic polyhedral virus diseases. *Nature*, *170*, 1073. doi:10.1038/1701073a0.

Xu, J., & Hukuhara, T. (1992). Enhanced infection of a nuclear polyhedrosis virus in larvae of the armyworm, *Pseudaletia separata*, by a factor in the spheroids of an entomopoxvirus. *Journal of Invertebrate Pathology*, *60*(3), 259-264.

Zenner, I., Arévalo, H. A., & Mejía, R. (2007). El gusano cogollero del maíz, *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) y algunas plantas transgénicas. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, *1*(1), 103-113.

Zhu, R., Liu, K., Peng, J., Yang, H., & Hong, H. (2007). Optical brightener M2R destroys the peritrophic membrane of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. *Pest Management Science*, *63*(3), 296-300.

Capítulo 8

Las feromonas en el control de insectos

Chapter 8

Pheromones in insect control

Felipe Borrero-Echeverry,[1] Nancy Barreto-Triana,[1]
Sandra Milena Aragón-Rodríguez,[1] Hugo Fernando Rivera-Trujillo,[1]
Cam Oehlschlager,[2] Alba Marina Cotes[1]

[1] Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA)

[2] ChemTica Internacional S. A.

Contenido

Introducción 414

Antecedentes históricos 415

Mecanismos de acción de las feromonas 418

Estrategias de control de insectos plaga utilizando feromonas 420

- Monitoreo 420
- Capturas masivas y las feromonas como atracticidas 421
- La interrupción de la cópula 421
- Evaluación de resistencia 422
- Las cairomonas y su interacción con las feromonas 422

Las feromonas en el panorama internacional 424

Las feromonas en el panorama latinoamericano 429

- Algodón 430
- Palma de aceite 430
- Tomate 432

Las feromonas en el panorama colombiano 433

- Algodón 433
- Moscas de la fruta 435
- Tomate 435
- Palmas 435
- Estudio de semioquímicos en guayaba y aguacate 436
- Estudios de semioquímicos en papa 437

Productos disponibles en el mercado 440

Factores limitantes 442

Conclusiones y perspectivas 444

Agradecimientos 444

Referencias 445

Resumen

En la década de los años setenta, los entomólogos e investigadores agropecuarios se dieron cuenta que la manipulación de la comunicación entre insectos podía ser utilizada para el manejo de plagas. Las feromonas sexuales y de agregación son señales químicas que los insectos utilizan para localizar parejas para la cópula, y fueron identificadas como potenciales herramientas de gran utilidad para su control. Desde entonces, se han identificado las feromonas de más de 3.000 especies de insectos y cientos de ellas se han evaluado y desarrollado para el control de plagas agrícolas. En la actualidad, las feromonas se utilizan dentro de estrategias de manejo integrado para monitorear poblaciones, llevar a cabo capturas masivas o utilizarlas como atracticidas, o para instaurar programas de interrupción de cópula. En este capítulo se resumen las diferentes estrategias de control con el uso de feromonas, y se hace un recorrido sobre el estado del arte de las feromonas de insectos y su aplicación a nivel internacional, latinoamericano y colombiano.

Palabras clave

Atracticidas, captura masiva, feromonas de agregación, feromonas sexuales, interrupción de la cópula, manejo integrado de plagas, monitoreo

Abstract

In the 1970s entomologists and agricultural researchers realized that manipulating the communication channels that insects use could be used to control pest insects. Pheromones, the chemical signals that insects use in mate-finding, were quickly identified as potential candidates in this context. Since then the pheromones of over 3000 insect species have been identified and those of hundreds of species have been evaluated and developed as means to control pest insects. Nowadays, insect pheromones are used in integrated pest management programs to monitor populations, in mass trapping or lure and kill strategies, or in mating disruption programs. In this chapter we discuss the different strategies involving pheromones for pest control, and summarize the development and use of pheromones at the international, Latin-American, and Colombian levels.

Keywords

Aggregation pheromones, integrated pest management, lure and kill, mass trapping, mating disruption, monitoring, sex pheromones

Introducción

La comunicación química es la más antigua de la naturaleza; además, es utilizada por todos los seres vivos sin excepción. Los compuestos químicos involucrados en dicha comunicación son denominados semioquímicos y, tradicionalmente, han sido subdivididos en cuatro categorías: alomonas, sinomonas, cairomonas y feromonas (Regnier, 1971). Las alomonas, sinomonas y cairomonas son compuestos involucrados en la comunicación interespecífica: las alomonas presentan un beneficio al organismo que las produce y costo al organismo que las percibe; por otra parte, las cairomonas presentan un costo para el emisor y beneficio para el receptor, y las sinomonas benefician tanto al emisor como al receptor. En cambio, las feromonas son compuestos químicos utilizados en la comunicación intraespecífica y son el enfoque de este capítulo (Eisner & Meinwald, 1995; Regnier, 1971).

Las feromonas son los semioquímicos más estudiados en la ecología química de los insectos. Decenas de miles de compuestos han sido identificados como feromonas, o parte de una feromona, en más de 3.000 especies de insectos (El-Sayed, 2014). Aunque algunas feromonas pueden contener un solo compuesto químico, la mayoría consisten en mezclas de varios compuestos en proporciones específicas y, en esos casos, es a esta mezcla a la que se denomina "feromona" (Borrero-Echeverry, 2016). Cambios en tales proporciones o la ausencia de un compuesto pueden hacer que la feromona pierda fidelidad (Linn, Campbell, & Roelofs, 1986), llevando a la reducción de su eficacia o interrupción de la comunicación, lo que puede traer consigo la divergencia de poblaciones y su eventual especiación (Saveer et al., 2014; Velásquez-Vélez, Saldamando-Benjumea, & Ríos-Diez, 2011).

Las feromonas han sido tradicionalmente subdivididas en feromonas de alarma, reclutamiento, territorialidad, trilla, sexuales y de agregación, (Regnier, 1971). Las feromonas de alarma son utilizadas por un individuo para avisarle a otros de su especie la presencia de depredadores o si la colonia se ve amenazada, llevando a comportamientos de huida, frecuente en áfidos o de defensa, en abejas, avispas y termitas (Vilela & Della, 2001). Las feromonas de reclutamiento son utilizadas por insectos con cierto grado de sociabilidad y sirven para reunir más individuos, con el fin de aprovechar un recurso o para ocupar un nicho (Vander Meer, Breed, Espelie, & Winston, 1998; Yew & Chung, 2015). Las feromonas de territorialidad son utilizadas por hormigas y abejas para marcar el área específica donde se establecerá la colonia, para indicar la entrada al nido o para diferenciar un nido de otra colonia. Las feromonas de trilla o de marcación del camino, son utilizadas por insectos sociales como hormigas y termitas para la orientación de individuos de su colonia hacia la fuente de alimento o nuevos sitios de vivienda (Vilela & Della, 2001). Tanto las feromonas sexuales como las de agregación son atrayentes fuertes y han sido las más estudiadas para el control de plagas.

Las feromonas sexuales de las polillas son las más estudiadas, dado que incitan un comportamiento de vuelo estereotípico en los machos al ser la principal señal que utilizan para localizar hembras conespecíficas. Además, las feromonas producidas por las hembras también sirven como afrodisíacos y hay evidencia de que feromonas producidas por los machos pueden ejercer la misma función en algunas especies (Jacobson, 2012). Las feromonas sexuales normalmente presentan dimorfismo: las sustancias producidas por machos y hembras de una misma especie son constituidas por compuestos diferentes y cumplen papeles diferentes, lo que significa que no solo funcionan como señales intraespecíficas, sino también como señales inter e intragénero (Vosshall, 2008). En contraposición, las feromonas de agregación atraen tanto a machos como a hembras para alimentación, reproducción o hibernación de la misma especie y son comunes en los órdenes Coleoptera, Blattodea y Hemiptera, pero han sido principalmente estudiadas en coleópteros gracias a su importancia económica (Bell, Parsons, & Martinko, 1972; Gries et al., 2015; Symonds & Gitau-Clarke, 2016).

Durante décadas, las feromonas han sido estudiadas y utilizadas en el control de plagas agrícolas. Su alta especificidad y capacidad para atraer insectos a bajas concentraciones las ha convertido en herramientas ideales para cebar trampas. Además, el hecho de ser elementos clave en la localización de parejas y en el proceso de cópula ha permitido que la manipulación de estas se utilice para interrumpir el sistema de comunicación y reducir las poblaciones efectivas.

Antecedentes históricos

La importancia de la comunicación química entre insectos y entre plantas e insectos ha sido reconocida desde mediados del siglo xix en los trabajos de Ernst Stahl, Anton Kerner von Marilaun y Léo Herrera, entre otros (Harborne, 2001; Hartmann, 2008). En 1879, el entomólogo francés Jean-Henri Fabre describió por primera vez que machos de la polilla pavo real (*Saturnia pyri*) eran atraídos por hembras mantenidas en jaulas a kilómetros de distancia (Fabre, 1879). Al mismo tiempo, el entomólogo americano Joseph Lintner llevó a cabo observaciones similares y propuso que los olores emitidos por los insectos podían ser utilizados para controlar especies plaga (Leal, 2014). Cincuenta años después, en la década de 1930, se confirmó la existencia de las feromonas de insectos, utilizando trampas con hembras de polillas en frutales en Checoslovaquia (Farský, 1938). En 1939 comenzó la monumental tarea de identificar la primera feromona de una polilla y, al cabo de 20 años, Butenandt, Beckmann, Stamm y Hecker (1959) lograron identificar la feromona de *Bombyx mori*, y Karlson y Lüscher (1959) utilizaron por primera vez el término "feromona".

La segunda mitad del siglo xx se vio marcada por el rápido desarrollo de las técnicas y sistemas de aplicación de las feromonas. En la década de los años sesenta se produjo un gran número de estudios sobre la morfología y fisiología de la percepción de olores por parte de los insectos. Se determinó por primera vez la importancia de las mezclas de compuestos en la función de las feromonas (Wood, Browne, Silverstein, & Rodin, 1966), también se avanzó en desarrollos técnicos que facilitaron la identificación de las feromonas. Entre estas técnicas es importante resaltar el desarrollo del electroantenógrafo (Schneider, 1969; Schneider & Kaissling, 1957) (ver capítulo 15 de este libro sobre investigación y desarrollo de feromonas), así como el uso de la cromatografía de gases, la espectrometría de masas y la resonancia magnética nuclear. Además, se llevaron a cabo los primeros estudios sobre el control de insectos con el uso de feromonas, para interrumpir el sistema de comunicación entre machos y hembras de una polilla (Gaston, Shorey, & Saario, 1967).

En la década de los años setenta, se desarrollaron el electroantenógrafo acoplado a un cromatógrafo de gases (Arn, Städler, & Rauscher, 1975) (GC-EAD) y los túneles de viento (Kennedy & Marsh, 1974), dos de las técnicas más utilizadas hasta la fecha (ver capítulo 15). También se comenzaron a utilizar las feromonas en cultivos comerciales para monitorear poblaciones y para reducir el uso de insecticidas químicos, registrándose en 1978, en los Estados Unidos, la primera feromona para el control de la lagarta rosada (*Pectinophora gossypiella*) mediante interrupción de la cópula. Las décadas de los años ochenta y noventa vieron el rápido desarrollo de las feromonas para el control de un gran número de insectos y su establecimiento en el mercado como herramientas fundamentales del manejo integrado de plagas.

El siglo xxi se ha caracterizado por estudios ecológicos, etológicos y aplicados, apoyados por herramientas bioquímicas, fisiológicas, anatómicas y genéticas que han ampliado el conocimiento y presentan nuevas oportunidades para el desarrollo de las feromonas. Estas nuevas herramientas han ayudado a comprender tanto el contexto ecológico detrás de la comunicación química, como los mecanismos que regulan la percepción y procesamiento de los olores.

El descubrimiento de los receptores de odorantes (or por sus siglas en inglés) en mamíferos (Buck & Axel, 1991) y de receptores similares en *Drosophila melanogaster* (Clyne et al., 1999; Vosshall, Amrein, Morozov, Rzhetsky, & Axel, 1999) permitió comprender la olfacción en los insectos, desde la antena hasta los cuernos laterales y cuerpos fungiformes del cerebro, en donde se integra la información y se determina una respuesta comportamental adecuada (figura 8.1).

Jean-Henri Fabre:

Observa por primera vez el vuelo orientado de un adulto macho de la polilla *Saturnia pyri* hacia una hembra recién emergida (1879).

Joseph Albert Lintner:

Evidenció que polillas hembras indican a los machos su disposición a copular a distancia. Sugirió que los aromas químicos emitidos por los insectos podrían ser usados para controlar insectos plaga.

1870's

Adolf Butenandt:

En 1939 inició el aislamiento y la identificación de la feromona del gusano de seda *Bombyx mori*. Después de 20 años de trabajo, se logró extraer 12 mg derivado del compuesto de medio millón de hembras vírgenes e identificar los compuestos químicos.

1939-1959

Peter Karlson y Martin Lüscher:

Utilizaron el término "feromona" por primera vez.

1959

Colin Butler:

Identificó la primera feromona que regula el desarrollo de un insecto en la abeja *Apis mellifera*

1961

Gaston, Shorey y Saario:

Realizaron el primer reporte del uso de la feromona sexual como método de control de insectos plaga, mediante la interrupción de cópula.

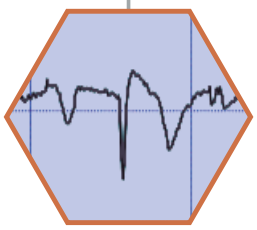
1967

1932

J. A. Jacentkovski:

Demostró por primera vez la presencia de feromonas usando hembras de la polilla gitana a través de trampas con hembras vírgenes en el bosque.

1957



Dietrich Schneider y Karl-Ernst Kaissling:

Desarrollaron los primeros dispositivos para registrar las señales eléctricas de antenas de insectos como respuesta a olores inducidos: electroantenograma (EAG).

Además, describieron el sistema olfativo de los insectos mediado por mensajes químicos.

1960

Morton Beroza:

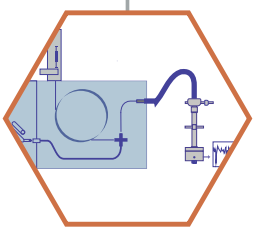
Ante la USDA, sugirió que las feromonas podían ser utilizadas en el control de insectos plaga.

1966

Robert Silverstein y David Wood:

Determinaron por primera vez la importancia de las mezclas de compuestos en la función de las feromonas.

1969



Dietrich Schneider:

Comenzó a utilizar la cromatografía de gases y resonancia nuclear magnética para la identificación de feromonas.

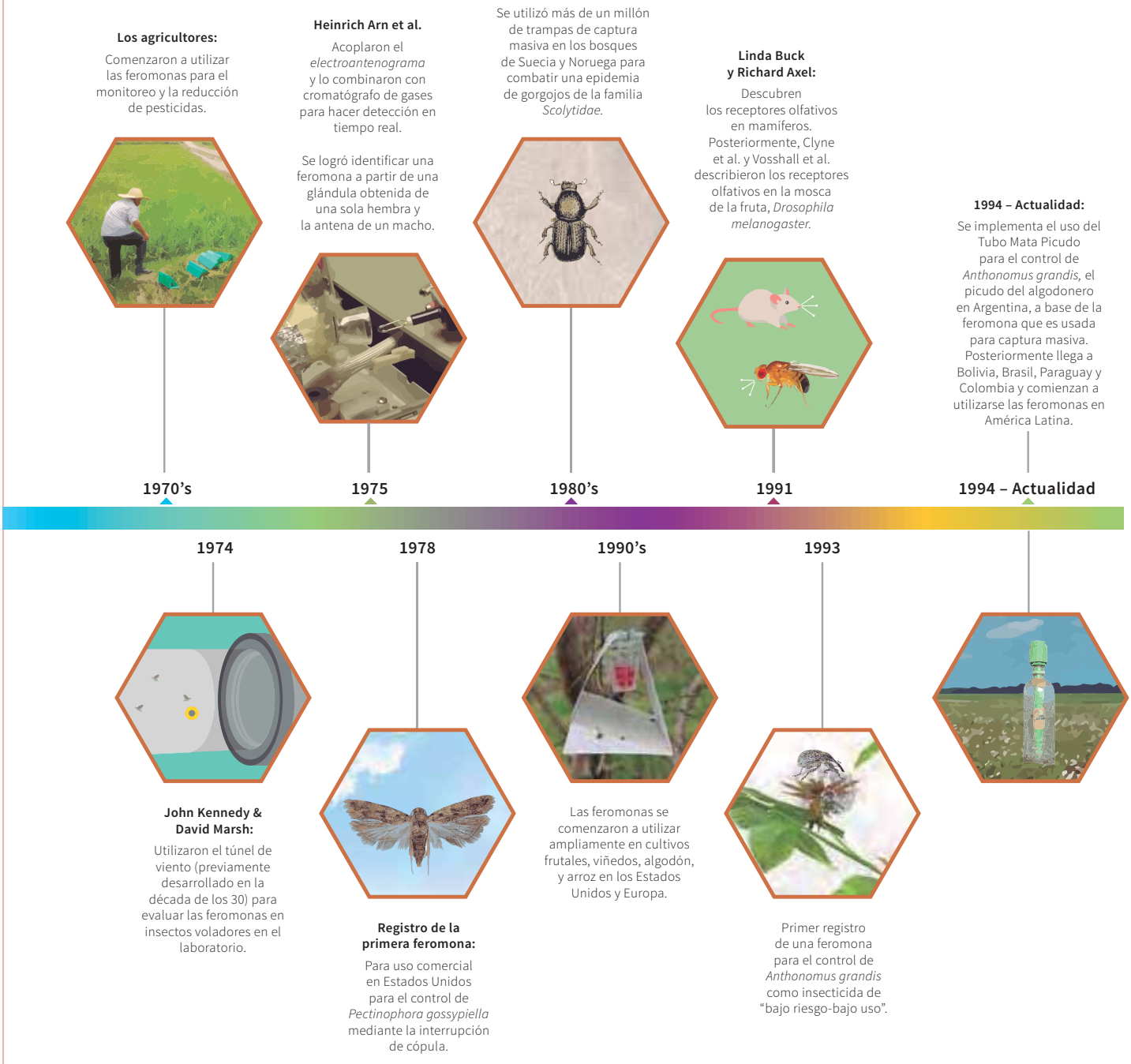


Figura 8.1. Línea de tiempo del desarrollo y uso de las feromonas.

Fuente: Elaboración propia

Mecanismos de acción de las feromonas

Las feromonas pueden ser de contacto (requieren de contacto físico o una gran cercanía para tener un efecto) o volátiles (pueden tener actividad a grandes distancias). Los métodos de control de plagas utilizan feromonas volátiles y, como tal, esta sección se enfoca en la percepción de estos compuestos.

Los insectos perciben los compuestos volátiles utilizando principalmente sus antenas, aunque pueden tener receptores de volátiles en su aparato bucal. La superficie de las antenas está cubierta por pelos sensoriales denominados "sensilias", que pueden ser separadas en diferentes grupos morfológicos: las basicónicas, celocónicas y auricílicas responden principalmente a volátiles ambientales (hospederos, alimento, repelentes, etc.), mientras que las tricoideas responden a las feromonas (figura 8.2b) (Binyameen et al., 2012). Las sensilias son estructuras culticulares con poros que contienen, normalmente, entre dos y cuatro neuronas sensoriales olfativas (OSN, por la sigla del inglés *olfactory sensory neuron*). Cada OSN, a su vez, expresa un único tipo de receptor olfativo (OR por su sigla en inglés [olfactory receptor]), y cada uno de estos responde a un determinado perfil de compuestos (Clyne et al., 1999; Münch & Galizia, 2016; Vosshall et al., 1999). Gracias a su importancia ecológica, los OR que perciben los compuestos que hacen parte de las feromonas son denominados "receptores de feromonas" (PR, por la sigla del inglés *pheromone receptor*) (figura 8.2c).

Las OSN se encuentran rodeadas por linfa sensiliar que es secretada por las células auxiliares y mantiene las neuronas vivas; además, contiene proteínas y enzimas que ayudan en el proceso de la olfacción. Las proteínas ligadoras de odorantes (OBP, por la sigla del inglés *odorant-binding proteins*) o las proteínas ligadoras de feromonas (PBP, por las siglas del inglés *pheromone-binding proteins*) ayudan a transportar los odorantes, compuestos hidrofóbicos que se transportan a través de la linfa (hidrofílica) hasta los OS. Aunque no se conoce bien el mecanismo mediante el cual las OPB y PBP transportan los odorantes, sí se sabe que son indispensables en la olfacción, ya que sin ellas la sensibilidad y selectividad de las OSN es afectada negativamente (De Bruyne & Baker, 2008; Leal, 2013).

Una vez activado un receptor por un compuesto, debe ser liberado para que la sensibilidad de la OSN no se vea afectada y para que el sistema olfativo no se sature. Este proceso se lleva a cabo mediante la función de las enzimas degradadoras de odorantes (ODE, por la sigla del inglés *odorant-degrading enzymes*) o enzimas degradadoras de feromonas (PDE, por la sigla del inglés *pheromone-degrading enzymes*). Pocas ODE o PDE han sido clonadas y caracterizadas; sin embargo, estas parecen ser principalmente esterasas, cuya actividad es menos específica que aquella de las OBP. Se ha reportado que una misma PDE puede degradar tanto compuestos de la feromona de *Spodoptera littoralis* como compuestos producidos por plantas (Durand et al., 2011). Estos resultados sugieren que estas enzimas pueden jugar diferentes papeles dentro del sistema olfativo, tales como la reactivación de los receptores y la modulación de la selectividad de estos al reducir el ruido, eliminando ciertos compuestos de la linfa (Durand et al., 2011; Leal, 2013).

Los receptores olfativos de los vertebrados son proteínas con siete dominios transmembranales acoplados a proteínas G. Los OR de los insectos también tienen siete dominios transmembranales; sin embargo, tienen diferencias fundamentales que sugieren un origen diferente: mientras que los OR de los mamíferos tienen el terminal C intracelular, los de los insectos están invertidos, con el terminal C extracelular. Otra diferencia fundamental es que mientras los receptores de los mamíferos son acoplados a proteínas G, los de los insectos requieren de un correceptor conocido como "ORCO" (acrónimo de *olfactory receptor co-receptor*) (Larsson et al., 2004), y se cree que el heterómero puede funcionar como un canal iónico regulado por ligandos (Carraher et al., 2015; De Bruyne & Baker, 2008). De momento, no se ha determinado la estructura tridimensional de un OR o de un orco, lo que ha limitado nuestra comprensión de la forma en la que funcionan.

Una vez se activan las OSN, el impulso nervioso se transmite a través del nervio antenal hasta el primer centro de procesamiento neural olfativo, conocido como el lóbulo antenal (LA) (figura 8.2d). El LA es una región del cerebro de los insectos dedicada

exclusivamente a la recopilación e integración de la información química (olfativa y gustativa); además, está compuesto por un número determinado (especie-específico) de estructuras globulares llamadas glomérulos. Cada glomérulo recibe los axones de todas las OSN que expresan el mismo tipo de receptor, de forma que concentra la información de todas las neuronas que perciben los mismos compuestos. Esto significa que el número de glomérulos normalmente se corresponde con el número de genes de receptores olfativos (Anton & Homberg, 1999; Hansson & Anton, 2000). Aunque originalmente se pensaba que el LA solo recopilaba la información de las diferentes neuronas y la transmitía a otros centros cerebrales para su procesamiento, hoy en día se sabe que en el LA se lleva a cabo un proceso de integración y transformación de la señal.

Los glomérulos están interconectados con interneuronas laterales inhibitorias (Hansson & Anton, 2000) y acoples eléctricos excitatorios (Yaksi & Wilson, 2010). Estas conexiones llevan a que el LA reciba la información de compuestos individuales y la transmita como olores

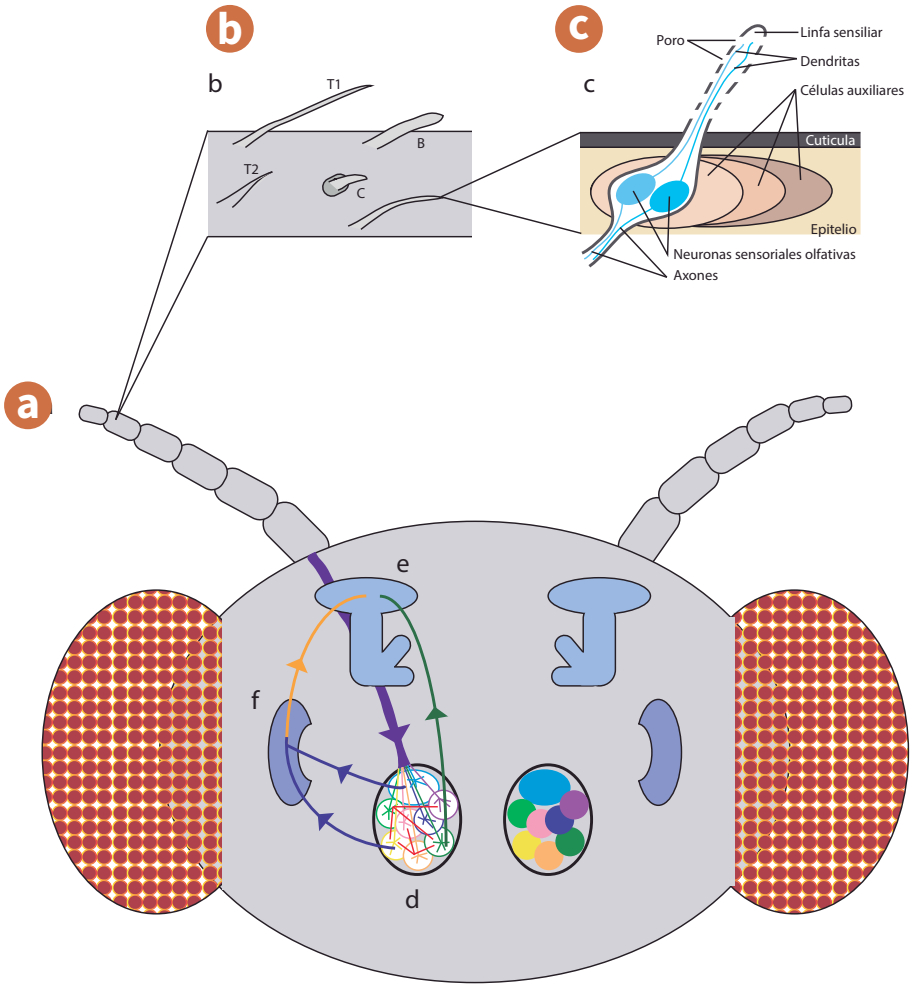


Figura 8.2. Esquema del sistema olfativo de los insectos. a. Antena, órgano olfativo; b. Sensilias sobre la superficie de la antena. T1, Sensilia tricoidea larga; T2, Sensilia tricoidea corta; B, Sensilia basicónica (gruesas y romas); C. Sensilia coelocónica (cortas, salen de una fosa); c. Sensilias; d. Lóbulo antenal. El o los glomérulos agrandados cerca al lóbulo antenal forman el complejo macroglomerular; e. Cuerpos fungiformes; f. Cuernos laterales. La línea morada representa el nervio antenal. Todas las OSN de una clase inervan un glomérulo específico. Las lineas rojas representan las interneuronas laterales y las verdes, amarillas y azules, neuronas de proyección.

Fuente: Elaboración propia

integrados a los centros cerebrales superiores. Los compuestos, que tienen una importancia ecológica particular como las feromonas, suelen tener receptores muy específicos y glomérulos agrandados denominados "macroglomerulos". Estos han sido estudiados principalmente en polillas (en las que se ha llevado a cabo una gran parte de la investigación sobre feromonas). En los casos en los que las feromonas tienen más de un componente, el conjunto de los macroglomérulos se denomina "complejo macroglomerular" y solo se encuentra en los machos, aunque las hembras también tienen receptores y glomérulos normales que perciben estos compuestos (Anton & Homberg, 1999; Rospars & Hildebrand, 2000). El complejo macroglomerular también tiene comunicación con los demás glomérulos, lo que significa que los compuestos producidos por plantas hospederas o no hospederas pueden interferir en la comunicación mediada por feromonas (Hatano et al., 2015; Namiki, Iwabuchi, & Kanzaki, 2008; Pregitzer et al., 2012). Las señales son enviadas a los cuerpos fungiformes y los cuernos laterales del cerebro mediante neuronas de proyección.

Aunque se sabe mucho menos sobre estos centros cognitivos que sobre el LA, parece que los cuerpos fungiformes están involucrados en la memoria y la plasticidad comportamental (Heisenberg, 2003; Lin, Lai, Chin, Chen, & Chiang, 2007; Pascual & Préat, 2001), mientras que los cuernos laterales están involucrados principalmente en los olores responsables del comportamiento innato, como la detección de plantas hospederas y de feromonas a través de circuitos poco flexibles (Auer & Benton, 2016; Galizia, 2014; Kohl, Huoviala, & Jefferis, 2015). Los cuerpos fungiformes y los cuernos laterales también están interconectados, y tanto la experiencia como el estado fisiológico puede modular el comportamiento sexual (Kromann et al., 2015; Proffit, Khallaf, Carrasco, Larsson, & Anderson, 2015; Saveer et al., 2012) (figura 8.2e, f). No obstante, gracias a su importancia en la aptitud biológica de los individuos, el comportamiento de atracción sexual es fuertemente estereotipado y evoluciona lentamente, lo que reduce la generación de resistencia en las feromonas, confiriéndoles un gran potencial para el control de insectos plaga.

Estrategias de control de insectos plaga utilizando feromonas

Como ya se ha mencionado, las feromonas sintéticas son utilizadas dentro de programas de manejo de plagas para regular sus poblaciones, y tienen diferentes aplicaciones como en el monitoreo o detección de plagas, captura masiva, atracticidas, interrupción de cópula y evaluación de resistencia a insecticidas, entre otras. A continuación, se explica cómo se utilizan las feromonas para cada una de estas estrategias.

Monitoreo

Uno de los principales usos de las feromonas en el control de plagas agrícolas es el monitoreo de las poblaciones de insectos en los cultivos, con el fin de facilitar la toma de decisiones. Las grandes ventajas que tienen las feromonas para ser utilizadas en el monitoreo es su alta especificidad, es decir, solo atraen la especie de interés, y la alta sensibilidad de los insectos hacia estas. Además, las feromonas pueden ser particularmente importantes para el monitoreo de especies crípticas que serían difíciles de muestrear con otros métodos (Burkholder, & Ma, 1985). El principio de utilizar feromonas como sistemas de monitoreo es que, al tener una buena idea sobre las poblaciones de insectos en condiciones de campo (Grant, 1991) o de almacenamiento (Campion, Hall, & Prevett, 2011), se puede planificar de forma más eficiente el uso de agroquímicos o controladores biológicos. Un prerrequisito para utilizar este método es que antes de implementarlo es necesario determinar los umbrales de acción relacionados con las capturas de insectos en las trampas. La mayor ventaja del uso de feromonas es la facilidad de muestreo, ya que solo requiere del conteo de insectos en las trampas.

Otro uso importante de las feromonas es el monitoreo de especies potencialmente invasoras. Gracias a su alta sensibilidad, son excelentes para detectar insectos

exóticos de importancia económica en los puertos, cruces fronterizos u otras zonas de riesgo. En este sentido, las feromonas sirven como sistema de alerta temprana y permiten tomar medidas correctivas antes de que las poblaciones se establezcan (Bogich, Liebhold, & Shea, 2008; Brockerhoff, Jones, Kimberley, Suckling, & Donaldson, 2006; Kriticos, Potter, Alexander, Gibb, & Suckling, 2007).

Capturas masivas y las feromonas como atracticidas

Al igual que el uso de las feromonas para el monitoreo de poblaciones, su función atrayente también se puede utilizar directamente para controlar las poblaciones de los insectos. Ambos sistemas se basan en atraer grandes cantidades de individuos de la especie blanco, para reducir su población efectiva. La diferencia es que en la captura masiva los insectos son retenidos en las trampas, mientras que, cuando las feromonas son utilizadas como atracticidas, en vez de trampas se usan alimentos o superficies impregnadas con feromonas y plaguicidas para matar los insectos directamente. Ambas estrategias funcionan mejor para insectos que tienen feromonas de agregación, dado que se eliminan tanto los machos como las hembras de la población, mientras que cuando se utilizan feromonas sexuales, normalmente solo se están eliminando los machos, lo que tiene un efecto menor sobre la población efectiva (El-Sayed, Suckling, Byers, Jang, & Wearing, 2009; El-Sayed, Suckling, Wearing, & Byers, 2006). En la práctica, estos métodos se han utilizado sobre todo en coleópteros y en algunas especies de lepidópteros, principalmente en condiciones de invernadero. Ambas estrategias tienen la ventaja de funcionar como medidas de control preventivas y correctivas.

La interrupción de la cópula

La interrupción de la cópula (*mating disruption*) es uno de los métodos más utilizados para el control de insectos con feromonas. En contraposición con los métodos anteriores, la interrupción de cópula no necesariamente funciona atrayendo a los insectos, sino que se basa en inundar un cultivo con grandes cantidades de feromona, para interrumpir la comunicación entre hembras y machos. El principio básico es que, al haber una cantidad tan grande de feromona en el ambiente, los machos no logran encontrar a las hembras, no hay cópula y no hay descendencia. Para lograr esto, normalmente se utiliza un buen número de dispensadores de feromona, que liberan gran cantidad de feromona en el ambiente, de forma continua y a lo largo de la temporada de cultivo (ver capítulo 15 sobre Investigación y desarrollo de feromonas). El mecanismo por el cual funciona la interrupción de la cópula no es claro y puede variar dependiendo de la especie y de la forma en la que se plantea el sistema. Se han propuesto dos tipos de mecanismos: la interrupción competitiva y la interrupción no-competitiva. En la primera, los dispensadores estarían compitiendo directamente con las hembras; es decir, los dispensadores atraen machos directamente, de forma más eficiente, o crean gradientes químicos falsos en el aire que estos persiguen sin lograr encontrar una hembra. En la segunda hay mecanismos más variados que pueden afectar la fisiología de los insectos, entre los que se encuentra la inducción del cambio del período activo del sexo que responde a la feromona, ya que, al estar presente durante todo el día, pueden estar respondiendo a esta en momentos en los que las hembras no la están liberando. De manera similar, al haber una gran cantidad de feromonas en el ambiente, puede ocurrir una supresión en la liberación de feromonas por parte de las hembras, dado que estas también tienen la capacidad de detectar las feromonas y modular su liberación si hay alta competencia. Otra opción es que las altas concentraciones de feromona lleven a cambios en el sistema olfativo de los insectos receptores como la habituación (se acostumbran al olor y paran de responder a este), o la sobrecarga neural (las neuronas se agotan de responder y dejan de funcionar correctamente) (Miller & Gut, 2015).

La interrupción de la cópula se ha implementado en el control de polillas de aproximadamente 20 especies en más de 750.000 ha, y ha tenido un crecimiento importante en las últimas décadas (Miller & Gut, 2015; Witzgall, Kirsch, & Cork, 2010). Esta herramienta no solo se utiliza en el control de plagas agrícolas y forestales, sino que también ha sido importante en la erradicación y manejo de especies invasoras (Lance, Leonard, Mastro, & Walters, 2016). La mayor desventaja de este sistema

es que, para su buen funcionamiento, debe ser utilizado en cultivos de grandes extensiones, preferiblemente como parte de programas de manejo regionales, ya que sufre fuertemente del "efecto borde" gracias a la migración de hembras copuladas. Otra desventaja es que la interrupción de la cópula es una estrategia netamente preventiva; cuando las poblaciones en un cultivo son altas, la efectividad de la interrupción de la cópula cae rápidamente (Welter et al., 2005; Witzgall et al., 2010) (figura 8.3).

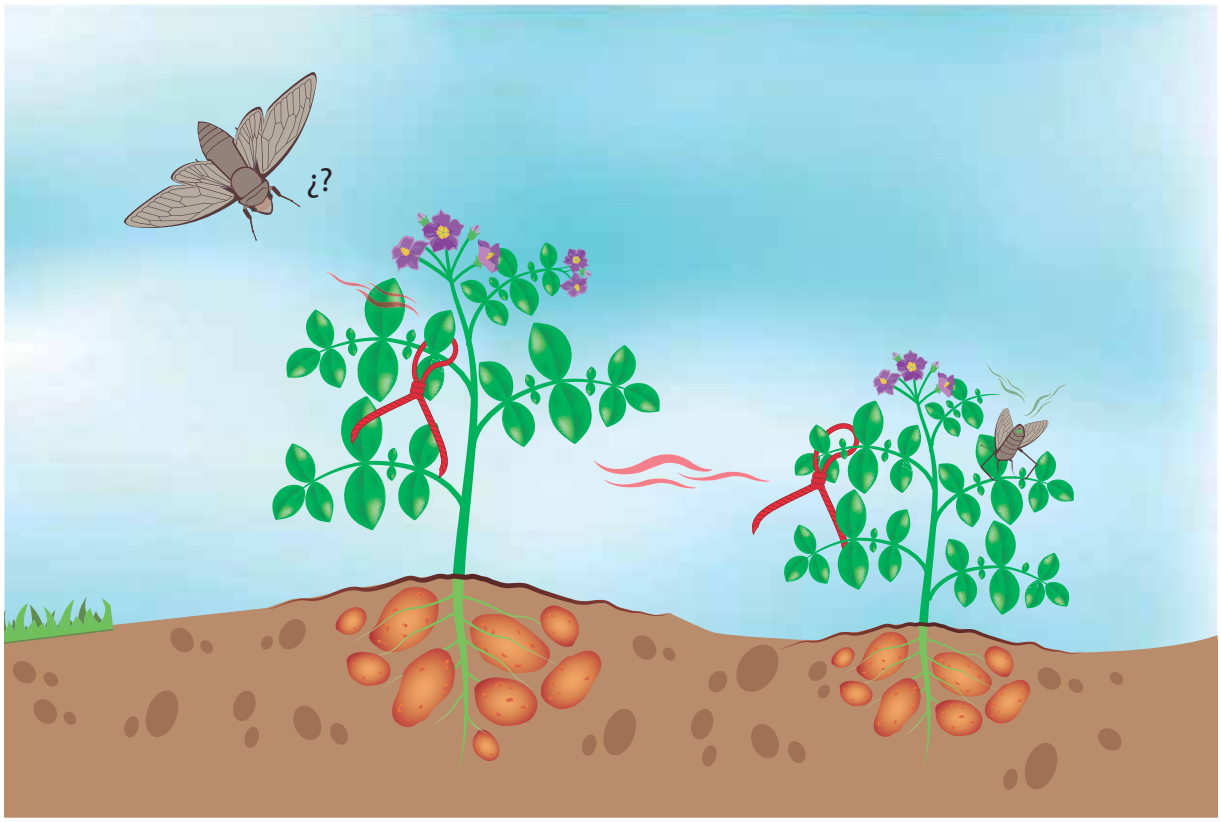


Figura 8.3. Esquema que explica la interrupción de cópula mediante el uso de feromonas.

Fuente: Elaboración propia

Evaluación de resistencia

Otro uso de las feromonas se relaciona con estudios de desarrollo de resistencia hacia insecticidas químicos por parte de diferentes poblaciones de insectos. En este caso, las feromonas se utilizan de la misma forma descrita para lograr el efecto atracticida, pero se incorporan trampas de captura para determinar si los insectos efectivamente se están muriendo al ser expuestos a los insecticidas, o si hay resistencia en la población. Este método es rápido y permite evaluar poblaciones de campo sin tener que hacer capturas o mantener crías (Haynes, Miller, Staten, Li, & Baker, 1986).

Las cairomonas y su interacción con las feromonas

En el contexto de la ecología de los insectos, las cairomonas son compuestos que ayudan a encontrar fuentes de alimento o plantas hospederas para la oviposición. En el control de insectos plaga, las cairomonas han sido utilizadas con éxito principalmente contra moscas de la fruta, mediante cebos de proteína hidrolizada en estado de fermentación (ver capítulo 23 sobre ecología química microbiana). Sin embargo, aunque existen muchos estudios sobre las

cairomonas basadas en plantas hospederas de diferentes insectos, estas no han sido de gran importancia en el control de plagas. A manera de ejemplo, investigadores de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA) y de la Universidad de Ciencias Agrícolas de Suecia han determinado que la polilla guatemalteca de la papa no solo puede diferenciar y elegir entre diferentes tubérculos gracias a las cairomonas (Karlsson et al., 2013), sino que también puede utilizar las cairomonas producidas durante diferentes estados fenológicos y por diferentes partes de la planta, para ayudar a localizar hospederos que serían buenos sitios de ovoposición (Karlsson et al., 2009; Karlsson, Proffit, & Birgersson, 2017).

Aunque las cairomonas producidas por las plantas son complejas, la combinación de técnicas electrofisiológicas, análisis químico y experimentos comportamentales permite determinar cuáles compuestos son responsables de inducir diferentes comportamientos y así recrear la cairomona sintética (Borrero-Echeverry et al., 2015; Saveer et al., 2012). De once compuestos producidos por plantas de algodón, se determinó que la mezcla de solo cuatro de estos es suficiente para lograr una atracción similar a aquella producida por la planta en la polilla *Spodoptera littoralis* (Borrero-Echeverry et al., 2015). De la misma forma, este tipo de experimentos también permite determinar cuáles compuestos dentro del olor de las plantas hospederas reducen la atracción y, de esta forma, producir cairomonas sintéticas aún más atractivas (Borrero-Echeverry et al., 2015; Bruce & Pickett, 2011; Hatano et al., 2015). Sin embargo, contrario a la situación de las feromonas, aun conociendo cairomonas sintéticas más atractivas que las plantas hospederas, estas no han logrado ser utilizadas exitosamente en el control de insectos, salvo en algunos casos muy puntuales.

El principal problema del uso de cairomonas en el control de insectos es la alta concentración que se requiere para su aplicación en campo (Metcalf & Metcalf, 1992). Aunque la cairomona sintética sea más atractiva que la cairomona natural, esta tendría que competir con las concentraciones de los compuestos que son producidos por un cultivo, sin que la fidelidad de la muestra se diluyera en el aroma saturado del cultivo, lo que es técnica y económicamente inviable (Metcalf & Metcalf, 1992). En contraste, las feromonas sexuales tienen la ventaja de ser detectadas en concentraciones minúsculas y de ser compuestos, en su mayoría, que no son producidos por las plantas y que, por ende, se pueden discriminar en un fondo de olores vegetales.

Esto no significa que las cairomonas y los volátiles de las plantas hospederas no sean de gran importancia en la comunicación y uso de las feromonas en el control de insectos. Las interacciones entre las feromonas y las cairomonas son el enfoque de creciente interés y son de gran importancia para su uso y aplicación (Borrero-Echeverry, 2016; Deisig, Dupuy, Anton, & Renou, 2014; Dickens, Jang, Light, & Alford, 1990; Dowd & Bartelt, 1991; Party, Hanot, Busser, Rochat, & Renou, 2013; Pregitzer et al., 2012). En coleópteros, que utilizan feromonas de agregación, se ha visto que los volátiles de plantas no-hospederas interrumpen e inhiben la atracción hacia la feromona (Dickens, Billings, & Payne, 1992; Zhang & Schlyter, 2003). En lepidópteros se ha observado que los olores de plantas no-hospederas o los volátiles producidos por plantas hospederas previamente atacadas por insectos inhiben la atracción hacia las feromonas (Borrero-Echeverry, 2016; Hatano et al., 2015; Party et al., 2013). Por otra parte, se ha demostrado sinergismo entre feromonas y cairomonas, que ha sido utilizado de forma masiva en el control de insectos. Tal es el caso de las trampas para captura masiva del curculionido *Rhynchophorus palmarum*, que se ceban con la feromona del picudo y con trozos de caña de azúcar (Oehlschlager, 2005). De igual manera, los volátiles producidos por los troncos de las bananeras incrementan la atracción de adultos de *Cosmopolites sordidus* hacia la feromona sintética, aumentado las capturas en trampas (Tinzaara, Dicke, Van Huis, Van Loon, & Gold, 2003; Tinzaara, Gold, Dicke, Van Huis, & Ragama, 2007). En lepidópteros, la mezcla de cairomonas, el éster de la pera y las feromonas (codelmonas) se usa para aumentar la eficiencia de las trampas en el monitoreo de *Cydia pomonella* (Knight, Hilton, & Light, 2005; Light et al., 2001; Trona et al., 2010). Estos ejemplos, entre otros, demuestran la importancia y el potencial que tienen los volátiles de plantas hospederas y no-hospederas en el uso de feromonas. La mejor comprensión de cómo los volátiles producidos por las plantas interactúan con las feromonas y de la ecología de los insectos llevará a que las estrategias de control con base en feromonas sean cada vez más eficaces y tengan mayor penetración en los mercados.

Las feromonas en el panorama internacional

Las estrategias de manejo integrado de plagas (MIP) requieren de una comprensión completa sobre la biología y la historia de vida de las plagas y de sus enemigos naturales dentro de cualquier ecosistema. El monitoreo de insectos es fundamental en la toma de decisiones para el uso racional del control químico, pues en condiciones prácticas sirve como sistema de advertencia, previsión y diagnóstico temprano; sin embargo, este exige un respaldo científico sólido y debe hacerse con la asesoría de profesionales calificados.

Muchas feromonas de insectos han sido identificadas en el pasado y están comercialmente disponibles para capturar y para controlar polillas, escarabajos, moscas y muchos otros insectos. Witzgall, Lindblom, Bengtsson y Toth (2004) establecieron que a nivel mundial había cerca de 1.600 feromonas. Al respecto, la base de datos Pherobase enumera cientos de feromonas sexuales para diferentes usos, entre las que se encuentran aquellas con fines de monitoreo para ejercer un control químico racional (El-Sayed, 2017a), las utilizadas para captura masiva (El-Sayed, 2017b) y las que se usan para interrupción de la cópula (El-Sayed, 2017c). Aunque muchas de estas se encuentran disponibles comercialmente, otras tantas sólo han sido desarrolladas con fines de investigación. Pherobase comprende información completa sobre feromonas y otros semioquímicos de más de 7.500 especies y 6.500 compuestos, de los que cerca de 3.000 hacen parte de feromonas. Asimismo, se enumera la ocurrencia de estos semioquímicos dentro de los varios taxa animal, ofrece datos sobre su espectrometría de masas, índice de retención de Kovats, resonancia magnética nuclear (RMN), síntesis, fórmulas y estructuras químicas 2D y 3D. Esta base de datos presenta el índice de retención de Kovats para más de 12.000 compuestos orgánicos en 35.000 registros con sus respectivas referencias bibliográficas.

El uso de feromonas como atracticidas se ha reportado para 34 especies de insectos (tabla 8.1), la mayoría pertenecientes a los órdenes Coleoptera, Diptera y Lepidoptera, aunque se reportan dos casos en Isoptera.

Tabla 8.1. Ejemplos de las feromonas estudiadas a nivel mundial como atracticidas de insectos

Género	Nombre común	Familia	Orden	Referencias*
Anastrepha ludens	Mosca mexicana de la fruta	Tephritidae	Diptera	Robacker y Czokajlo (2005)
Anthonomus grandis	Picudo del algodonero	Curculionidae	Coleoptera	Lingren y Dean (1982), McKibben et al. (1990)
Bactrocera dorsalis	Mosca oriental de la fruta	Tephritidae	Diptera	Chiu y Chu (1988), Alyokhin et al. (2000), Cunningham et al. (1975), Vargas et al. (2003)
Ceratitis capitata	Mosca mediterránea de la fruta	Tephritidae	Diptera	Katsoyannos y Papadopoulos (2004), Ros et al. (2002)
Cydia pomonella	Carpocapsa o polilla del manzano	Tortricidae	Lepidoptera	Losel et al. (2000), Alma et al. (2001), Angeli et al. (2000), Charmillot et al. (1998), Knight et al. (2002)

(Continúa)

(Continuación tabla 8.1)

Género	Nombre común	Familia	Orden	Referencias*
Grapholita molesta	Polilla oriental del duraznero	Tortricidae	Lepidoptera	Evenden y McLaughlin (2004a, 2004b), Evenden et al. (2005)
Musca domestica	Mosca doméstica o común	Muscidae	Diptera	Hanley, 2004
Pectinophora gossypiella	Gusano rosado del algodón	Gelechiidae	Lepidoptera	Butler y Las (1983), Flint y Merkle (1984), Lingren y Dean (1982)
Plutella xylostella	Palomilla dorso de diamante, polilla de la col	Plutellidae	Lepidoptera	Maxwell et al. (2006)
Spodoptera exigua	Gardama, rosquilla verde o gusano soldado	Noctuidae	Lepidoptera	Cheng et al. (1988)
Spodoptera littoralis	Rosquilla negra	Noctuidae	Lepidoptera	De Souza et al. (1992)
Tecia solanivora	Polilla centroamericana de la papa, polilla guatemalteca o guata	Gelechiidae	Lepidoptera	Becerra y Corredor (2001)

* Las referencias corresponden a ejemplos de estudios sobre las feromonas de cada insecto citadas por El-Sayed (2017a). La tabla y lista completa de insectos y referencias se encuentra en los suplementarios del capítulo y se basan en la información disponible en Pherobase. La mención a feromonas reportadas en este documento para el propósito descrito obedece a publicaciones científicas y no representan recomendación para un uso particular por los autores de este documento, ni por las organizaciones a las que pertenecen los autores.

Fuente: Adaptada de El-Sayed, (2017a)

Para la captura masiva de insectos, se reportan feromonas de 109 especies de insectos, en su mayoría Coleoptera, Diptera y Lepidoptera, aunque se suman tres casos para Homoptera, y uno para cada uno de los órdenes Isoptera, Thysanoptera e Hymenoptera (tabla 8.2). El uso de feromonas para la interrupción de la cópula ha sido la técnica más reportada (145 especies de insectos de un total de 147), la mayoría para Lepidoptera, seguido por siete casos en el orden Coleoptera, cinco en Homoptera, tres en Heteroptera y uno en Hemiptera, además de dos en la clase Arachnida del orden Acarina (tabla 8.3).

La mayoría de los reportes citados en Pherobase provienen de Estados Unidos, Canadá, Japón, Suecia, Alemania, Suiza, Italia, Francia, Australia, Nueva Zelanda e Israel, entre otros. Muy pocas publicaciones corresponden a países de África, así como a la mayoría de países de Asia, Centroamérica y Sudamérica. En este último caso, los países que más publicaciones han generado son Costa Rica, Brasil y Chile. Colombia solo aparece en una publicación sobre captura masiva de *Anthonomus grandis* (Suárez-Gómez & Castro-Ortega, 1990) (tabla 8.1), en tres publicaciones sobre *Tecia solanivora* relacionadas con monitoreo (Becerra

& Corredor, 2001; Bosa et al., 2005, 2006) y en dos publicaciones sobre interrupción de la cópula (Bosa et al., 2005, 2006) (tabla 8.3).

Los insectos que han merecido más publicaciones respecto a su control con feromonas mediante interrupción de la cópula son *Cydia pomonella, Grapholita molesta, Lobesia botrana, Lymantria dispar, Pectinophora gossypiella,* seguidos por *Adoxophyes orana, Anarsia lineatella, Chilo suppressalis, Choristoneu*. En captura masiva se destacan *P. gossypiella, Plutella xylostella, C. fumiferana, C. suppressalis, Bactrocera oleae, Ceratitis capitata, C. pomonella, Ips typographus y S. littoralis,* mientras que para la captura con fines de control químico se destacan principalmente *C. pomonella* y *Bactrocera oleae*.

Tabla 8.2. Ejemplo de feromonas estudiadas a nivel mundial para captura masiva de insectos

Género	Nombre común	Familia	Orden	Referencias*
Anthonomus grandis	Picudo del algodonero	Curculionidae	Coleoptera	Gómez y Ortega (1990)
Bactrocera dorsalis	Mosca oriental de la fruta	Tephritidae	Diptera	Cunningham y Suda (1986)
Ceratitis capitata	Mosca mediterránea de la fruta	Tephritidae	Diptera	Alemany et al. (2006), Avery et al. (1994), Katsoyannos et al. (1999), McQuate et al. (2005), Ortu y Prota (1988)
Cosmopolites sordidus	Gorgojo del banano	Curculionidae	Coleoptero	Tinzaara et al. (2005)
Cydia pomonella	Carpocapsa o polilla del manzano	Tortricidae	Lepidoptera	Ghizdavu (1984), Gut et al. (1992), Kilic et al. (1999), Maitlen et al. (1976), Pawar y Tuhan (1985)
Glossina fuscipes fuscipes	Mosca tse-tse	Glossinidae	Diptera	Sciarretta et al. (2005)
Grapholita molesta	Polilla oriental del duraznero	Tortricidae	Lepidoptera	Meng et al. (1985)
Ips typographus	Escarabajo de la corteza del abeto	Scolytidae	Coleoptera	Babuder et al. (1996), Bakke (1981), Garner et al. (1984), Fang et al. (1984), Lakatos (1999), Vaupel et al. (1985)
Lobesia botrana	Polilla del racimo de la vid	Tortricidae	Lepidoptera	Gurevitz y Gothilf (1981)
Lymantria dispar	Polilla gitana asiática	Lymantriidae	Lepidoptera	Beroza et al. (1973), Marshall y Clark (1985)
Phthorimaea operculella	Polilla de la papa	Gelechiidae	Lepidoptera	Raman (1988)

(Continúa)

(Continuación tabla 8.2)

Género	Nombre común	Familia	Orden	Referencias*
Plutella xylostella	Palomilla dorso de diamante, polilla de la col	Plutellidae	Lepidoptera	Chow et al. (1977), Hallett et al. (1995), Ho et al. (1988), Maa et al. (1987), Mottus et al. (1996), Reddy y Urss (1997), Wang et al. (2004a)
Rhynchophorus ferrugineus	Picudo rojo de la palma	Curculionidae	Coleoptera	Faleiro y Satarkar (2003), Faleiro et al. (2003), Soroker et al. (2005), Vidyasagar et al. (2000)
Rhynchophorus palmarum	Picudo del cocotero, picudo negro de la palma	Curculionidae	Coleoptera	Alpizar, et al. (2002), Oehlschlager et al. (2002), Osorio et al. (2003)

* Las referencias corresponden a ejemplos de estudios sobre las feromonas de cada insecto citadas por El-Sayed (2017b). La tabla y lista completa de insectos y referencias se encuentra en los suplementarios del capítulo y se basan en la información disponible en Pherobase. La mención a feromonas reportadas en este documento para el propósito descrito obedece a publicaciones científicas y no representan recomendación para un uso particular por los autores de este documento, ni por las organizaciones a las que pertenecen los autores.

Fuente: Adaptada de El-Sayed (2017b)

Los semioquímicos (feromonas y cairomonas) hacen parte de los bioplaguicidas bioquímicos, ya que son sustancias naturales o sintéticas derivadas equivalentes, que tienen un modo de acción no tóxico para las plagas blanco y han demostrado su reducida o nula toxicidad para los seres humanos y el medio ambiente. La Agencia de Protección Ambiental (Environmental Protection Agency [EPA]) de Estados Unidos regula el uso de plaguicidas bajo la autoridad de dos estatutos federales: la Ley federal de insecticidas, fungicidas y rodenticidas (Fifra) y la ley federal de alimentos, medicamentos y cosméticos (FFDCA) (EPA, 2017). En el caso de feromonas, la EPA reconoce que su uso presenta menor riesgo que los plaguicidas convencionales, ya que tienen propiedades únicas de especificidad con respecto a su huésped. Para promover su uso, dicha entidad estableció un programa regulatorio flexible que confiere permisos de uso experimental con feromonas (EUP, por su sigla en inglés), que aceptan que el ingrediente activo tenga ajustes durante el curso de la experimentación.

La EPA, como resultado del programa de alivio regulatorio de feromonas, también estableció exenciones de requisitos para muchos de los auxiliares de formulación utilizados en el producto final. Además, las feromonas etiquetadas para su uso exclusivo en trampas no están sujetas a la regulación bajo Fifra. No obstante, el uso de feromonas en trampas en combinación con plaguicidas convencionales, o que requieran métodos de aplicación (distintos de las trampas) o para fines distintos de los definidos para monitoreo, son sujeto de la regulación Fifra (Leahy, Mendelsohn, Kough, Jones, & Berckes, 2014). La promoción del uso de feromonas en Estados Unidos ha llevado a que diversos países del mundo flexibilicen su regulación para facilitar el registro de este tipo de compuestos, por lo que se espera un mayor uso de estas en los años venideros.

El panorama internacional del uso de feromonas es positivo y muestra buen crecimiento. Uno de los casos más exitosos de su aplicación para controlar insectos plaga es en la interrupción de la cópula del gusano de la manzana, *Cydia pomonella*. En 2010 se estaban manejando más de 210.000 ha de manzana a nivel mundial utilizando esta técnica, y la producción anual de la feromona "codlemone" era de 25 t, el doble de lo producido en 2005 (Witzgall et al., 2010). En 2015,

se estimó que mediante el método de interrupción de la cópula se trataron cerca de 800.000 ha de diferentes cultivos y 20 especies de insectos, lo que representa un crecimiento del 75 % frente a la cifra de 2005 (Miller & Gut, 2015). Para el caso de monitoreo, captura masiva y uso de feromonas como atracticidas, se estima que se producen más de 20 millones de unidades y, aunque no existen cifras concretas, se manejaban más de 1.000.000 de ha de diferentes cultivos con estos métodos (Witzgall et al., 2010).

Tabla 8.3. Ejemplo de feromonas estudiadas a nivel mundial para interrupción de la cópula de insectos

Género	Nombre común	Familia	Orden	Referencias*
Anthonomus grandis	Picudo del algodonero	Curculionidae	Coleoptera	Villavaso (1982), Villavaso y McGovern (1981)
Cydia pomonella	Carpocapsa o polilla del manzano	Tortricidae	Lepidoptera	Carde, et al. (1977a), Charmillot (1978), Knight et al., (1995), Knight et al. (2005), Shorey y Gerber (1996a), Stelinski et al. (2004), Stelinski et al. (2005b), Tasin et al. (1998), Witzgall et al. (1996), Witzgall et al. (1999)
Grapholita molesta	Polilla oriental del duraznero	Tortricidae	Lepidoptera	Carde et al. (1975b), Carde et al. (1977b), Gentry et al. (1975), Iacob y Iacob (1987), Kyparissoudas (1989a, 2001), Rice (1987), Stelinski et al. (2004), Vickers et al. (1985), Yang et al. (2003)
Heliothis zea	Gusano del maíz, Gusano elotero	Noctuidae	Lepidoptera	Carlson y McLaughlin (1982), Carpenter et al. (1982), Cross et al. (1980), Mitchell et al. (1975), Mitchell et al. (1976), Shaver y Lopez (1982)
Lobesia botrana	Polilla del racimo de la vid	Tortricidae	Lepidoptera	Arn y Rauscher (1987), Carles et al. (1979), Emery y Schmid (2001), Krieg et al. (1987), Stockel et al. (1992), Varner y Ioriatti (1992), Yamamoto y Fukumoto (1989)
Lymantria dispar	Polilla gitana asiática	Lymantriidae	Lepidoptera	Beroza et al. (1973), Cameron et al. (1974), Carde, et al. (1975c), Granett y Doane (1975), Schwalbe et al. (1974), Tcheslavskaia et al. (2005), Thorpe et al. (2000)
Pectinophora gossypiella	Gusano rosado del algodón	Gelechiidae	Lepidoptera	Cardé et al. (1998), Critchley et al. (1983), Flint y Merkle (1983), Haynes et al. (1984), Huber et al. (1979), McLaughlin et al. (1972), Miller et al. (1990), Van Buskick et al. (2002)

(Continúa)

(Continuación tabla 8.3)

Género	Nombre común	Familia	Orden	Referencias*
Plutella xylostella	Palomilla dorso de diamante, polilla de la col	Plutellidae	Lepidoptera	Chisholm et al. (1984), Chow et al. (1984), Lin et al. (1984), McLaughlin et al. (1994), Mitchell et al. (1997a), Mitchell (2002), Zilahi et al. (1995)
Spodoptera exigua	Gardama, rosquilla verde o gusano soldado	Noctuidae	Lepidoptera	Dong y Du (2002), Hayashi et al. (1992), Mitchell et al. (1997), Park y Kim (1995), Shorey et al. (1994), Shorey y Gerber (1996b), Takai y Wakamura (1990a), Wakamura et al. (1987a), Yoo et al. (1995)
Spodoptera litura	Cogollero del tabaco	Noctuidae	Lepidoptera	Kawasaki y Miyashita (1976), Kitamura y Kobayashi (1985), Miyashita et al. (1976), Oyama (1977), Oyama y Wakamura (1977), Rao et al. (1989), Srinivas y Rao (1999), Yushima et al. (1975)
Tecia solanivora	Polilla centroamericana de la papa, polilla guatemalteca o guata	Gelechiidae	Lepidoptera	Bosa, Cotes-Prado, Fukumoto, Bengtsson y Witzgall (2005, 2006)
Tuta absoluta	Polilla del tomate	Gelechiidae	Lepidoptera	Ferrara et al. (2001), Filhoa et al. (2000)

* Las referencias corresponden a ejemplos de estudios sobre las feromonas de cada insecto citadas por El-Sayed (2017c). La tabla y lista completa de insectos y referencias se encuentra en los suplementarios del capítulo y se basan en la información disponible en Pherobase. La mención a feromonas reportadas en este documento para el propósito descrito obedece a publicaciones científicas y no representan recomendación para un uso particular por los autores de este documento, ni por las organizaciones a las que pertenecen los autores.

Fuente: Adaptada de El-Sayed (2017c)

Según Grand View Research (2015), se estima que en 2020 el mercado de feromonas se aproximará a los 2.451 millones de dólares y tendrá un crecimiento anual cercano al 5,5 %, en todas las regiones del mundo. Estas cifras resaltan la importancia de la investigación en feromonas, su aplicación y el crecimiento de la industria que las produce y comercializa a nivel mundial.

Las feromonas en el panorama latinoamericano

Las feromonas se comenzaron a investigar en Latinoamérica en la década de los años setenta. Desde entonces, y principalmente desde la década de los años noventa, las feromonas han sido de gran importancia en los programas nacionales de monitoreo, erradicación y control de muchas especies de insectos plaga. Aunque países como Argentina y Brasil han sido los promotores más importantes de la investigación y desarrollo de estas tecnologías, la región ha tenido un crecimiento propio tanto en términos de investigación

como en la industria, como se puede evidenciar por la formación de la Asociación Latinoamericana de Ecología Química en 2009, y de empresas líderes en la producción de feromonas comerciales como ChemTica Internacional S. A., en Costa Rica, y Bio Controle, en Brasil. A continuación, se citan algunos de los casos más exitosos del uso de feromonas en Latinoamérica.

Algodón

El algodón, *Gossypium hirsutum*, ha sido uno de los renglones comerciales más importantes de la economía en los países productores a nivel mundial. El continente americano es el segundo productor de algodón entre los cinco continentes y solo Latinoamérica aporta el 28 % del total de la producción (Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO], 2017). El picudo del algodonero, *Anthonomus grandis* (Coleoptera: Curculionidae), es una las principales limitantes fitosanitarias del cultivo en América. Hacia 1892, *A. grandis* se reportó en México; para 1920, en Estados Unidos, y posteriormente la plaga migró a Venezuela y Colombia en 1950. De ahí, la plaga se estableció en todos los países productores de Latinoamérica (Stadler & Buteler, 2007).

Desde entonces, el picudo del algodonero puso en riesgo la economía y sustento de miles de familias dependientes del cultivo del algodón a lo largo del continente. El principal método de control de la plaga son los insecticidas químicos que, junto con su uso indiscriminado y falta de asistencia técnica, desencadenan una serie de problemas ambientales, de salud pública y económicos que afectan directamente a la sociedad.

En 1990, el Boll Weevil Research Lab., del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA, por su sigla en inglés), desarrolló el "Bait Stick" o tubo mata-picudo (TMP) para países de habla hispana. En 1993, la EPA otorgó al USDA el primer registro y permiso para uso experimental de feromonas en campo (control etológico), como método de manejo alternativo al uso de insecticidas químicos contra *A. grandis*. Desde entonces, esta tecnología fue incluida en los programas de erradicación del picudo del algodonero en los EE. UU.

La tecnología del TMP llegó a Latinoamérica en 1994. En Argentina, el Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria de ese país (Senasa Argentina) estableció el "Programa de Prevención y Erradicación del Picudo del Algodonero", teniendo como eje central el uso de TMP, que a la fecha es vigente en el país (Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria [Senasa Argentina], 2015). Posteriormente, Bolivia y Perú (Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria de Perú [Senasa Perú] & Servicio Nacional de Sanidad Agropecuaria e Inocuidad Alimentaria de Bolivia [Senasag], 2001), Brasil (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento [MAPA], 2011), Paraguay (Ministerio de Agricultura y Ganadería [MAG], 2008) y Colombia (Gómez, Galindo, Mondragón, & Lobatón, 2000), respectivamente, establecieron programas nacionales de erradicación de *A. grandis*. El caso de *A. grandis* es de gran importancia, ya que es el único en el que prácticamente todos los países productores de la región han establecido programas tanto de monitoreo como de control utilizando feromonas. También es importante resaltar que existe un programa binacional para el monitoreo y manejo del picudo del algodonero entre Bolivia y Perú. Actualmente el Perú es el único país productor de Sudamérica libre de *A. grandis*. Este acuerdo permite que Bolivia pueda importar fibra de algodón del Perú (el 80 % de su producción) al permitir que Perú vigile y participe en el programa de manejo integrado del algodón de Santa Cruz de Bolivia (Senasa Perú & Senasag, 2001).

Palma de aceite

El segundo aceite de origen vegetal más producido en el mundo es obtenido de la palma de aceite, o palma africana, *Elaeis guineensis*, después del aceite de soja. La palma de aceite fue introducida a Latinoamérica en la década de 1920 por la United Fruit Company (Berger & Martin, 2000). El cultivo de palma en América ha crecido de 250 ha en Guatemala en 1940 a aproximadamente 1,1 millones de ha en 2016 (IndexMundi, 2016), mostrando su alto potencial productivo, superando a otros cultivos tradicionales tales como la soja, la colza, el girasol y la oliva; no obstante, a pesar de que ocupa el segundo lugar en

producción, el aceite de palma es el más comercializado en el mundo. En América, Colombia es el principal productor de aceite de palma y el quinto país con mayor producción, después de Malasia, Indonesia, Nigeria y Tailandia (FAO, 2017).

Al igual que todos los monocultivos en el mundo, la palma de aceite es susceptible a limitantes fitosanitarias entre las que se destaca la pudrición del cogollo (causado por *Phytophthora palmivora*) y el daño directo e indirecto causado por el picudo *Rhynchophorus palmarum*. Este último en estado larval puede causar la muerte de una palma tan solo con tres individuos, consumiendo todo tipo de tejido vegetal (Aldana de la Torre, Aldana de la Torre, & Moya, 2011). Además, es vector principal del agente causal de una de las más importantes enfermedades del cultivo de palma de aceite y coco en América: el anillo rojo-hoja corta causada por el nematodo *Bursaphelenchus cocophilus* (Hagley, 1963). A pesar de la amplia distribución del cultivo de palma de aceite en el mundo, *R. palmarum* solamente está reportado en el continente americano, donde se distribuye desde el sureste de California y Texas en Estados Unidos, hasta Argentina y Paraguay en América del Sur; los países donde se reporta mayor daño son Costa Rica, Colombia, Venezuela y Brasil (Esparza-Díaz, Olguin, Carta, Skantar, & Villanueva, 2013). Al estar *R. palmarum* restringido principalmente a Sur y Centro América, es uno de los mejores ejemplos de desarrollo y aplicación de una feromona para el control de una plaga en Latinoamérica.

Rochat, González, Mariau, Villanueva y Zagatti (1991) registraron una feromona de agregación emitida por machos de *R. palmarum*, y observaron que ambos sexos respondían a esta. En este mismo año describieron los dos compuestos específicos de la feromona de agregación, que fue denominada *Rhynchophorol* (Rochat, Malosse, et al., 1991), nombre que a la fecha se le asignó al producto comercial que es vendido como bioinsumo de uso agrícola. Durante los siguientes años, ChemTica Internacional desarrolló el proceso de síntesis a gran escala de la feromona y las primeras formulaciones de Rhychophorol (Oehlschlager, Chinchilla, Castillo, & González, 2002; Oehlschlager, Chinchilla, & González, 1993a; Oehlschlager, Chinchilla, Jiron, Morgan, & Mexzon, 1993b; Oehlschlager et al., 1992). La experiencia previa utilizando trozos de tronco de palma con insecticidas químicos (Chinchilla, Menjivar, & Arias, 1990; Mariau, 1968; Morin, Lucchini, Araujo, Ferreira, & Fraga, 1986) ayudó al desarrollo de trampas diez veces más efectivas que aquellas en que solo se utilizaba Rhynchophorol para atraer y matar insectos (Chinchilla, González, & Oehlschlager, 1993; Oehlschlager et al., 1993a; Oehlschlager et al., 1992). Sin embargo, la necesidad de reemplazar los trozos de caña cada dos o tres semanas para mantener la atracción de las trampas es responsable de la mitad de los costos del control de *R. palmarum* (Oehlschlager, 2016). Al respecto, varios autores determinaron que los derivados de la fermentación de la caña, en conjunto con la feromona, contribuyen a la efectividad de las trampas (Faleiro & Satarkar, 2005; Giblin-Davis et al., 1996), particularmente el acetato de etilo que, al formularlo con Rhynchophorol y aplicado con trozos de caña, puede incrementar las capturas en las trampas entre dos y cinco veces (Jaffé et al., 1993) (figura 8.4). Desde entonces, se han adelantado estudios sobre la distribución espacial y densidad de trampas por hectárea, con el objetivo de proporcionar el mejor control etológico sobre la plaga (Moya-Murillo, Aldana-De la Torre, & Bustillo-Pardey, 2015).

Gracias a la eficacia de las trampas para la captura masiva de *R. palmarum*, se ha logrado control tanto de la enfermedad del anillo rojo como de la pudrición de cogollo, llevando el cultivo de palma de aceite a una tasa de crecimiento anual aproximado del 11 % y 5 % en Centro y Sudamérica, respectivamente, lo que a su vez ha permitido el crecimiento del mercado de los cebos para el control del insecto mayor al 15 % anual.

Las trampas con feromona del picudo de la palma también son utilizadas para el control de *Dynamis borassi*, insecto que también es vector del anillo rojo de la palma de aceite principalmente en Colombia y Brasil (Gómez et al., 1996). Se ha determinado que *D. borassi* es atraído hacia el Rhynchophorol de igual forma que hacia su propia feromona y puede ser controlado por esta (Giblin-Davis et al., 1997). Asimismo, al ser la palma de coco (*Cocos nucifera*) afectada por el anillo rojo (Griffith, 1969), se logró reducir la incidencia de anillo rojo en un 80 % en un año, utilizando una trampa/ha (Moura, Vilela, Brasil, & Cangucu, 2000); sin embargo, la adopción ha sido muy baja, ya que la mayoría de los cultivos tiene menos de 10 ha y normalmente no reciben ningún tipo de control (Smith, 2002).

Tomate

El tomate, *Solanum lycopersicum* L., es una de las hortalizas más sembradas y comercializadas a nivel mundial; se encuentra ampliamente distribuido en los cinco continentes. Asia es el mayor productor, seguido por el continente americano. Brasil, en representación de América Latina, es el noveno país con mayor producción (FAO, 2017). El tomate es una especie que puede ser cultivada a campo abierto y bajo invernadero. Las condiciones ambientales en las que esta especie es cultivada lo convierten en uno de los cultivos con mayores limitantes fitosanitarios, debido tanto a fitopatógenos como a insectos plaga.

Entre las plagas más importantes se destaca el microlepidóptero *Tuta absoluta*, también conocido como el cogollero del tomate. Este insecto tiene origen en Sudamérica y, por lo tanto, presenta una amplia distribución geográfica en todos los países que producen la hortaliza. En 2006, se hizo el primer reporte de *T. absoluta* en España y, al cabo de cinco años, la plaga se dispersó por toda la costa del Mediterráneo, reportando pérdidas entre el 50 y 100 % de los cultivos (European and Mediterranean Plant Protection Organization [EPPO], 2008). La agresividad de esta plaga, reflejada en el daño estético de los frutos, disminución fotosintética de la planta, daño total de racimos productivos y consumo de tejido meristemático, se suma a su alta capacidad reproductiva (12 generaciones por año), lo que hace que su control sea complejo.

El principal método de control es la aplicación calendario, de forma semanal, de productos de síntesis química, seguido del uso de la feromona sexual de *T. absoluta* como un método de monitoreo y de captura masiva. Teniendo en cuenta que ya se ha observado resistencia a plaguicidas (Lietti, Botto, & Alzogaray, 2005) y que las larvas de *T. absoluta* son minadoras, el uso de insecticidas químicos no es muy eficiente, ya que las larvas no suelen entrar en contacto con las moléculas

Fotos: ChemTica Internacional S. A.

Figura 8.4. Trampas para la captura masiva de *R. palmarum*. a. Trampa instalada sobre una palma; b. Interior de las trampas con feromonas y acetato de etilo en la tapa, y caña (cebo alimenticio) en el balde.

del producto. Por esta razón y por la tendencia a la reducción en el uso de insecticidas sintéticos, la captura masiva ha cobrado importancia a nivel mundial (Lobo-Pinheiro, 2005; Lobos et al., 2013; Monserrat, 2009; Yucra-Equize, 2002) (figura 8.5). En ocasiones se ha intentado usar la feromona como método de interrupción de la cópula, pero no se han obtenido resultados prometedores, ya que inciden factores relacionados con la dosis adecuada de los compuestos, altas densidades de población del insecto y, más importante aún, la migración de la plaga en zonas productoras de tomate (Michereff-Filho et al., 2000a, 2000b). Sin embargo, estudios más recientes han obtenido resultados más promisorios (Cocco, Deliperi, & Delrio, 2011; Núñez, Zignago, Paullier, & Núñez, 2009).

Otro ejemplo de capturas masivas ocurre en Argentina, en donde se han llevado a cabo estudios para el control de *Tuta absoluta*. En estos se comparó el control convencional con el control obtenido mediante capturas masivas usando trampas de feromona. Un lote altamente infestado fue subdividido en dos y cada mitad se manejó con una de las dos estrategias. Ambas parcelas tenían trampas de monitoreo para poder evaluar el número de polillas en el tiempo. Luego de que comenzara el programa de captura masiva o que se aplicaran agroquímicos, las capturas de *T. absoluta* fueron cuatro veces menores en la parcela donde se utilizaron trampas de captura masiva; además, se observó menor daño en las plantas (Lobos et al., 2013). Tanto el control químico como el control con feromonas logró mantener el daño por debajo del umbral de daño económico (Polack, García-Sampedro & Saini, 2002). Estos resultados fueron validados tanto en Bolivia, en donde se observó una reducción en el daño a flores del 80 % y a frutos del 67 % (Yucra-Equize, 2002), como en el Brasil, donde el daño se mantuvo por debajo de los umbrales aceptables (Lobo-Pinheiro, 2005). Estos resultados demuestran que *T. absoluta* se puede manejar adecuadamente utilizando feromonas, y que hay un gran potencial de mercado para estas, ya que el costo de esta estrategia de control es cercano a la mitad de aquel del control químico.

Foto: Chem Tica International S.A.

Figura 8.5. Trampas de agua con feromonas (tapón naranja) para la captura masiva de *Tuta absoluta*.

Las feromonas en el panorama colombiano

La participación de Colombia en el desarrollo de programas de manejo integrado de plagas mediante el uso de feromonas es reducida, si se tiene en cuenta que, a lo largo de 20 años, entre 1988 y 2008, solo se han referenciado 11 publicaciones sobre este tema (Bergmann, González, & Zarbin, 2009). Sin embargo, se han llevado a cabo muchos estudios prácticos, y la implementación del uso de feromonas en programas nacionales de control ha sido importante.

Algodón

Los primeros estudios sobre el uso de feromonas de insectos fueron desarrollados en la década de los años setenta por el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). Se evaluaron trampas con feromonas sintéticas sexuales "gossyplure" y de agregación "grandlure" y se realizaron experimentos en el cultivo del algodón

Gossypium hirsutum para determinar la densidad de trampas con feromona y para validar las recomendaciones de uso. Se evaluó la captura de machos del gusano rosado de la India, *Pectinophora gossypiella*, con la feromona sexual "gossyplure"; posteriormente, se evaluó la estrategia de interrupción de la cópula, usando una alta densidad de trampas (No Mate PWB), lo que permitió mantener cultivos libres de la plaga por 90 días (García y López, 1970, citado por Barreto-Triana & López-Ávila, 2010).

Para el manejo del picudo de algodonero *A. grandis*, se evaluó la feromona de agregación grandlure+Malathion®, en el período después de la cosecha y durante el descanso, con excelentes resultados al reducir las poblaciones de la plaga para el establecimiento del nuevo cultivo (García y López, 1970 citado por Barreto-Triana & López-Ávila, 2010). En 1991, se adoptó la tecnología del tubo mata picudos (TMP) (feromona 40 mg + malathion + pegante), y desde entonces la destrucción de la soca del algodón, complementada con el uso del TMP, es la principal herramienta para el control del picudo en época de veda (Castro-Ortega & Suárez-Gómez, 1998; Vergara, 2015).

En el 2000, el ICA, la Confederación Colombiana de Algodón (Conalgodón), Corpoica y el Fondo de Fomento Algodonero implementaron el "Plan nacional de exclusión, supresión y erradicación económica del picudo del algodonero *Anthonomus grandis*" (Gómez, Galindo, Mondragón, & Lobatón, 2000), dentro del cual se estableció la red nacional de monitoreo del picudo del algodonero, con el fin de determinar su distribución en el país, mediante el uso de trampas cebadas con la feromona "grandlure" a cargo del ICA, y control con los TMP, colocados al momento de la siembra y de la destrucción de las socas. Para 2005, la plaga prevalecía en los cultivos colombianos y la tecnología TMP no fue suficiente para su control, debido a las condiciones tropicales de Colombia, la diversidad de hospederos del insecto plaga y la falta de normativa en el manejo del cultivo del algodón.

En 2009, el ICA lanzó el "Plan nacional para el establecimiento, mantenimiento, declaración y reconocimiento de áreas libres y de baja prevalencia del picudo del algodonero *Anthonomus grandis* Boheman en Colombia" (Instituto Colombiano Agropecuario [ICA], 2009b). La Resolución ICA 2895 de 2010 declaró a *A. grandis* como plaga de control oficial en el país e implementó un plan que utiliza trampas cebadas con feromona "grandlure" de 10 mg de concentración para captura y monitoreo, que están georreferenciadas y que son monitoreadas cada 15 días durante todo el año (ICA, 2012).

El uso de la feromona en Colombia para el control de *A. grandis* es un claro ejemplo de cómo debe ser incluido el control etológico dentro de un esquema de MIP. Es indispensable generar consciencia a diferentes escalas y aclarar que el éxito del MIP no dependerá del uso terapéutico y excesivo de una sola tecnología, independientemente de su procedencia (química, biológica, etológica o transgénica), sino que dependerá de la correcta integración de varias tecnologías, prácticas culturales y normativas nacionales, que enfoquen los esfuerzos en el control del problema desde varias disciplinas del conocimiento.

Por otro lado, estudios desarrollados con la feromona del gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidade), en cultivos de algodón en el departamento del Tolima, determinaron que la feromona comercial de ChemTica Internacional S. A. presentó mayor captura de machos, con un promedio de 25,79 adultos por trampa/día, en comparación con 1,58 adultos capturados con la feromona de Pherobank y 0,42 en el control. La vida media de la feromona de ChemTica fue de 50 días en condiciones de campo. Estos resultados demostraron que hay variación geográfica intra-específica en la composición de las feromonas extraídas de hembras vírgenes de *S. frugiperda* que explican la variabilidad en la respuesta y eficiencia de las diferentes marcas de feromonas, principalmente de las norteamericanas y europeas en las zonas tropicales (Agudelo, Santos-Amaya, Aguilera-Garramuño, & Argüelles-Cárdenas, 2010; Batista-Pereira et al., 2006).

En otros trabajos desarrollados en cultivos de arroz en Montería, Córdoba, se demostró que la feromona producida por ChemTica también fue eficaz para la captura de adultos de cogollero. Actualmente, las feromonas son utilizadas en el manejo integrado de esta plaga con fines de monitoreo, disminución de poblaciones y reducción del daño en campo; además, se complementa con otros métodos de captura como trampas de luz, trampas de color y trampas de tela,

evitando altas poblaciones de otros insectos en el cultivo de arroz, lo que ha permitido racionalizar el uso de insecticidas de amplio espectro y contribuir al manejo sostenible del cultivo (Pérez, 2017).

Moscas de la fruta

En la década de los años setenta, el ICA implementó el "Programa Nacional para la detección de la Mosca del Mediterráneo *Ceratitis capitata*", utilizando trampas Steiner cebadas con la feromona sexual "Trimedlure", ubicadas en las zonas fronterizas (García y López, 1970, citado por Barreto-Triana & López-Ávila, 2010). Desde 1998, el ICA, a través de la Dirección Técnica de Epidemiología y Vigilancia Fitosanitaria (DTEVF), ejecuta el Plan Nacional de Detección, Control y Erradicación de Moscas de la Fruta (Diptera: Tephritidae) en Colombia.

Según Arévalo-Peñaranda, Díaz-Niño, Castro-Ávila, Caicedo-Vallejo y Palacino-Córdoba (2017), actualmente "el plan cuenta con 132 redes oficiales de trampeo, establecidas en 25 departamentos del país, lo cual permite inferir sobre la condición fitosanitaria de 194.980 ha aproximadamente" (p. 115). La detección se realiza mediante el monitoreo con trampas Jackson con el atrayente sexual "Trimedlure" para la captura de machos de la mosca del Mediterráneo *C. capitata*, y trampas McPhail cebadas con proteína hidrolizada para capturar moscas nativas, principalmente del género *Anastrepha* y *Dacus*, y uso de la paraferomona Metileugenol y Cuelure para la captura de machos de *Bactrocera* (Arévalo-Peñaranda et al., 2017; ICA, 2009a, 2015).

Tomate

Una plaga de importancia en cultivos de tomate *Solanum lycopersicum* L. y otras solanáceas es el pasador de los frutos *Neoleucinodes elegantalis* (Lepidoptera: Crambidae). En 2000, se evaluó la feromona comercial Neoelegantol® en un cultivo comercial de tomate híbrido Santa Clara, en el que se utilizaron diez trampas de galón con agua y aceite vegetal colocadas en la periferia del cultivo. Los resultados mostraron que la feromona fue eficiente en la atracción de machos de *N. elegantalis* por 85 días, superando el uso recomendado de 45 días. Además, se observó un daño menor en el lote donde se utilizaron las trampas (Kuratomi, 2001). Un estudio reciente realizado en Colombia y Ecuador evaluó la captura de machos en cultivos de *S. lycopersicum*, *S. quitoense* y *S. betaceum*, empleando las feromonas sexuales Neolegantol® y P228 (ChemTica Internacional S. A.), sintetizadas a partir de hembras provenientes de cultivos de *S. lycopersicum* en Venezuela (Díaz-Montilla, Suárez-Barón, Gallego, Viera-Arroyo, & Saldamando-Benjumea, 2017). En Colombia, la captura de machos fue significativamente mayor con Neolegantol® y en el cultivo de *S. lycopersicum*, seguido por *S. quitoense* y *S. betaceum*, mientras que en Ecuador las capturas fueron insignificantes utilizando Neolegantol®. Los mismos autores sugieren que los resultados se deben a que *N. elegantalis* presenta cuatro razas o biotipos, lo que puede estar influyendo en la especificidad y composición de la feromona.

En 2014, se evaluó la acción combinada de feromona sexual del cogollero del tomate *Tuta absoluta* y de avispas *Apanteles gelechiidivoris* en condiciones de invernadero. Se determinó que la acción combinada de la feromona, el acetato tetradicatrienelina (3E, 8Z, 11Z) y la liberación del parasitoide una semana después de la siembra permite controlar las poblaciones de larvas de la plaga, desde las etapas iniciales del cultivo y durante todo su desarrollo, manteniéndolas por debajo de nivel de daño económico. La alta captura de adultos en las trampas con feromona se reflejó en una menor población de larvas en la siguiente generación, llevando a menor número de avispas liberadas (Morales, Muñoz, Rodríguez, & Cantor, 2014).

Palmas

Dentro de los primeros reportes de uso de feromonas en Colombia se encuentra la identificación de la feromona de agregación de *Dynamis borassi* (Curculionidae), plaga de la palma de aceite (Giblin-Davis et al., 1997). En este estudio, tanto hembras como machos de la especie respondieron al compuesto (4S, 5S)-4-methyl-5-nonanol, que por sí solo no generó atracción, mientras que ocurrió lo contrario al combinarse

con compuestos volátiles de la caña de azúcar. Hoy en día esta mezcla es uno de los pilares de la estrategia de manejo de poblaciones de curculionidos en cultivos de palma, caña de azúcar, algodón, plátano y banano (Giblin-Davis et al., 1997; Löhr & Parra, 2014).

Posteriormente, investigadores del Centro de Investigación en Palma de Aceite (Cenipalma), así como de Nueva Guinea y Francia, identificaron la feromona de agregación de *Scapanes australis* y *Strategus aloeus* (Coleoptera: Scarabaeidae), plagas de la palma de aceite. La feromona masculina de *S. australis* fue identificada como una mezcla de 2-butanol, 3-hidroxi-2-butanona y 2,3-butanediol en proporciones de 84:12:4, mientras que la feromona de *S. aloeus* fue identificada como una mezcla de 2-butanona, 3-pentanona y butyl-acetato, en proporción de 95,5:4,0:0,5 (Rochat et al., 2000).

Rhynchophorus palmarum (Coleoptera: Curculionidae), conocido como el picudo negro de las palmas, afecta plantaciones de coco (*Cocos nucifera*), chontaduro (*Bactris gasipaes*) y palma de aceite (*Elaeis guineensis*). En cultivos de coco, Peña, Reyes y Bastidas (1996) evaluaron dos tipos de trampas con atrayente alimentario, con o sin la feromona "Rhyncolure" (ChemTica Internacional S. A.). Durante 22 meses, fue posible determinar que las trampas con feromona atrajeron el 96,4 % del total de picudos capturados, mientras que aquellas que tenían únicamente los cebos alimenticios solo capturaron el 3,6 %.

Usando la misma feromona, Löhr y Parra (2014) desarrollaron un sistema de trampeo para captura de adultos del picudo en plantaciones de coco, de pequeños productores en la costa pacífica colombiana. Para tal fin, recomendaron el uso de un recipiente plástico blanco de 20 L, con dos ventanas laterales de 12 × 10 cm en la parte superior y un forro en la parte inferior en tela de costal, que facilita el aterrizaje y movimiento de los picudos hacia el interior. Para la trampa se sugirió la utilización de alguna de las feromonas disponibles como "Rhynchophorol" y "Rhyncholure burbuja" de ChemTica Internacional S. A., junto con acetato de etilo para aumentar la eficiencia. Con el propósito de prolongar la vida útil del cebo alimenticio (caña de azúcar) y evitar el escape de los insectos atrapados, recomendaron una mezcla de glicol propileno + insecticida. Dicha trampa debe ubicarse en el borde del cultivo, sobre el suelo y a la sombra. Se estima que el costo de una trampa por hectárea es inferior a las pérdidas causadas por una palma afectada por el picudo y la enfermedad del anillo rojo.

Actualmente, Cenipalma es la única entidad colombiana que formula la feromona sintética de agregación Rhynchophorol C® (2-metil-5-hepten-4-ol, Registro ICA N.º 9210), para el monitoreo y control del picudo negro en el cultivo de las palmas de aceite (*E. guineensis*, *E. oleifera* y sus híbridos OxG). Se utilizan trampas con cebo vegetal (mezcla de agua, melaza y caña de azúcar) y la feromona, que se colocan bajo sombra, en un sitio boscoso cerca del cultivo, con una distancia mínima de 100 m entre cada trampa, de acuerdo con criterios técnicos. La feromona tiene una vida útil de hasta tres meses después de su ubicación en la trampa, mientras que la cairomona (cebo vegetal) debe ser cambiada cada dos semanas (Cenipalma, 2010, 2017). Además, esta feromona hace parte de un esquema de MIP, liderado por el ICA, que se fundamenta en el monitoreo en todas las zonas productoras, la identificación y destrucción de focos de reproducción de la plaga y la protección de los cultivos mediante la aplicación de plaguicidas de síntesis química en palmas con heridas o con síntomas de la pudrición de cogollo (Aldana de la Torre et al., 2011).

Estudio de semioquímicos en guayaba y aguacate

Los estudios más recientes realizados en Colombia identificaron los compuestos orgánicos volátiles (VOC) que intervienen en la comunicación tanto entre la guayaba (*Psidium guajava*) y el picudo *Conotrachelus psidii*, como entre el aguacate (*Persea americana*) y el picudo *Heilipus lauri*, así como los componentes macho específicos de sus feromonas de agregación (Romero-Frías, 2017).

Los VOC presentes en los tejidos reproductivos de la guayaba correspondieron a los terpenos β-cariofileno, limoneno y el copaeno (identificado tentativamente), que son producidos por la yema floral y el fruto cuajado, sitios donde es común encontrar a *C. psidii*. Por otra parte, se determinó que estos compuestos volátiles producidos por la planta también están presentes en

adultos machos y hembras del insecto. Estos resultados sugieren que limoneno y el β-cariofileno actúan como cairomona para esta especie (Romero-Frías, Simões-Bento, & Osorio, 2015).

Los posibles compuestos de la feromona de agregación de *C. psidii*, que corresponden a dos compuestos macho específicos, fueron identificados como 2-hidroximetil-2,6-dimetil-3-oxabiciclo[4.2.0]octano, con fórmula molecular M=C10H18O2, denominado "papayanol", y el 2-formil-2,6-dimetil-3-oxabiciclo[4.2.0]octano, con fórmula molecular: M=C10H16O2, obtenido por oxidación del papayanol, que por ser su aldehído se denominó "Papayanal" (Romero-Frías, Murata, Simões Bento, & Osorio, 2016). Para confirmar la identidad estructural del papayanal, los autores realizaron su síntesis y posterior caracterización a través de técnicas de análisis químico. Asimismo, se hicieron pruebas de respuesta del insecto frente al papayanol en distintas combinaciones en laboratorio y en campo, lo que permitió confirmar su papel como componente mayoritario de la feromona de agregación de esta especie (Romero-Frías et al., 2016).

Para el sistema aguacate *P. americana* y el pasador del fruto *H. lauri*, Romero-Frías (2017) identificó que tanto las cairomonas (limoneno y β-cariofileno), provenientes de las plantas hospederas, como los componentes macho específicos de sus feromonas de agregación poseen estructuras cíclicas tipo monoterpenoides. Para los adultos de *H. lauri* detectó un compuesto macho-específico identificado como (1R,2S)-grandisol; sin embargo, falta confirmar mediante pruebas comportamentales y electrofisiológicas (antenografía) la atracción de los adultos de *H. lauri* al compuesto identificado.

Estudios de semioquímicos en papa

Uno de los principales insectos plaga en el cultivo de la papa, *Solanum tuberosum*, es la polilla guatemalteca *Tecia solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae). A mediados de la década de los ochenta, su feromona sexual fue identificada como una mezcla entre (E)-3-dodecenyl acetato (E3-12Ac) y de su isómero (Z)-3-dodecenyl acetato (Z3-12Ac), en una proporción 98:2 (Nesbitt et al., 1985). Igualmente, se observó que la proporción en la que se realizaba la mezcla de los compuestos era decisiva al momento de la captura de machos, por lo que Nesbit et al. (1985) reportaron que una proporción entre 1-2 % del isómero Z aumentaba las capturas de machos en condiciones de campo, mientras que un 5 % del mismo isómero las reducía.

Posteriormente, investigadores de Agrosavia (anteriormente Corpoica), en alianza con investigadores de la Universidad de Ciencias Agrícolas de Suecia, identificaron un nuevo componente de la ya descrita feromona sexual de *T. solanivora*. Los estudios se realizaron a partir de la extracción de las glándulas de feromonas de hembras no copuladas de *T. solanivora*, obtenidas justo en el momento de liberación de feromona y contenidas en grupos de 30 a 50 glándulas por cada vial, con 7 µL de heptano redestilado y analizadas mediante cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (GC-MS, por sus siglas en inglés) (Bosa et al., 2005). Como complemento a los resultados obtenidos por Nesbitt et al. (1985), se reportó el compuesto 12-Acetato (12-Ac) como parte de la feromona.

A partir de estos resultados, se plantearon diferentes experimentos para conocer la proporción de los compuestos sintetizados de la feromona que presentaba los mejores resultados en términos de interrupción de la cópula en condiciones de túnel de viento, experimentos en campo y bajo almacenamiento de la semilla de papa en algunos municipios en Colombia (Bosa et al., 2005). En los experimentos de túnel de viento, se observó que 1 µg del compuesto saturado 12Ac, combinado con el compuesto principal de la feromona (E3-12Ac) o con el isómero Z3-12Ac, no tenía ningún efecto en la atracción de los machos al dispensador de la feromona. Mientras tanto, la mezcla de los compuesto Z3-12Ac y E3-12Ac redujo la cantidad de machos atraídos al dispensador comparado con la respuesta presentada en presencia de 10 µg del compuesto principal solo, que alcanzó valores cercanos a los obtenidos cuando la fuente de feromonas fueron hembras en el momento de liberación de feromona (Bosa et al., 2005).

La feromona sintética, fabricada exclusivamente por Shin-Etsu Chemical Co. (Tokyo, Japón) y ChemTica Internacional S. A. (Heredia, Costa Rica) para realizar los experimentos mencionados previamente, contenía

una proporción 100:1 de los compuestos E3-12Ac y Z3-12Ac, muy cercanos a los liberados naturalmente por las hembras de la polilla (100:2), este acercamiento en términos de proporciones de los compuestos, resultó ser una estrategia muy costosa para su producción a gran escala, lo que llevó a la compañía Shin-Etsu a proponer una nueva mezcla que sería económicamente viable para producción a gran escala, 100:56:100 de E3-12:Ac, Z3-12:Ac, y 12:Ac, respectivamente (Bosa et al., 2006). Los resultados obtenidos a partir de esta mezcla en condiciones de túnel de viento demostraron que esta mezcla no es atractiva; sin embargo, en experimentos de casa de malla y campo se observó que cuando se utilizaban estos dispensadores para interrupción de cópula no se obtuvieron capturas de machos en las trampas cebadas con la mezcla atractiva y trampas cebadas con hembras vírgenes, lo que es un buen indicador de que la interrupción de cópula está funcionando, ya que los machos no logran encontrar las fuentes de feromona adecuadamente (Bosa et al., 2006; McCormick et al., 2012) (figura 8.6).

Estos experimentos también sugieren que, de acuerdo con el comportamiento de la plaga, el estado fenológico de la papa y los compuestos volátiles emitidos en los diferentes estados de desarrollo, principalmente durante la floración, presentan un efecto sinérgico con la feromona emitida por la hembra y podrían ser un factor determinante en el ingreso de machos de la plaga en busca de las hembras para la cópula (Cotes-Prado et al., 2012; Karlsson et al., 2009; Karlsson et al., 2017).

El pequeño tamaño de las parcelas evaluadas en condiciones de campo no permitió validar de forma efectiva la reducción de daño causada por la interrupción de cópula, ya que se sabe que este método requiere de grandes extensiones para minimizar el efecto de la migración de hembras copuladas; sin embargo, los resultados comprobaron que la estrategia era promisoria. Esto llevó a que el grupo de ecología química de AGROSAVIA Tibaitatá realizara experimentos adicionales bajo condiciones de almacenamiento de la semilla de papa, en donde se presenta el mayor número de pérdidas ocasionadas por esta plaga. En estos experimentos se evaluó la densidad de dispensadores de feromona que contenían una mezcla de los compuestos E3-12:Ac, Z3-12:Ac y 12:Ac en proporción 30:50:20, para la interrupción de la cópula de adultos de *T. solanivora*, y se observó que para un cuarto de almacenamiento de 1,8 m × 2,8 m, con cinco dispensadores, fue posible reducir en un 33 % la incidencia del daño causado por las larvas de *T. solanivora*, mientras que la población de larvas en este mismo tratamiento se redujo en un 92 % con respecto al control (Wilches, Borrero-Echeverry, Cotes-Prado, & Aragón, 2011), mientras que en condiciones de almacenamiento, en los municipios de Ventaquemada y Siachoque (ambos en el departamento de Boyacá), la reducción en el daño ocasionado por larvas de *T. solanivora* fue del 67 % y del 50 % respectivamente; asimismo, se observó una reducción en la cópula del 95 % en Ventaquemada y del 85 % en Siachoque, cuando se instalaron tres dispensadores (Aragón, Cotes-Prado, Borrero-Echeverry, Rivera, & Barreto-Triana, 2011).

Estos resultados evidenciaron el potencial de estos dispensadores para la protección de las semillas de papa en condiciones de almacenamiento, así como el aporte de esta técnica en el manejo de las poblaciones de la plaga, dado que tradicionalmente las bodegas de almacenamiento de semillas de papa se ubican en cercanías a los cultivos, aumentando la probabilidad de dispersión de los adultos desde el almacén hasta el campo.

Actualmente, AGROSAVIA implementa las "buenas prácticas agrícolas" (BPA) en el cultivo de la papa, y una de las estrategias para reducir la aplicación de insecticidas es el uso de trampas cebadas con feromonas sintéticas (ChemTica Internacional S. A.) para vigilancia y monitoreo de las polillas de la papa (Lepidopterea: Gelechiidae), la palomilla *Phthorimaea operculella* y la polilla guatemalteca *T. solanivora*.

Por otra parte, se están realizando pruebas de campo para comprobar la eficiencia de atracción de feromonas comerciales hacia machos de algunas plagas como el barrenador de la caña de azúcar *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae); los picudos del plátano *Cosmopolites sordidus* y *Metamasius hemipterus* (Coleoptera: Curculionidae), y el pasador del fruto del aguacate *Stenoma catenifer* Walsingham (Lepidoptera: Elachistidae), para ser incluidos dentro de programas de manejo integrado en el caso de las tres primeras plagas y para monitoreo, o detección en la última especie.

Fotos: Grupo de Investigación en Control Biológico de Corpoica

Figura 8.6. Experimentos de interrupción de cópula de *Tecia solanivora* en papa llevados a cabo por AGROSAVIA. a. Dispensadores de feromona de ChemTica Internacional; b. Dispensadores de feromona de Shin-Etsu Chemical Co; c. Trampas con hembras vírgenes para verificar el efecto de la interrupción de cópula; d. Ensayos en casa de malla donde se puede ver una jaula para evaluar cópulas (blanca) y una trampa de validación (blanca con tapa roja).

Productos disponibles en el mercado

A nivel mundial, existen muchas compañías que producen y venden feromonas para el control de insectos. Actualmente, aunque no es posible enumerar todos los productos, es importante resaltar las compañías más importantes del sector. Dentro de estas se encuentran Russell IPM (150 productos), Shin-Etsu Chemicals (5 feromonas para interrupción de cópula), International Pheromone Systems (~120 productos), Suterra LLC, Trécé (~200 productos), Novagrica (~100 productos), Agrisense BCS (14 productos), Pheromone Chemicals (compañía de síntesis química), Indore Biotech Inputs and Research (~10 productos), Pherobank (~300 productos), Koppert Biological Systems (~60 productos),

Tabla 8.4. Ejemplos de productos a base de feromonas disponibles en el mercado internacional y sus aplicaciones

Función	Especie	Producto	Compañía
Monitoreo / Captura masiva	*Cydia pomonella*	Qlure-CYP	Russell IPM
Monitoreo	*Bactrocera cucurbitae*	PH-270-1SR	Russell IPM
Monitoreo	*Ceratitis capitata*	PH-180-1SR	Russell IPM
Interrupción de copula	*Cydia pomonella*	Isomate C	Shin-Etsu
Interrupción de copula	*Lobesia botrana*	Isonet L	Shin-Etsu
Interrupción de copula	*Tuta absoluta*	Isonet T	Shin-Etsu
Captura masiva	*Ips typographus*	P274-Lure	ChemTica
Captura masiva	*Rhynchophorus palmarum*	P058-Lure (Rhyncolure)	ChemTica
Monitoreo	*Ephestia cautella*	P025-Lure	ChemTica
Monitoreo / Captura masiva	*Hypothenemus hampei*	Bio Broca	Bio Controle
Monitoreo	*Helicoverpa armigera*	Bio Helicoverpa	Bio Controle
Monitoreo	*Cosmopolites sordidus*	Cosmolure	Bio Controle
Monitoreo	*Ephestia spp. / Plodia interpunctella*	SPM Biolure	Agrisense
Monitoreo	*Tribolium confusum / T. castaneum*	FB Lure	Agrisense
Interrupción de copula	*Grapholita molesta*	SPLAT OFM	ISCA
Interrupción de copula	*Lymantria dispar dispar*	SPLAT GM-O	ISCA
Atracticida	*Drosophila suzukii*	SPLAT SWD	ISCA
Monitoreo	*Spodoptera frugiperda*	SpoFru	NovAgrica
Monitoreo	*Plutella xylostella*	PluXyl	NovAgrica
Captura masiva	*Tuta absoluta*	Tutasan	Koppert
Captura masiva	*Diabrotica virgifera virgifera*	DIVI	Pherobank

Fuente: Elaboración propia

ISCA (~60 productos), Bedoukian Reserach (~110 productos), Biobest (~50 productos) ChemTica (~200 productos) y Bio Controle (18 productos); las últimas dos son compañías Latinoamericanas, ubicadas en Costa Rica y Brasil, respectivamente (tabla 8.4). Es importante resaltar que muchas de estas compañías y laboratorios están dispuestos a sintetizar cantidades pequeñas de feromonas con fines de investigación.

En Colombia, las feromonas son catalogadas como insumos biológicos por el ICA, ente regulador encargado de otorgar los registros para comercialización de estos productos. En la tabla 8.5, se muestran los productos comerciales que se encuentran disponibles en el mercado, siendo en su mayoría productos para el manejo de picudos en palma de aceite. Los desarrollos para otro tipo de cultivos aún no se encuentran disponibles.

Tabla 8.5. Listado de feromonas sintéticas registradas en Colombia para su uso en agricultura convencional y ecológica

Nombre	Composición	Registro ICA	Plaga	Cultivo
Feromona Rhynchophorol C. (Corporación Centro de Investigación en Palma de Aceite "Cenipalma")	2-Metil-5-(E) Hepten-4-Ol	9210	*Rhynchophorus palmarum*	Palma de aceite, *Elaeas guinensis* J, *Elaeis oleífera* e Híbrido OxG
Rhyncholure (Representaciones y desarrollos biotecnológicos Ltda. Rebiotech)	Feromona Rhynchophorus	2772	*Rhynchophorus palmarum*	Palma de aceite
Check-mate PBW (Proficol S. A.)	Feromonas Gossyplure (Z.E.) y Gossyplure (Z.Z)	2326	*Pectinophora gossypiella*	Arroz, Sorgo, Trigo y Maíz
Nomate PBW (Proficol S. A.)	(Z,Z)-7,11-Hexadecadien-1-yl-Acetate (Z,E)-7,11-Hexadecadien-1-yl-Acetate	1284	*Sacadodes pyralis*	Algodón
Metalure (Representaciones y desarrollos biotecnológicos Ltda. Rebiotech)	3-metil-hidroxi-hep-5-eno	2775	*Rhynchophorus palmarum*	Palma
Combolure (Representaciones y desarrollos biotecnológicos Ltda. Rebiotech)	Feromona Rhynchophorol (Extracto de *Rhynchophorus palmarum*)3-Methilhidroxi-hep-5-eno	2776	*Rhynchophorus palmarum*	Palma
Cosmolure (Representaciones y desarrollos biotecnológicos Ltda. Rebiotech)	3-metil-hidroxi-5-heptenol	2776	*Rhynchophorus palmarum*	Palma
Crystal Acti-Mites (Distribuidora de productos Agrícolas Discrystal Ltda.)	Feromonas Farnesol y Nerolidol	3126	*Tetranychus* spp.	Flores

(Continúa)

(Continuación tabla 8.5)

Nombre	Composición	Registro ICA	Plaga	Cultivo
Hercon Luretape con Grandlure (Rebiotec Representaciones y desarrollos biotecnológicos Ltda.)	Feromona grandlure	1837	*Anthonomus grandis*	Algodón
Feromex (Merx International Ltda.)	3-dodecen-1- ol,(e) 98 %. 3- dodecen-1- ol,(z) 2,0 %.	3188	*Tecia solanivora*	Papa
Safer Tecialure (Safer Agrobiológicos S. A.)	Bioquímico Feromona	9582	*Tecia solanivora*	Papa
Safer Trimedlure (Safer Agrobiológicos S. A.)	Bioquímico Feromona	9584	*Ceratitis capitata*	Cítricos, Café,Mora, Guayaba, Mango, Guanáabana
Safer Antholure (Safer Agrobiológicos S. A.)	Bioquímico Feromona	9585	*Anthonomus grandis*	Algodón
Safer Cuelure (Safer Agrobiológicos S. A.)	Bioquímico Feromona	9586	*Bactrocera* spp.	Melón, Cítricos, Mora, Guayaba, Mango, Guanabana
Palmalure FG	Bioquímico Feromona	9610	*Rhynchophorus palmarum*	Coco, palma de aceite y chontaduro

Fuente: Adaptada de ICA (2017)

Factores limitantes

El uso de feromonas todavía tiene muchos obstáculos. Posiblemente el más importante es el alto costo de la tecnología. Aunque los precios tienden a bajar cuando la síntesis se lleva a cabo a gran escala, dado que la síntesis de feromonas en pequeñas cantidades es sumamente costosa (Witzgall et al., 2010). Otro limitante importante de las feromonas es que, al ser especie específicas, solo sirven para controlar una especie y, en algunas situaciones, se requiere de un desarrollo a nivel de poblaciones locales, ya que hay variación a nivel de especie (Unbehend, Hanniger, Meagher, Heckel, & Groot, 2013; Velásquez-Vélez et al., 2011).

Adicionalmente, existe una falta de interés por parte de los agricultores. De momento el bajo costo de los insecticidas químicos y la falta de incentivos por parte de los gobiernos reduce la adopción de nuevas tecnologías, particularmente en los trópicos. Este problema tiende a reducirse, ya que tanto las regulaciones sobre agroquímicos como el interés de exportar productos hacia Europa y otros países con exigencias estrictas obligarán a la adopción de métodos de producción limpia, que se volverán comunes.

Respecto de las feromonas utilizadas en la interrupción de la cópula, es necesario tratar grandes

extensiones para que el método funcione. Para lograr esto se requieren iniciativas gubernamentales que coordinen científicos, gremios de productores y extensionistas para crear programas de control regional (Witzgall et al., 2010).

Los obstáculos para el uso de las feromonas en el contexto colombiano están estrechamente ligados con el desarrollo local de feromonas, el sistema productivo y la asistencia técnica proporcionada a los productores para el uso correcto de esta estrategia de manejo. Muchas de las feromonas que se han desarrollado en otros países no parecen ser efectivas cuando se evalúan en Colombia.

El sistema productivo en el que se van a utilizar también es importante, ya que la formulación debe tener en cuenta factores como la tasa de liberación en campo, afectada por la temperatura y la humedad relativa, su radio de acción y estabilidad de las moléculas en el tiempo, de acuerdo con las condiciones abióticas que pueden influir en la calidad del producto. Por último, el uso adecuado de la tecnología requiere de un acompañamiento técnico y de la disposición de los agricultores de seguir estas recomendaciones. En este sentido, la falta de un servicio de extensión y asistencia técnica adecuado en Colombia es, potencialmente, el mayor impedimento para la implementación de esta tecnología.

Conclusiones y perspectivas

Las tendencias del mercado indican que las feromonas seguirán teniendo un crecimiento cercano al 5,65 % anual, gracias a su creciente importancia en los programas de MIP, los programas de monitoreo de especies invasoras y los programas de erradicación. Un estudio reciente fue pionero en exponer el costo/beneficio real del desarrollo de una feromona utilizada para la captura masiva de *Gymnandrosoma aurantianum* en cítricos en Brasil, demostrando que su uso tiene un retorno entre USD 2.655 y 26.548 por cada dólar invertido en su desarrollo (Bento et al., 2016). El uso de feromonas no solo reduce las pérdidas entre 5 y 50 %, sino que también tienen un valor incalculable en la protección del medio ambiente, en la reducción del uso de agroquímicos y, por ende, podría permitir la venta de productos en mercados especializados (Bento et al., 2016). Estas cifras demuestran el gran potencial que aún hay en el uso de feromonas, más aún en países como Colombia, en donde su uso aún es incipiente. El creciente interés por parte de científicos y centros de investigación por las feromonas y la existencia de programas nacionales que ya incluyen su uso facilitará la implementación de esta tecnología en otros sistemas productivos.

Agradecimientos

Los autores agradecen a Alba Marina Cotes y a la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria por la oportunidad de participar en este libro, y a Francisco González de ChemTica Internacional S. A. por las fotos utilizadas en el capítulo.

Referencias

Agudelo, J. A., Santos-Amaya, O., Aguilera-Garramuño, E., & Argüelles-Cárdenas, J. (2010). Evaluación de dos marcas comerciales de la feromona sexual de *Spodoptera frugiperda* Smith (Lepidoptera: Noctuidade) en el Tolima, (Colombia). *Revista Corpoica. Ciencia y Tecnología Agropecuaria, 11*(2), 137-143. doi:10.21930/rcta.vol11_num2_art:204.

Aldana de la Torre, R. C., Aldana de la Torre, J. A., & Moya, O. M. (2011). *Manejo del picudo Rhychophporus palmarum L. (Coleptera: Curculionidae)*. Recuperado de: https://www.ica.gov.co/getattachment/19e016c0-0d14-4412-af12-03eecfe398f2/Manejo-del-picudo--Rhynchophorus-palmarum-L--(Cole.aspx.

Anton, S., & Homberg, U. (1999). *Antennal lobe structure*. Berlín, Heidelberg, Alemania: Springer. doi:10.1007/978-3-662-07911-9_5.

Aragón, S., Cotes-Prado, A. M., Borrero-Echeverry, F., Rivera, F., & Barreto-Triana, N. (2011). *Optimización y validación de estrategias de manejo en campo de la polilla Guatemalteca de la papa Tecia solanivora mediante el uso de su feromona sexual* [Informe técnico final]. Mosquera, Colombia: Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica).

Arévalo-Peñaranda, E., Díaz-Niño, M. F., Castro-Ávila, A. P., Caicedo-Vallejo, A. M., & Palacino-Córdoba, J. H. (2017). Vigilancia oficial de plagas de alto impacto en sistemas productivos agrícolas de Colombia. En Sociedad Colombiana de Entomología (Socolen) (Ed.), *XLIV Congreso Socolen* (pp. 113-119). Bogotá, Colombia: Socolen.

Arn, H., Städler, E., & Rauscher, S. (1975). The electroantennographic detector—a selective and sensitive tool in the gas chromatographic analysis of insect pheromones. *Zeitschrift für Naturforschung C – A Journal of* Biosciences, *30*, 722-725. doi:10.1515/znc-1975-11-1204.

Auer, T. O., & Benton, R. (2016). Sexual circuitry in *Drosophila*. *Current Opinion in Neurobiology*, *38*, 18-26. doi:10.1016/j.conb.2016.01.004.

Barreto-Triana, N., & López-Ávila, A. (2010). Semiochemicals in Pest Management in Colombia. En Latin American Association of Chemical Ecology, *I Latin American Meeting of Chemical Ecology Colonia del Sacramento* (pp. 68). Colonia del Sacramento, Uruguay: Asociación Latino Americana de Ecología Química (ALAEQ).

Batista-Pereira, L. G., Stein, K., De Paula, A. F., Moreira, J. A., Cruz, I., Figueiredo, M. de L., … Correa, A. G. (2006). Isolation, identification, synthesis, and field evaluation of the sex pheromone of the Brazilian population of *Spodoptera frugiperda*. *Journal of Chemical Ecology*, *32*(5), 1085-1099. doi:10.1007/s10886-006-9048-5.

Becerra, L., & Corredor, D. (2001). Application of an insecticidal bait to control adults of *Tecia solanivora* (Povolny) (Lepidoptera: Gelechiidae) in potato. *Agronomía Colombiana*, *18*(1-3), 97-103.

Bell, W. J., Parsons, C., & Martinko, E. A. (1972). Cockroach aggregation pheromones: Analysis of aggregation tendency and species specificity (Orthoptera: Blattidae). *Journal of Kansas Entomological Society*, *45*(4), 414-421.

Bento, J. M., Parra, J. R., de Miranda, S. H., Adami, A. C., Vilela, E. F., & Leal, W. S. (2016). How much is a pheromone worth? *F1000 Research*, *5*, 1763. doi:10.12688/f1000research.9195.1.

Berger, K. G., & Martin, S. M. (2000). *Palm Oil*. Nueva York, EE. UU.: Cambridge University.

Bergmann, J., González, A., & Zarbin, P. H. (2009). Insect pheromone research in South America. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, *20*(7), 1206-1219. doi:10.1590/S0103-50532009000700003.

Binyameen, M., Anderson, P., Ignell, R., Seada, M. A., Hansson, B. S., & Schlyter, F. (2012). Spatial organization of antennal olfactory sensory neurons in the female *Spodoptera littoralis* moth: Differences in sensitivity and temporal characteristics. *Chemical Senses*, *37*(7), 613-629. doi:10.1093/chemse/bjs043.

Bogich, T. L., Liebhold, A. M., & Shea, K. (2008). To sample or eradicate? A cost minimization model for

monitoring and managing an invasive species. *Journal of Applied Ecology*, *45*(4), 1134-1142. doi:10.1111/j.1365-2664.2008.01494.x.

Borrero-Echeverry, F. (2016). *Social and Environmental Olfactory Signals Mediate Insect Behavioral Ecology and Evolution*. Lomma, Suecia: Department of Plant Protection Biology & Swedish University of Agricultural Sciences.

Borrero-Echeverry, F., Becher, P. G., Birgersson, G. R., Bengtsson, M., Witzgall, P., & Saveer, A. M. (2015). Flight attraction of *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera, Noctuidae) to cotton headspace and synthetic volatile blends. *Frontiers in Ecology and Evolution*, *3*, 56. doi:10.3389/fevo.2015.00056.

Bosa, C. F., Cotes-Prado, A. M., Fukumoto, T., Bengtsson, M., & Witzgall, P. (2005). Pheromone-mediated communication disruption in Guatemalan potato moth, *Tecia solanivora*. *Entomologia Experimentalis Applicata*, *114*(2), 137-142. doi:10.1111/j.1570-7458.2005.00252.x.

Bosa, C. F., Cotes-Prado, A. M., Fukumoto, T., Bengtsson, M., & Witzgall, P. (2006). Disruption of Pheromone Communication in *Tecia solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae): Flight Tunnel and Field Studies. *Journal of Economic Entomology*, *99*(4), 6.

Brockerhoff, E. G., Jones, D. C., Kimberley, M. O., Suckling, D. M., & Donaldson, T. (2006). Nationwide survey for invasive wood-boring and bark beetles (Coleoptera) using traps baited with pheromones and kairomones. *Forest Ecology and Management*, *228*(1-3), 234-240. doi:10.1016/j.foreco.2006.02.046.

Bruce, T. J., & Pickett, J. A. (2011). Perception of plant volatile blends by herbivorous insects–finding the right mix. *Phytochemistry*, *72*(13), 1605-1611. doi:10.1016/j.phytochem.2011.04.011.

Buck, L., & Axel, R. (1991). A novel multigene family may encode odorant receptors: A molecular basis for odor recognition. *Cell*, *65*(1), 175-187. doi:10.1016/0092-8674(91)90418-x.

Burkholder, W. E., & Ma, M. (1985). Pheromones for monitoring and control of stored-product insects. *Annual Review of Entomology*, *30*, 257-272. doi:10.1146/annurev.en.30.010185.001353.

Butenandt, A., Beckmann, R., Stamm, D., & Hecker, E. (1959). Über den sexuallockstoff des seidenspinners *Bombyx mori*. Reindarstellung und konstitution. *Z. Naturforsch. B*, *14*, 283-284.

Campion, D. G., Hall, D. R., & Prevett, P. F. (2011). Use of pheromones in crop and stored products pest management: control and monitoring. *International Journal of Tropical Insect Science*, *8*(4-5-6), 737-741. doi:10.1017/s1742758400022852.

Carraher, C., Dalziel, J., Jordan, M. D., Christie, D. L., Newcomb, R. D., & Kralicek, A. V. (2015). Towards an understanding of the structural basis for insect olfaction by odorant receptors. *Insect Biochemical and Molecular Biology*, *66*, 31-41. doi:10.1016/j.ibmb.2015.09.010.

Castro-Ortega, L. A., & Suárez-Gómez, H. D. (1998). Eficiencia de los tubos mata picudos y de las trampas cebadas con feromona Grandlure en el control de *Anthonomus grandis* (Coleoptera: Curculionoidae). *Corpocaribe*, *3*, 21-28.

Corporación Centro de Investigación en Palma de Aceite (Cenipalma). (2010). *Biología, hábitos y manejo de Rhynchophorus palmarum L. (Coleoptera: Curculionidae)*. Bogotá, Colombia: Corporación Centro de Investigación en Palma de Aceite (Cenicaña).

Corporación Centro de Investigación en Palma de Aceite (Cenipalma). (2017). *Plegable feromona Rhynchophorol C*. Bogotá, Colombia: Corporación Centro de Investigación en Palma de Aceite (Cenicaña).

Chinchilla, C., Menjivar, R., & Arias, E. (1990). Picudo de la palma y enfermedad del anillo rojo/hoja pequeña en una plantación comercial en Honduras. *Turrialba*, *40*(4), 471-477.

Chinchilla, C. M., González, L., & Oehlschlager, A. (1993). *Management of red ring disease in oil palm through pheromone-based trapping of Rhynchophorus palmarum (L)*. Ponencia presentada en International Palm Oil Congress. Kuala Lumpur, Malaysia.

Clyne, P. J., Warr, C. G., Freeman, M. R., Lessing, D., Kim, J. H., & Carlson, J. R. (1999). A novel family of divergent seven-transmembrane proteins: Candidate odorant receptors in *Drosophila*. *Neuron*, *22*(2), 327-338. doi:10.1016/s0896-6273(00)81093-4.

Cocco, A., Deliperi, S., & Delrio, G. (2011). *Evaluation of the mating disruption method against the tomato borer, Tuta absoluta (Meyrick), in greenhouse tomato crops in Sardinia (Italy)*. Ponencia presentada en EPPO/IOBC/FAO/NEPPO Joint International Symposium on Management of Tuta absoluta (tomato borer), Agadir, Marruecos.

Cotes-Prado, A. M., López-Ávila, A., Bosa-Ochoa, C. F., Zuluaga-Mogollón, M. V., Rincón-Rueda, D. F., & Valencia, E. (2012). *Uso de los compuestos volátiles de la papa en el control de la polilla guatemalteca*. Mosquera, Colombia: Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria.

De Bruyne, M., & Baker, T. C. (2008). Odor detection in insects: Volatile codes. *Journal of Chemical Ecology*, *34*(7), 882-897. doi:10.1007/s10886-008-9485-4.

Deisig, N., Dupuy, F., Anton, S., & Renou, M. (2014). Responses to Pheromones in a Complex Odor World: Sensory Processing and Behavior. *Insects*, *5*(2), 399-422. doi:10.3390/insects5020399.

Díaz-Montilla, A. E., Suárez-Barón, H., Gallego, G., Viera-Arroyo, W. F., & Saldamando-Benjumea, C. I. (2017). Variation in the capture of *Neoleucinodes elegantalis* Guenée (Lepidoptera: Crambidae) males using commercial sex pheromones on three solanaceous hosts. *Revista Corpoica: Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, *18*(3), 583-597. doi:10.21930/rcta.vol18_num3_art:746.

Dickens, J., Billings, R., & Payne, T. (1992). Green leaf volatiles interrupt aggregation pheromone response in bark beetles infesting southern pines. *Cellular and Molecular Life Science*, *48*(5), 523-524. doi:10.1007/BF01928180.

Dickens, J., Jang, E., Light, D., & Alford, A. (1990). Enhancement of insect pheromone responses by green leaf volatiles. *Naturwissenschaften*, *77*(1), 29-31. doi:10.1007/BF01131792.

Dowd, P. F., & Bartelt, R. J. (1991). Host-derived volatiles as attractants and pheromone synergists for dried fruit beetle *Carpophilus hemipterus*. *Journal of Chemical Ecology*, *17*(2), 285-308. doi:10.1007/BF00994333.

Durand, N., Carot-Sans, G., Bozzolan, F., Rosell, G., Siaussat, D., Debernard, S., … Maibeche-Coisne, M., (2011). Degradation of pheromone and plant volatile components by a same odorant-degrading enzyme in the cotton leafworm, *Spodoptera littoralis*. *PLoS One*, *6*(12), e29147. doi:10.1371/journal.pone.0029147.

Eisner, T., & Meinwald, J. (Eds.) (1995). *Chemical Ecology: The Chemisty of Biotic Interaction*. Washington, EE. UU.: National Academy Press.

El-Sayed, A. (2014). *The Pherobase: Database of pheromones and semiochemicals*. Recuperado de http://www.pherobase.com/about.

El-Sayed, A. (2017a). *Pherobase: Lure and kill–Index-List of Species*. Recuperado de http://www.pherobase.net/database/control/control-approach-Lure and kill-all.php.

El-Sayed, A. (2017b). *Pherobase: Mass Trapping–Index-List of Species*. Recuperado de http://www.pherobase.net/database/control/control-approach-Mass trapping-all.php.

El-Sayed, A. (2017c). *Pherobase: Mating disruption–Index-List of Species*. Recuperado de http://www.pherobase.net/database/control/control-approach-Matingdisruption-all.php

El-Sayed, A., Suckling, D., Byers, J., Jang, E., & Wearing, C. (2009). Potential of "lure and kill" in long-term pest management and eradication of invasive species. *Journal of Economic Entomology*, *102*(3), 815-835. doi:10.1603/029.102.0301.

El-Sayed, A. M., Suckling, D. M., Wearing, C. H., & Byers, J. A. (2006). Potential of mass trapping for long-term pest management and eradication of invasive species. *Journal of Economic Entomology*, *99*(5), 1550-1564. doi:10.1603/0022-0493-99.5.1550.

Environmental Protection Agency (EPA). (2017). *Pesticides*. Recuperado de https://www.epa.gov/pesticides.

European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO). (2008). *Eppo Reporting Service*. Recuperado de https://www.eppo.int/PUBLICATIONS/reporting/reporting_service.htm.

Esparza-Díaz, G., Olguin, A., Carta, L. K., Skantar, A. M., & Villanueva, R. T. (2013). Detection of *Rhynchophorus palmarum* (Coleoptera: Curculionidae) and Identification of associated nematodes in South Texas. *Florida Entomologist*, *96*(4), 1513-1521. doi:10.1653/024.096.0433.

Fabre, J. (1879). *Souvenirs entomologiques. Etudes sur l'instinct et les moeurs des insectes*. París, Francias: Librairie CH. Delagrave.

Faleiro, J. R., & Satarkar, V. R. (2005). Attraction of food baits for use in red palm weevil *Rhynchophorus ferrugineus* Olivier pheromone trap. *Indian Journal of Plant Protection*, *33*(1), 23-25.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2017). *Crops*. Recuperado de http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC.

Farský, O. (1938). Nonnenkontroll-und Vorbeugungsmethode nach Professor Forst.-Ing. Ant. Dyk. *Anzeiger für Schädlingskunde*, *14*(6), 65-67. doi:10.1007/bf02337800.

Galizia, C. G. (2014). Olfactory coding in the insect brain: data and conjectures. *The European Journal of Neuroscience*, *39*(11), 1784-1795. doi:10.1111/ejn.12558.

Gaston, L. K., Shorey, H. H., & Saario, C. A. (1967). Insect population control by the use of sex pheromones to inhibit orientation between the sexes. *Nature*, *213*, 1155. doi:10.1038/2131155a0.

Giblin-Davis, R. M., Gries, R., Gries, G., Peña-Rojas, E., Pinzón, I., Peña, J. E., … Oehlschlager, A. C. (1997). Aggregation pheromone of palm weevil, *Dynamis borassi*. *Journal of Chemical Ecology*, *23*(10), 2287-2297. doi:10.1023/B:JOEC.0000006674.64858.f2.

Giblin-Davis, R. M., Oehlschlager, A. C., Perez, A., Gries, G., Gries, R., Weissling, T. J., … Gonzalez, L. M. (1996). Chemical and behavioral ecology of palm weevils

(Curculionidae: Rhynchophorinae). *Florida Entomologist*, *79*(2), 153-167. doi:10.2307/3495812.

Gómez, R., Galindo, A., Mondragón, A., & Lobatón, V. (2000). *Plan nacional de exclusión, supresión y erradicación económica del picudo del algodonero Anthonomus grandis Boheman (Coleoptera: Curculionidae)* [Boletín de Sanidad Vegetal, N.º 10]. Bogotá, Colombia: Unidad de proyectos de prevención del Instituto Colombiano Agropecuario (ICA).

Grand View Research (2015). *Research and markets: IPM pheromones market analysis by product (sex pheromones, aggregation pheromones, oviposition-deterring pheromones, alarm pheromones) and segment forecasts to 2020*. Recuperado de https://www.businesswire.com/news/home/20151030005281/en/Research-Markets-IPM-Pheromones-Market-Analysis-Product.

Grant, G. G. (1991). Development and use of pheromones for monitoring lepidopteran forest defoliators in North America. *Forest Ecology and Management*, *39*, 153-162. doi:10.1016/0378-1127(91)90173-s.

Gries, R., Britton, R., Holmes, M., Zhai, H., Draper, J., & Gries, G. (2015). Bed bug aggregation pheromone finally identified. *Angewandte Chemie*, *54*(4), 1151-1154. doi:10.1002/anie.201409890.

Griffith, R. (1969). A method of controlling red ring disease of coconuts. *Journal of the Agricultural Society of Trinidad & Tobago*, *69*(3), 827-845.

Hagley, E. A. C. (1963). The role of the palm weevil, *Rhynchophorus palmarum*, as a vector of Red Ring Disease of Coconuts. I. Results of preliminary investigations. *Journal of Economic Entomology*, *56*(3), 375-380. doi:10.1093/jee/56.3.375.

Hansson, B. S., & Anton, S. (2000). Function and morphology of the antennal lobe: New developments. *Annual Review of Entomology*, *45*, 203-231. doi:10.1146/annurev.ento.45.1.203.

Harborne, J. B. (2001). Twenty-five years of chemical ecology. *Natural Products Report*, *18*(4), 361-379. doi:10.1039/b005311m.

Hartmann, T. (2008). The lost origin of chemical ecology in the late 19th century. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *105*(12), 4541-4546. doi:10.1073/pnas.0709231105.

Hatano, E., Saveer, A., Borrero-Echeverry, F., Strauch, M., Zakir, A., Bengtsson, M., … Dekker, T., (2015). A herbivore-induced plant volatile interferes with host plant and mate location in moths through suppression of olfactory signaling pathways. *BMC Biology*, *13*(1), 75. doi:10.1186/s12915-015-0188-3.

Haynes, K. F., Miller, T. A., Staten, R. T., Li, W. G., & Baker, T. C. (1986). Monitoring insecticide resistance with insect pheromones. *Experientia*, *42*(11-12), 1293-1295. doi:10.1007/bf01946429.

Heisenberg, M. (2003). Mushroom body memoir: From maps to models. *Nature Reviews Neuroscience*, *4*, 266-275. doi:10.1038/nrn1074.

Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). (2009a). *Boletín epidemiológico Mosca del Mediterráneo (Ceratitis capitata) en Colombia año 2008-2009*. Bogotá, Colombia: ICA.

Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). (2009b). Plan nacional para el establecimiento, mantenimiento, declaración y reconocimiento de áreas libres y de baja prevalencia del picudo del algodonero *Anthonomus grandis* Boheman en Colombia. Bogotá, Colombia: ICA.

Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). (6 de septiembre de 2010). Por medio de la cual se establecen las plagas cuarentenarias sometidas a control oficial ausentes y presentes en el territorio nacional. [Resolución 2895 de 2010]. Recuperado de: https://www.redjurista.com/documents/resolucion_2895_de_2010_ica_-_instituto_colombiano_agropecuario.aspx#/.

Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). (2012). *Boletín epidemiológico Situación actual del picudo del algodonero Anthonomus grandis Boheman (Coleoptera: Curculionidae) en Colombia*. Bogotá, Colombia: ICA.

Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). (2015). *Sistema de Alerta Fitosanitaria. Actualización de la situación de la Mosca del Mediterráneo (Ceratitis capitata (Wiedemann)) en Colombia*. Bogotá, Colombia: ICA.

Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). (2017). *Productos registrados Bioinsumos*. Recuperado el 27 de julio del 2017, de https://www.ica.gov.co/getdoc/2ad9e987-8f69-4358-b8a9-e6ee6dcc8132/PRODUCTOSBIOINSUMOS-MAYO-13-DE-2008.aspx.

IndexMundi. (2016). *Guatemala Palm Oil Production by Year*. Recuperado de https://www.indexmundi.com/agriculture/?country=gt&commodity=palm-oil&graph=production.

Jacobson, M. (2012). *Insect sex pheromones*. Nueva York, EE. UU.: Elsevier.

Jaffé, K., Sánchez, P., Cerda, H., Hernández, J. V., Jaffé, R., Urdaneta, N., … Miras, B. (1993). Chemical ecology of the palm weevil *Rhynchophorus palmarum* (L.) (Coleoptera: Curculionidae): Attraction to host plants and to a male-produced aggregation pheromone. *Journal of Chemical Ecology*, *19*(8), 1703-1720. doi:10.1007/bf00982302.

Karlson, P., & Lüscher, M. (1959). 'Pheromones': a new term for a class of biologically active substances. *Nature*, *183*, 55-56. doi:10.1038/183055a0.

Karlsson, M. F., Birgersson, G., Cotes-Prado, A. M., Bosa, C. F., Bengtsson, M., & Witzgall, P. (2009). Plant Odor

Analysis of Potato: Response of Guatemalan Moth to Above- and Belowground Potato Volatiles. *Journal of Agricultural and Food Chemical, 57*(13), 5903-5909. doi:10.1021/jf803730h.

Karlsson, M. F., Birgersson, G., Witzgall, P., Lekfeldt, J. D. S., Punyasiri, P. A. N., & Bengtsson, M. (2013). Guatemalan potato moth *Tecia solanivora* distinguish odour profiles from qualitatively, different potatoes Solanum tuberosum L. *Phytochemistry, 85*, 72-81. doi:10.1016/j.phytochem.2012.09.015.

Karlsson, M. F., Proffit, M., & Birgersson, G. (2017). Host-plant location by the Guatemalan potato moth *Tecia solanivora* is assisted by floral volatiles. *Chemoecology, 27*(5), 187-198. doi:10.1007/s00049-017-0244-2.

Kennedy, J. S., & Marsh, D. (1974). Pheromone-regulated qnemotaxis in flying moths. *Science, 184*(4140), 999-1001.

Knight, A., Hilton, R., & Light, D. (2005). Monitoring codling moth (Lepidoptera: Tortricidae) in apple with blends of ethyl (E, Z)-2, 4-decadienoate and codlemone. *Environmental Entomology, 34*(3), 598-603. doi:10.1603/0046-225X-34.3.598.

Kohl, J., Huoviala, P., & Jefferis, G. S. (2015). Pheromone processing in *Drosophila*. *Current Opinion in Neurobiology, 34*, 149-157. doi:10.1016/j.conb.2015.06.009.

Kriticos, D. J., Potter, K. J. B., Alexander, N. S., Gibb, A. R., & Suckling, D. M. (2007). Using a pheromone lure survey to establish the native and potential distribution of an invasive Lepidopteran, *Uraba lugens*. *Journal of Applied Ecology, 44*(4), 853-863. doi:10.1111/j.1365-2664.2007.01331.x.

Kromann, S. H., Saveer, A. M., Binyameen, M., Bengtsson, M., Birgersson, G., Hansson, B. S., … Becher, P. G. (2015). Concurrent modulation of neuronal and behavioural olfactory responses to sex and host plant cues in a male moth. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences, 282*(1799), 20141884. doi:10.1098/rspb.2014.1884.

Kuratomi, N. H. (2001). *Evaluación del uso de la feromona sexual "Neoelegantol" en la atracción de machos de Neoleucinodes elegantalis (Guenée) (Lep. Pyralidae) y su impacto en la reductión del daño de la plaga, en cultivos de tomate Lycopersicon esculentum.* Palmira, Colombia: Universidad Nacional de Colombia.

Lance, D. R., Leonard, D. S., Mastro, V. C., & Walters, M. L. (2016). Mating disruption as a suppression tactic in programs targeting regulated lepidopteran pests in US. *Journal of Chemical Ecology, 42*(7), 590-605. doi10.1007/s10886-016-0732-9.

Larsson, M. C., Domingos, A. I., Jones, W. D., Chiappe, M. E., Amrein, H., & Vosshall, L. B. (2004). Or83b encodes a broadly expressed odorant receptor essential for *Drosophila* olfaction. *Neuron, 43*(5), 703-714. doi:10.1016/j.neuron.2004.08.019.

Leahy, J., Mendelsohn, M., Kough, J., Jones, R., & Berckes, N. (2014). *Biopesticide oversight and registration at the U.S. Environmental Protection Agency*. Recuperado de https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-08/documents/biopesticide-oversight-chapter_0.pdf.

Leal, W. S. (2013). Odorant reception in insects: roles of receptors, binding proteins, and degrading enzymes. *Annual Review of Entomology, 58*, 373-391. doi:10.1146/annurev-ento-120811-153635.

Leal, W. S. (2014). Deciphering the Rosetta Stone of insect chemical communication. *American Entomology, 60*(4), 223-230. doi:10.1093/ae/60.4.223.

Lietti, M. M. M., Botto, E., & Alzogaray, R. A. (2005). Insecticide resistance in Argentine populations of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Neotropical Entomology, 34*(1), 113-119. doi:10.1590/S1519-566X2005000100016.

Light, D. M., Knight, A. L., Henrick, C. A., Rajapaska, D., Lingren, B., Dickens, J. C., … Roitman, J. (2001). A pear-derived kairomone with pheromonal potency that attracts male and female codling moth, *Cydia pomonella* (L.). *Naturwissenschaften, 88*(8), 333-338.

Lin, H. H., Lai, J. S. Y., Chin, A. L., Chen, Y. C., & Chiang, A. S. (2007). A map of olfactory representation in the *Drosophila* mushroom body. *Cell, 128*(6), 1205-1217. doi:10.1016/j.cell.2007.03.006.

Linn, C. E., Campbell, M. G., & Roelofs, W. L. (1986). Male moth sensitivity to multicomponent pheromones: Critical role of female-released blend in determining the functional role of components and active space of the pheromone. *Journal of Chemical Ecology, 12*(3), 659-668. doi:10.1007/bf01012100.

Lobo-Pinheiro, A. (2005). *Efeito de densidades de armadilhas de feromonio sexual na coleta massal de Tuta absoluta (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) em tomateiros*. Lavras, Brasil: Universidade Federal de Lavras.

Lobos, E., Occhionero, M., Werenitzky, D., Fernández, J., González, L. M., Rodríguez, C., … Oehlschlager, A. C. (2013). Optimization of a trap for *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae) and trials to determine the effectiveness of mass trapping. *Neotropical Entomology, 42*(5), 448-457. doi:10.1007/s13744-013-0141-5.

Löhr, B., & Parra, P. P. (2014). *Manual de trampeo del picudo negro de las palmas, Rhynchophorus palmarum, en trampas de feromona adaptadas a la situación particular de pequeños productores de la costa del Pacífico Colombiano*.

Cali, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT).

Mariau, D. (1968). Méthodes de lutte contre le Rhynchophore. *Oléagineux*, *23*(7), 443-446.

McCormick, A. L., Karlsson, M., Ochoa, C. F., Proffit, M., Bengtsson, M., Zuluaga, M. V., … Witzgall, P. (2012). Mating Disruption of Guatemalan Potato Moth *Tecia solanivora* by Attractive and Non-Attractive Pheromone Blends. *Journal of Chemical Ecology*, *38*(1), 63-70. doi:10.1007/s10886-011-0051-0.

Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG). (2008). *Informe del sector agropecuario: Algodón 2007/2008*. Asunción, Paraguay: MAG.

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). (2011). *Agenda estratégica: Algodão 2010-2015*. Brasília, Brasil: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

Metcalf, R. L., & Metcalf, E. R. (1992). *Plant kairomones in insect ecology and control*. Nueva York, EE. UU.: Chapman and Hall.

Michereff-Filho, M., Vilela, E. F., Attygalle, A. B., Meinwald, J., Svatoš, A., & Jham, G. N. (2000a). Field Trapping of Tomato Moth *Tuta absoluta* with pheromone traps. *Journal of Chemical Ecology*, *26*(4), 875-881. doi:10.1023/A:1005452023847.

Michereff-Filho, M., Vilela, E. F., Jham, G. N., Attygalle, A., Svatos, A., & Meinwald, J. (2000b). Initial studies of mating disruption of the tomato moth, *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) using synthetic sex pheromone. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, *11*(6), 621-628. doi:10.1590/S0103-50532000000600011.

Miller, J. R., & Gut, L. J. (2015). Mating disruption for the 21st century: matching technology with mechanism. *Environmental Entomology*, *44*(3), 427-453. doi:10.1093/ee/nvv052.

Monserrat, A. (2009). *La polilla del tomate "Tuta absoluta" en la región de Murcia: Bases para su control. Serie Técnica*. Murcia, España: Consejería de Agua y Agricultura.

Morales, J., Muñoz, L., Rodríguez, D., & Cantor, F. (2014). Acción combinada de freromona sexual y de avispas *Apanteles gelechiidivoris para el control de Tuta absoluta* en cultivos de tomate bajo invernadero. *Acta Biológica Colombiana*, *19*(2), 175-184. doi:10.15446/abc.v19n2.38202.

Morin, J. P., Lucchini, F., Araujo, J. C. A. Ferreira, J. M. S., & Fraga, L. S. (1986). *Rhynchophorus palmarum* control using traps made from oil palm cubes. *Oléagineux*, *41*(2), 57-62.

Moura, J. I. L., Vilela, E. F., Brasil, G. H., & Cangucu, R. (2000). Mass trapping of *Rhynchophorus palmarum* using pheromone in coconut plantation in Brazil. En Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), *XXI International Congress of Entomology* (pp. 154). Foz do Iguassu, Brasil: Embrapa

Moya-Murillo, O. M., Aldana-De la Torre, R. C., & Bustillo-Pardey, A. E. (2015). Eficacia de trampas para capturar *Rhynchophorus palmarum* (Coleóptera: Dryophthoridae) en plantaciones de palma de aceite. *Revista Colombiana de Entomología*, *41*(1), 18-23.

Münch, D., & Galizia, C. G. (2016). DoOR 2.0-Comprehensive mapping of *Drosophila melanogaster odorant responses*. *Scientific Reports*, *6*, 21841. doi:10.1038/srep21841.

Namiki, S., Iwabuchi, S., & Kanzaki, R. (2008). Representation of a mixture of pheromone and host plant odor by antennal lobe projection neurons of the silkmoth *Bombyx mori*. *Journal of Comparative Physiology A-Neuroethology Sensory Neural and Behavioral Physiology*, *194*(5), 501-515. doi:10.1007/s00359-008-0325-3.

Nesbitt, B. F., Beevor, P. S., Cork, A., Hall, D. R., Murillo, R. M., & Leal, H. R. (1985). Identification of components of the female sex pheromone of the potato tuber moth, *Scrobipalpopsis solanivora*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, *38*(1), 81-85. doi:10.1111/j.1570-7458.1985.tb03501.x.

Núñez, P., Zignago, A., Paullier, J., & Núñez, S. (2009). Feromonas sexuales para el control de la polilla del tomate *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lep., Gelechiidae). *Agrociencia Uruguay*, *13*(1), 20-27.

Oehlschlager, A. (2005). Current status of trapping palm weevils and beetles. *The Planter*, *81*(947), 123-143.

Oehlschlager, A. C. (2016). Palm weevil pheromones – Discovery and use. *Journal of Chemical Ecology*, *42*(7), 617-630. doi:10.1007/s10886-016-0720-0.

Oehlschlager, A. C., Chinchilla, C. M., Castillo, G., & González, L. (2002). Control of red ring disease in oil palm by mass trapping *Rhynchophorus palmarum* (Colepotera: Curculionidae). *Florida Entomologist*, *85*(3), 507-513. doi:10.1653/0015-4040(2002)085[0507:CORRDB]2.0.CO;2.

Oehlschlager, A. C., Chinchilla, C. M., & González, L. M. (1993a). *Optimization of a pheromone-baited trap for the American palm weevil Rhynchophorus palmarum (L)*. Ponencia presentada en Palm Oil Research Institute of Malaysia. International Palm Oil Congress, PORIM, Kuala Lumpur, Malaysia.

Oehlschlager, A. C., Chinchilla, C. M., Jiron, L. F., Morgan, B., & Mexzon, R. G. (1993b). Development of an effective pheromone based trapping system for the American palm weevil, *Rhynchophorus palmarum*, in oil palm plantations. *Journal of Economic Entomology*, *86*(5), 1381-1392. doi:10.1093/jee/86.5.1381.

Oehlschlager, A. C., Pierce, H. D., Morgan, B., Wimalaratne, P. D. C., Slessor, K. N., King, G. G. S., … Mexzan, R. G. (1992). Chirality and field activity of Rhynchophorol, the aggregation pheromone of the American palm weevil. *Naturwissenschaften*, *79*(3), 134-135. doi:10.1007/BF01131543.

Party, V., Hanot, C., Busser, D. S., Rochat, D., & Renou, M. (2013). Changes in odor background affect the locomotory response to pheromone in moths. *PLoS One*, *8*, e52897. doi:10.1371/journal.pone.0052897.

Pascual, A., & Préat, T. (2001). Localization of long-term memory within the *Drosophila* mushroom body. *Science*, *294*(5544), 1115-1117. doi:10.1126/science.1064200.

Peña, E. A., Reyes, R. & Bastidas, S. (1996). Efectividad de una feromona de agregación en dos tipos de trampas para la captura del insecto *Rhynchophorus palmarum* en la zona de Tumaco. En Sociedad Colombiana de Entomología (Socolen) (Ed.), *Resúmenes XXIII Congreso Socolen* (p. 83). Bogotá, Colombia: Socolen.

Pérez, C. (2017). Alternativas de manejo ecológico de insectos en el cultivo del arroz en Colombia. En Sociedad Colombiana de Entomología (Socolen) (Ed.), *XLIV Congreso Socolen* (pp. 258-270) Bogotá, Colombia: Socolen.

Polack, L. A., García-Sampedro, C., & Saini, E. D. (2002). *Guía de monitoreo y reconocimiento de plagas y enemigos naturales de tomate y pimiento*. San Pedro, Argentina: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA).

Pregitzer, P., Schubert, M., Breer, H., Hansson, B.S., Sachse, S., & Krieger, J. (2012). Plant odorants interfere with detection of sex pheromone signals by male *Heliothis virescens*. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, *6*, 42. doi:10.3389/fncel.2012.00042.

Proffit, M., Khallaf, M. A., Carrasco, D., Larsson, M. C., & Anderson, P. (2015). 'Do you remember the first time?' Host plant preference in a moth is modulated by experiences during larval feeding and adult mating. *Ecology Letter*, *18*(4), 365-374. doi:10.1111/ele.12419.

Regnier, F. E. (1971). Semiochemicals—Structure and Function. *Biology of Reproduction*, *4*(3), 309-326. doi:10.1093/biolreprod/4.3.309.

Rochat, D., González, A. V., Mariau, D., Villanueva, A. G., & Zagatti, P. (1991). Evidence for male-produced aggregation pheromone in American palm weevil, *Rhynchophorus palmarum* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). Journal of Chemical Ecology, *17*(6), 1221-1230. doi:10.1007/bf01402945.

Rochat, D., Malosse, C., Lettere, M., Ducrot, P. H., Zagatti, P., Renou, M., & Descoins, C. (1991). Male-produced aggregation pheromone of the american palm weevil, *Rhynchophorus palmarum* (L.) (Coleoptera, Curculionidae): Collection, identification, electrophysiogical activity, and laboratory bioassay. *Journal of Chemical Ecology*, *17*(11), 2127-2141. doi:10.1007/bf00987996.

Rochat, D., Ramirez-Lucas, P., Malosse, C., Aldana., R., Kakul, T., & Morin, J. P. (2000). Role of solid-phase microextraction in the identification of highly volatile pheromones of two Rhinoceros beetles *Scapanes australis* and *Strategus aloeus* (Coleoptera, Scarabaeidae, Dynastinae).*885*(1-2), 433-444.

Romero-Frías, A. (2017). Semioquímicos de picudos (Coleoptera: Curculionidae): Un aporte al desarrollo de la fruticultura en Colombia. En Sociedad Colombiana de Entomología (Socolen) (Ed.), *XLIV Congreso Socolen* (pp. 226-231). Bogotá, Colombia: Socolen.

Romero-Frías, A., Murata, Y., Simões Bento, J. M., & Osorio, C. (2016). (1R,2S,6R)-Papayanal: a new male-specific volatile compound released by the guava weevil *Conotrachelus psidii* (Coleoptera: Curculionidae). *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, *80*(5), 848-855. doi:10.1080/09168451.2015.1136877.

Romero-Frías, A., Simões-Bento, J. M., & Osorio, C. (2015). Chemical signaling between guava (*Psidium guajava* L., Myrtaceae) and the guava weevil (*Conotrachelus psidii* Marshall). *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, *11*(1), 102-113.

Rospars, J. P., & Hildebrand, J. G. (2000). Sexually dimorphic and isomorphic glomeruli in the antennal lobes of the sphinx moth *Manduca sexta*. *Chemical Senses*, *25*(2), 119-129. doi:10.1093/chemse/25.2.119.

Saveer, A. M., Becher, P. G., Birgersson, G. R., Hansson, B. S., Witzgall, P., & Bengtsson, M. (2014). Mate recognition and reproductive isolation in the sibling species *Spodoptera littoralis* and *Spodoptera litura*. *Frontiers in Ecology and Evolution*, *2*, 18. doi:10.3389/fevo.2014.00018.

Saveer, A. M., Kromann, S. H., Birgersson, G., Bengtsson, M., Lindblom, T., Balkenius, A., … Ignell, R. (2012). Floral to green: Mating switches moth olfactory coding and preference. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *279*(1737), 2314-2322. doi:10.1098/rspb.2011.2710.

Schneider, D. (1969). Insect olfaction: deciphering system for chemical messages. *Science*, *163*(3871), 1031-1037.

Schneider, D., & Kaissling, K. E. (1957). Der bau der antenne des Seidenspinners *Bombyx mori* L. II. Sensillen, cuticulare bildungen und innerer bau. *Zoologische Jahrbücher/Abteilung für Anatomie und Ontogenie der Tiere*, *76*, 224-250.

Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria de Argentina (Senasa Argentina). (2015). *Programa*

de Prevención y Erradicación del Picudo del Algodonero. Buenos Aires, Argentina: Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (Senasa).

Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria de Perú (Senasa Perú), & Servicio Nacional de Sanidad Agropecuaria e Inocuidad Alimentaria de Bolivia (Senasag). (2001). *Plan de trabajo para la exportación de fibra de algodón sin cardar ni peinar, de Santa Cruz-Bolivia, al Perú*. Lima: Perú: Senasa Perú y Senasag.

Smith, R. W. (2002). *Proceedings of the seminar on research and development of coconut in Latin America and the Caribbean*. Kingston, Jamaica: Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA).

Stadler, T., & Buteler, M. (2007). Migración y dispersión de *Anthonomus grandis* (Coleoptera: Curculionidae) en América del Sur. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina, 66*(3-4), 205-217.

Suárez-Gómez, H., & Castro-Ortega, L. A. (1990). Mass trapping of *Anthonomus grandis* Boheman with grandlure. *Revista Colombiana de Entomología, 16*(2), 62-68. doi:10.1093/jee/99.4.1245.

Symonds, M. R. E., & Gitau-Clarke, C. W. (2016). The vvolution of aggregation pheromone diversity in bark beetles. *Advances in Insect Physiology, 50*, 195-234. doi:10.1016/bs.aiip.2015.12.003.

Tinzaara, W., Dicke, M., Van Huis, A., Van Loon, J. J., & Gold, C. S. (2003). Different bioassays for investigating orientation responses of the banana weevil, *Cosmopolites sordidus*, show additive effects of host plant volatiles and a synthetic male-produced aggregation pheromone. *Entomologia Experimentalis et Applicata, 106*(3), 169-175. doi:10.1046/j.1570-7458.2003.00025.x.

Tinzaara, W., Gold, C. S., Dicke, M., Van Huis, A., & Ragama, P. E. (2007). Host plant odours enhance the responses of adult banana weevil to the synthetic aggregation pheromone Cosmolure+®. *International Journal of Pest Management, 53*(2), 127-137. doi:10.1080/09670870701191963.

Trona, F., Casado, D., Coracini, M., Bengtsson, M., Ioriatti, C., & Witzgall, P. (2010). Flight tunnel response of codling moth *Cydia pomonella* to blends of codlemone, codlemone antagonists and pear ester. *Physiological Entomology, 35*(3), 249-254. doi:10.1111/j.1365-3032.2010.00737.x.

Unbehend, M., Hanniger, S., Meagher, R. L., Heckel, D. G., & Groot, A. T. (2013). Pheromonal divergence between two strains of *Spodoptera frugiperda*. *Journal of Chemical Ecology, 39*(3), 364-376. doi:10.1007/s10886-013-0263-6.

Vander Meer, R. K., Breed, M. D., Espelie, K. E., & Winston, M. L. (1998). *Pheromone communication in social insects*. Boulder, EE. UU.: Westviw Press.

Velásquez-Vélez, M. I., Saldamando-Benjumea, C. I., & Ríos-Diez, J. D. (2011). Reproductive isolation between two populations of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera:

Noctuidae) collected in corn and rice fields from central Colombia. *Annals of the Entomological Society of America, 104*(4), 826-833. doi:10.1603/an10164.

Vergara, R. (2015). Retos y posibilidades del manejo etológico de plagas en la producción agrícola (Parte I). *Revista Metroflor, 68*, 40-61.

Vilela, E., & Della Lucia, T. M. C. (2001). *Feromonios de insetos: biología, química e aplicacao* (2.ª ed). Riberao Preto, Brasil: Holos Editora.

Vosshall, L. B. (2008). Scent of a fly. *Neuron, 59*(5), 685-689. doi:10.1016/j.neuron.2008.08.014.

Vosshall, L. B., Amrein, H., Morozov, P. S., Rzhetsky, A., & Axel, R. (1999). A spatial map of olfactory receptor expression in the *Drosophila* antenna. *Cell, 96*(5), 725-736. doi:10.1016/s0092-8674(00)80582-6.

Welter, S. C., Pickel, C., Millar, J. G., Cave, F., Van Steenwyk, R. A., & Dunley, J. (2005). Pheromone mating disruption offers selective management options for key pests. *California Agriculture, 59*(1), 16-22. doi:10.3733/ca.v059n01p16.

Wilches, D. M., Borrero-Echeverry, F., Cotes-Prado, A. M., & Aragón, S. (2011). Mating disruption in Tecia solanivora (Lepidoptera: Gelechiidae) by using pheromone dispensers in stored potatoes conditions. En Sociedad Colombiana de Entomología (Socolen) (Ed.), *xxxviii Congreso de Socolen* (pp. 102). Manizales, Colombia: Socolen.

Witzgall, P., Kirsch, P., & Cork, A. (2010). Sex pheromones and their impact on pest management. *Journal of Chemical Ecology, 36*(1), 80-100. doi:10.1007/s10886-009-9737-y.

Witzgall, P., Lindblom, T., Bengtsson, M., & Toth, M. (2004). *The Pherolist*. Recuperado de http://www.pherolist.slu.se/pherolist.php.

Wood, D. L., Browne, L. E., Silverstein, R. M., & Rodin, J. O. (1966). Sex pheromones of bark beetles—I. Mass production, bio-assay, source, and isolation of the sex pheromone of *Ips confusus* (LeC.). *Journal of Insect Physiology, 12*(5), 523-536. doi:10.1016/0022-1910(66)90091-6.

Yaksi, E., & Wilson, R. I. (2010). Electrical coupling between olfactory glomeruli. *Neuron, 67*(6), 1034-1047. doi:10.1016/j.neuron.2010.08.041.

Yew, J. Y., & Chung, H. (2015). Insect pheromones: An overview of function, form, and discovery. *Progress in Lipid Research, 59*, 88-105. doi:10.1016/j.plipres.2015.06.001.

Yucra-Equize, E. (2002). *Densidad de trampas de feromonas para la captura de la polilla del tomate, Tuta absoluta*, Meyrick (tesis de grado). Universidad Autonoma Gabriel Rene Moreno, Saipinia, Bolivia.

Zhang, Q. H., & Schlyter, F. (2003). Redundancy, synergism, and active inhibitory range of non-host volatiles in reducing pheromone attraction in European spruce bark beetle Ips typographus. *Oikos, 101*(2), 299-310. doi:10.1034/j.1600-0706.2003.111595.x.

Capítulo 9

Uso de depredadores como agentes de control biológico para insectos plaga

Chapter 9

Use of predators as biological control agents of insect pests

Takumasa Kondo,[1] Diego F. Rincón,[1] Ricardo Pérez-Álvarez,[2] Aymer Andrés Vásquez Ordóñez,[3] Guillermo González F.[4]

[1] Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA)

[2] Departament of Entomology. Cornell University

[3] Sección de Entomología. Universidad del Valle, Ciudad Universitaria Meléndez

[4] La Reina, Santiago de Chile

Contenido

Introducción 458

Contexto histórico 458

Casos exitosos 461

- Control natural mediante depredadores en cultivos de cítricos 461
- Control biológico clásico fortuito de la cochinilla acanalada de Colombia *Crypticerya multicicatrices* Kondo & Unruh (Hemiptera: Monophlebidae) 463
- Control biológico del ácaro verde de la yuca *Mononychellus tanajoa* en África 468

Beneficios y dificultades del uso de depredadores para el control biológico 471

- Depredadores para el control biológico en invernaderos 471
- Depredadores para el control biológico en libre exposición 474

Conclusiones y perspectivas 477

Agradecimientos 477

Referencias 478

Resumen

El presente capítulo compila el conocimiento actual sobre el uso de depredadores para el control biológico de insectos plaga en Colombia. Inicialmente se presenta un resumen del contexto histórico sobre el uso de diferentes especies de artrópodos con este fin, en especial, ácaros Phytoseiidae e insectos depredadores de varios órdenes (Coleoptera, Diptera, Hemiptera y Neuroptera). Se describen tres casos específicos de control biológico con depredadores en campo en Colombia: 1) en el cultivo de cítricos; 2) el caso de la cochinilla acanalada de Colombia —*Crypticerya multicicatrices* Kondo & Unruh (Hemiptera: Monophlebidae)— en la isla de San Andrés; y 3) el del ácaro verde de la yuca —*Mononychellus tanajoa* (Bondar) (Acari: Tetranychidae)—. Además, se discuten los beneficios y dificultades del uso de depredadores para control biológico en condiciones de invernadero y de campo abierto, a la luz de la teoría ecológica. Finalmente, se abordan las estrategias de control biológico aumentativo y control biológico por conservación.

Palabras clave

Ácaro verde de la yuca, aumentación, cochinilla acanalada de Colombia, control biológico clásico, control biológico de conservación

Abstract

This chapter compiles current knowledge on the use of predators for the biological control of insect pests in Colombia. Initially, a summary of the historical context on the use of different species of arthropods for this purpose is presented, especially phytoseiid mites and predatory insects of various orders (Coleoptera, Diptera, Hemiptera and Neuroptera). Three specific cases of biological control with predators in the field in Colombia are described: 1) in the cultivation of citrus, 2) the case of the Colombian fluted scale —*Crypticerya multicicatrices* Kondo & Unruh (Hemiptera: Monophlebidae)— on the island of San Andrés and 3) the cassava green mite —*Mononychellus tanajoa* (Bondar) (Acari: Tetranychidae)—. In addition, the benefits and difficulties of using predators for biological control under greenhouse and open field conditions are discussed, in the light of ecological theory. Finally, augmentative biological control and conservation biological control strategies are addressed.

Keywords

Augmentation, cassava green mite, classical biological control, Colombian fluted scale, conservation biological control

Introducción

Un depredador es definido como un organismo que ataca, mata y consume varios o muchos otros individuos durante su tiempo de vida (Flint, Dreistadt, & Clark, 1998). Los depredadores juegan un papel clave en la estabilidad de los ecosistemas y, a diferencia de los parasitoides, la mayor parte puede alimentarse de una amplia diversidad de presas. Una porción importante de la teoría ecológica sobre la regulación natural de poblaciones de herbívoros y la dinámica de comunidades se ha elaborado a partir de la interacción entre depredadores y presas como modelo de estudio (Abrams, 2012; Bacaër, 2011; Holling, 1961).

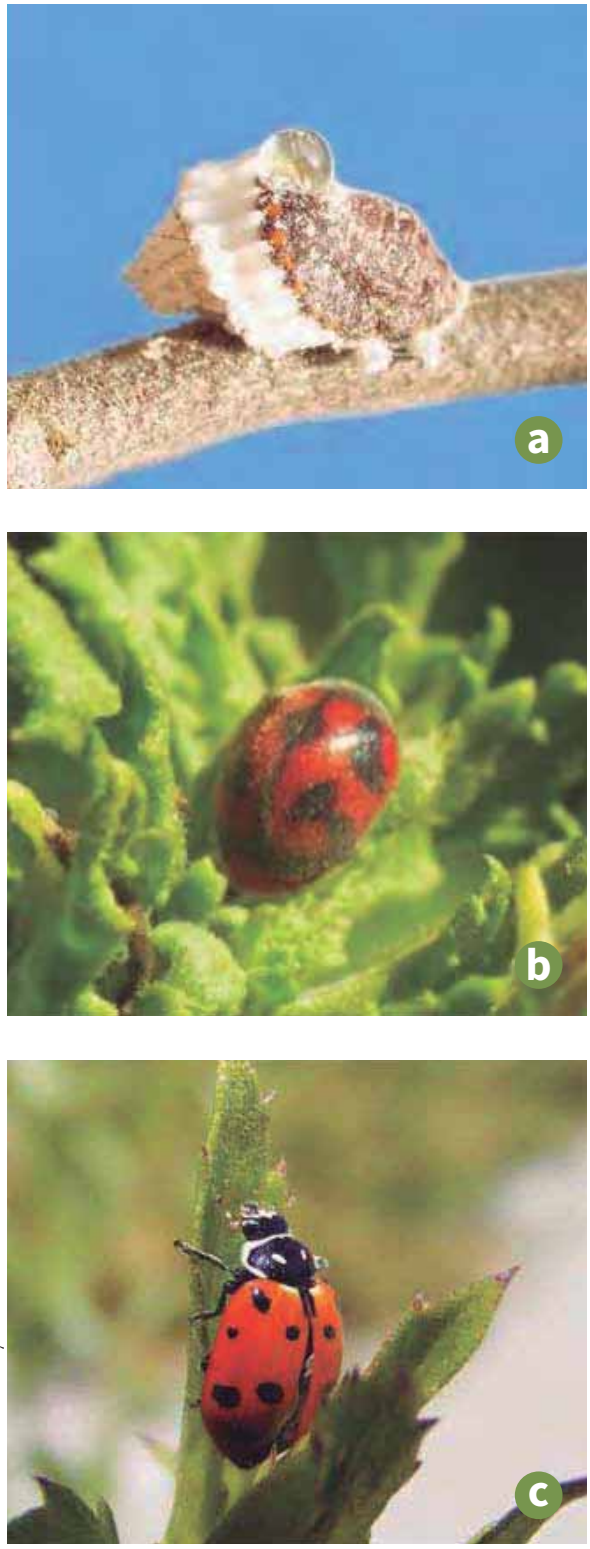
De hecho, los depredadores marcaron la historia del control biológico de plagas, que tiene sus orígenes en el exitoso programa para el control de la cochinilla acanalada *Icerya purchasi* (Maskell) (Hemiptera: Monophlebidae) (figura 9.1a) en cultivos de cítricos en California, EE. UU., entre 1888 y 1889 (Le Caltagirone & Doutt, 1989). Dicho programa partía de la idea de que un insecto plaga introducido (en este caso, desde Australia) carecía de enemigos naturales que regularan sus poblaciones por debajo de los niveles económicos en el nuevo hábitat. De acuerdo con esto y con la hipótesis de que el reencuentro entre *I. purchasi* y su depredador más importante restablecería la regulación natural de la plaga, se introdujeron 514 individuos de *Rodolia cardinalis* (Mulsant) (Coleoptera: Coccinellidae) (figura 9.1b) en dichos cultivos, a finales de 1888. Para 1890, todas las poblaciones de *I. purchasi* estaban por debajo de los niveles económicos, lo cual se convirtió en la primera y una de las más impresionantes demostraciones de la aplicabilidad del control biológico y de la ecología como ciencia (Le Caltagirone & Doutt, 1989).

Sin embargo, la historia del control biológico clásico (o del control biológico por aumentación de población de enemigos naturales) ha estado dominada por el uso de parasitoides y microorganismos entomopatógenos más que por el uso de depredadores (Van Lenteren, Bolckmans, Köhl, Ravensberg, & Urbaneja, 2018). Al parecer, la característica más apreciada de los depredadores es la flexibilidad de su dieta, que facilita su establecimiento y evita costosas reintroducciones (Stiling & Cornelissen, 2005). Sin embargo, el establecimiento no siempre es el objetivo principal de los programas de control biológico de plagas, y la flexibilidad en la dieta puede reducir las tasas de consumo sobre las especies blanco.

En este capítulo se presenta una revisión detallada del papel de los depredadores en programas de control biológico, con énfasis en estudios de caso en Colombia. Se inicia con una descripción de la historia general de este recurso. Luego, se presentan casos que ilustran el proceso de investigación que culmina con el uso exitoso de depredadores en programas de manejo de plagas y un caso de control biológico clásico fortuito que ocurrió en la isla de San Andrés, en el Caribe colombiano, mediante el coccinélido *Anovia punica* Gordon (Coleoptera: Coccinellidae). Al final, se discuten las principales dificultades del uso de depredadores para el control de plagas en campo y en invernadero, a la luz de la teoría ecológica.

Contexto histórico

El uso intencionado de depredadores en programas de control biológico (es decir, control biológico clásico o por aumentación) de plagas en campo abierto e invernadero en Colombia es bastante incipiente (Bueno & Van Lenteren, 2002). Esta tendencia se repite en todo el mundo, pero especialmente en el continente americano, donde la mayor parte de los programas de control biológico por aumentación se basan en parasitoides de huevos y hongos entomopatógenos (Van Lenteren, 2012; Van Lenteren et al., 2018). En general, Europa es el continente donde se aprecia el mayor uso intencionado de depredadores para el control de plagas en cultivos, en su gran mayoría, coccinélidos para el control de hemípteros en cultivos



Fotos: Takumasa Kondo y Guillermo González

Figura 9.1. Control biológico. a. La cochinilla acanalada *Icerya purchasi* (Maskell) (Hemiptera: Monophlebidae); b. La mariquita vedalia *Rodolia cardinalis* (Mulsant) (Coleoptera: Coccinellidae); c. *Hippodamia convergens* Guérin-Méneville (Coleoptera: Coccinellidae).

al aire libre y ácaros depredadores para el control de ácaros plaga en invernaderos (Stiling & Cornelissen, 2005; Van Lenteren, 2012). Sin duda, el papel de los depredadores es más relevante en programas de control de plagas por conservación que en aquellos que involucren la cría y la liberación intencionada de especies puntuales. A continuación, se relacionan algunos ejemplos documentados de depredadores que históricamente se han usado o se usan en programas de control biológico por inoculación o aumentación en Colombia.

Hay muy pocos estudios sobre control biológico de plagas mediante depredadores en Colombia. Uno de los primeros registros se refiere a la introducción de un coccinélido comúnmente conocido como la mariquita vedalia, *Rodolia cardinalis* (Coleoptera: Coccinellidae) (figura 9.1b). La mariquita vedalia fue introducida en Colombia para controlar la cochinilla acanalada de los cítricos *Icerya* sp. (Hemiptera: Monophlebidae) (figura 9.1a), una plaga invasora de origen australiano. En 1948, durante la celebración de la IX Conferencia Panamericana realizada en Bogotá, se introdujeron unos árboles de acacia para embellecer las avenidas de la ciudad capital; sin embargo, las plantas importadas estaban infestadas con un insecto plaga, la cochinilla acanalada *Icerya* sp., la cual ocasionó brotes poblacionales de una gran magnitud (Valenzuela, 1993). Varios entomólogos se involucraron en el control de esta plaga, entre ellos, Luis María Murillo y sus colaboradores, quienes implementaron un exitoso programa de control biológico clásico mediante la importación de *R. cardinalis* (Valenzuela, 1993).

Otro coccinélido, *Hippodamia convergens* Guérin-Méneville (Coleoptera: Coccinellidae) (figura 9.1c), fue importado desde el Perú en los años sesenta para el control del pulgón *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) en cultivos de algodón (Smith & Bellotti, 1996). Existe un estudio de revisión para los años 1995-2003, realizado por Bellotti et al. (2005), sobre el control biológico en el neotrópico con énfasis en los numerosos parasitoides y entomopatógenos (incluyendo los baculovirus) que se han utilizado en esa región, especialmente, para el control de plagas de cultivos de algodón, café y yuca. Entre los controladores biológicos, Bellotti et al. (2005) listaron varios depredadores del ácaro verde de la yuca *Mononychellus tanajoa* (Bondar) (Acari: Tetranychidae), como el

Oligota minuta Cameron (Coleoptera: Staphylinidae), varias especies no determinadas de ácaros depredadores (Acari: Phytoseiidae), la mariquita *Stethorus* sp. (Coleoptera: Coccinellidae) y *Chrysopa* sp. (Neuroptera: Chrysopidae), que ejercen un control natural en cultivos de yuca (Bellotti et al., 2005).

En Colombia, el uso de depredadores para el control de plagas se ha llevado a cabo con relativa frecuencia y, a veces, de forma intensiva en invernaderos destinados a la producción de flores, hortalizas y plantas ornamentales, entre otros. El crisópido *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae) se vende actualmente en el país para el control de los áfidos como el *Aphis gossypii* Glover y el *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae), así como para el control de varias especies de trips (Thysanoptera) en cultivos de flores, plantas ornamentales de invernadero y hortalizas como el pimentón (*Capsicum* spp.) (Instituto Colombiano Agropecuario [ICA], 2016).

Por otro lado, para el control de varias especies de áfidos (Hemiptera: Aphididae) en el cultivo de flores y plantas de invernadero, se ha utilizado el mosco depredador *Aphidoletes aphidimyza* (Rondani) (Diptera: Cecidomyiidae), insecto que prefiere ambientes sombríos y húmedos (Nicholls, Parrella, & Altieri, 1998). La larva de *A. aphidimyza* inyecta a su presa una toxina en las articulaciones de las patas que la inmoviliza para luego alimentarse succionando su contenido (Harris, 1973). En cuanto al control de ácaros fitófagos en cultivos de flores y plantas de invernadero, se han utilizado exitosamente varios ácaros depredadores con buenos resultados. Por ejemplo, para el control de la arañita roja *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) se ha reportado el *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot (Acari: Phytoseiidae); para el control del ácaro del ciclamen *Phytonemus pallidus* (Banks) (Acari: Tarsonemidae) se ha reportado el *Neoseiulus cucumeris* (Oudemans) (Acari: Phytoseiidae), y para el control del ácaro blanco *Polyphagotarsonemus latus* (Banks) (Acari: Tarsonemidae) se ha reportado el *Neoseiulus barkeri* Hughes (Acari: Phytoseiidae) (Andrade, Briceño, Muñoz, & Jiménez, 1989; Nicholls et al., 1998).

El trips occidental de las flores, *Frankliniella occidentalis* Pergande (Thysanoptera: Thripidae), se puede controlar mediante el uso de cuatro especies de ácaros depredadores: *Hypoaspis miles* Berlese (Mesostigmata: Laelapidae), el *Iphiseius degenerans* (Berlese), el *Neoseiulus cucumeris* (Oudemans) y el *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot (Acari: Phytoseiidae) en cultivos de flores y en plantas de invernadero (Andrade et al., 1989; Nicholls et al., 1998). En Colombia, en ambientes de invernadero, también se han utilizado los llamados chinches piratas, que son hemípteros depredadores que succionan la hemolinfa de sus presas utilizando su estilete para penetrar la cutícula de insectos blandos, como el trips occidental de las flores *F. occidentalis*, el *Orius insidiosus* (Say), el *O. laevigatus* (Fieber) y el *O. tristicolor* (White) (Hemiptera: Anthocoridae) (Andrade et al., 1989; Nicholls et al., 1998).

Para el control de la cochinilla acanalada de Colombia, *Crypticerya multicicatrices* Kondo & Unruh (Hemiptera: Monophlebidae), plaga de numerosas especies frutales, árboles leguminosos urbanos y palmáceas, entre otros, se ha reportado la mariquita *Anovia punica* Gordon (Coleoptera: Coccinellidae) como un buen controlador natural. De hecho, *A. punica* fue de utilidad en la isla de San Andrés para controlar poblaciones de *C. multicicatrices* mediante un exitoso control biológico clásico fortuito (Kondo, Gullan, & González, 2014; Kondo, Ramos-Portilla, Peronti, & Gullan 2016b) (para más detalles ver el apartado correspondiente de este capítulo, p. 463).

En el área de la salud, se ha reportado el uso del crustáceo *Mesocyclops longisetus* (Thiébaud) (Crustacea: Cyclopoida: Cyclopidae) como depredador de larvas del mosquito *Aedes aegypti* (Linnaeus) (Diptera: Culicidae). El crustáceo fue criado y liberado en alcantarillas y depósitos de agua en la ciudad de Cali, departamento del Valle del Cauca (Colombia), en un estudio realizado entre 1999 y 2000, con resultados promisorios (Suárez-Rubio & Suárez, 2004).

Para el control del chinche de encaje, *Leptopharsa gibbicarina* Froesch. (Hemiptera: Tingidae), que ataca severamente las hojas del cultivo de palma de aceite en Colombia, se han utilizado con buenos resultados hormigas del género *Crematogaster* (Hymenoptera: Formicidae) (Aldana, Calvache, & Méndez, 1995; Aldana, Aldana, Calvache, & Arias, 1998; Aldana, Calvache, & Arias, 2000; Aldana, Aldana, & Calvache, 2002; Barrios-Trilleras, Cuchimba-Triana, & Bustillo-Pardey, 2015; Guzmán, Calvache, Aldana, & Méndez, 1997; Montañez, Calvache, Luque, & Méndez, 1997).

En cultivos de pinos comerciales (*Pinus* spp.), se ha utilizado en Colombia una especie de basurita o crisópido, *Ceraeochrysa* sp. (Neuroptera: Chrysopidae), para controlar una importante plaga invasora, el adélgido *Pineus boerneri* Annand (Hemiptera: Adelgidae) (Rodas et al., 2014). En cultivos de caña de azúcar, para el control del áfido *Sipha flava* Forbes (Hemiptera: Aphididae) se pueden encontrar de forma comercial los crisópidos *Chrysoperla carnea* y *C. rufilabris* (Neuroptera: Chrysopidae) (ICA, 2016), los cuales se liberan en el campo en los ingenios azucareros.

Casos exitosos

Control natural mediante depredadores en cultivos de cítricos

En Colombia existen unas 160.000 hectáreas plantadas de cítricos y, en el 2013, se cosecharon aproximadamente 1.682.000 toneladas de fruto fresco (Departamento Administrativo Nacional de Estadística [DANE], 2016). En un estudio realizado en el municipio de Caicedonia (Valle del Cauca) en naranja Valencia, se evaluó el control del ácaro blanco *Phyllocoptruta oleivora* (Ashmead) mediante la liberación de cuatro especies de ácaros depredadores nativos: *Amblyseius herbicolus* (Chant), *Iphiseiodes zuluagai* Denmark & Muma, *Neoseiulus anonymous* (Chant & Baker) y *N. californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae), en dosis de 500 individuos/árbol, junto con liberaciones del crisópido *C. carnea* en dosis de 100 larvas/árbol. Tal combinación de depredadores resultó más efectiva que la aplicación de abamectinas (Imbachi et al., 2012).

Como plagas de los cítricos en Colombia se destaca la orthezia de los cítricos *Praelongorthezia praelonga* (Douglas) (Hemiptera: Ortheziidae) (Kondo, Peronti, Kozár, & Szita, 2012b; León & Kondo, 2017), un insecto sumamente polífago que puede causar infestaciones severas asociadas con fumagina y muerte de ramas. Prefiere alimentarse en el envés de las hojas, pero puede hacerlo en ambas superficies, ramas, flores y troncos (Kondo et al., 2012b; León & Kondo, 2017). La orthezia de los cítricos está asociada a la defoliación de los árboles, el retardo de crecimiento y la baja producción (León & Kondo, 2017). La fumagina, que generalmente es causada por el hongo *Capnodium* sp., se desarrolla en la miel de rocío excretada por los insectos y causa una reducción en la tasa fotosintética de la planta (Kondo et al., 2012b; Kondo, Peronti, Kozár, & Szita, 2013).

En el departamento del Valle del Cauca, el crotón ornamental y la buganvilia son los reservorios más importantes de dicho insecto, que se convierte a menudo en una permanente fuente de infestación (Kondo et al., 2012b). Las altas infestaciones de *P. praelonga* en los cítricos están asociadas frecuentemente con la falta de enemigos naturales como consecuencia directa del uso de plaguicidas. Según Kondo et al. (2012b), la práctica del control químico de *P. praelonga* no solo es ineficaz, sino que a menudo destruye el equilibrio natural del ecosistema, causa la aparición de nuevas plagas de insectos y el resurgimiento de otros.

Según Velásquez, Núñez y García (1992), la orthezia de los cítricos en Colombia es controlada por varios enemigos naturales, entre ellos, un coccinélido (Coleoptera: Coccinellidae: Hyperaspidinae), dos especies de chinches depredadores —*Ambracius daufouri* Stål y *Proba vittiscutis* Carvalho (Hemiptera: Miridae)—, una crisopa —*Chrysopa* sp. (Neuroptera: Chrysopidae)— y una mosca depredadora (Diptera: Drosophilidae) cuyas larvas se alimentan de los huevos del insecto. Otros depredadores, como *Hyperaspis* sp. (Coccinellidae: Hyperaspidinae) y *Monalocoris* sp. (Hemiptera: Miridae), entre otros, también ejercen un control de *P. praelonga* de forma natural (León & Kondo, 2017). A nivel mundial existe una larga lista de enemigos naturales reportados para *P. praelonga*, entre ellos, once especies de coccinélidos, ocho especies de dípteros, cinco especies de hemípteros, dos himenópteros y cuatro neurópteros (Kondo et al., 2013).

En Colombia se han reportado en cítricos 34 especies de insectos escama distribuidas en seis familias: Diaspididae, Coccidae, Margarodidae, Monophlebidae, Ortheziidae y Pseudococcidae (Kondo et al., 2012, 2013; Ramos-Portilla & Caballero, 2017).

Fotos: Takumasa Kondo

Figura 9.2. Coccinélidos en cultivos de cítricos. a. Larva de *Cheilomenes sexmaculata* (Fabricius); b. Adulto de *C. sexmaculata*; c. *Harmonia axyridis* (Pallas).

Otra plaga común de los cítricos es el piojo blanco *Unaspis citri* (Comstock) (Hemiptera: Diaspididae). De las 34 especies de insectos escama reportadas en cítricos, 20 son diaspídidos (Diaspididae) (Ramos-Portilla & Caballero, 2017), de los cuales probablemente *U. citri* es uno de los más importantes. *Unaspis citri* se localiza en las ramas, hojas, troncos y frutos de la planta hospedera. Cuando las poblaciones son muy altas en los troncos, la corteza de estos se agrieta, especialmente, en árboles jóvenes, lo cual afecta su crecimiento (León & Kondo, 2017; Vélez, 1997). Los parasitoides frecuentemente mantienen las poblaciones de este insecto bajo control, junto con varias especies de depredadores, dentro de las cuales se incluyen *Diomus* sp., *Pentilia castanea* Mulsant, *Cryptolaemus* sp., *Scymnus* sp. y *Cryptognatha* spp. (León & Kondo, 2017).

De otra parte, el psílido asiático de los cítricos, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae), es considerado como un insecto plaga invasor en Colombia. Los daños directos causados por el psílido resultan por la remoción de grandes cantidades del floema de la planta hospedera. Tales daños adquieren mayor importancia por ser el vector de la bacteria causante de la enfermedad devastadora de los cítricos, el *huanglongbing* o HLB (Mead & Fasulo, 2010). Esta enfermedad ya se encuentra en seis departamentos del norte del país, donde se han erradicado árboles infectados y se ha controlado el psílido mediante aplicaciones de insecticidas (ICA, 2015).

En Colombia se han reportado 17 especies de enemigos naturales de la clase Insecta para el control del psílido asiático de los cítricos, distribuidas en seis familias y en cinco órdenes (Kondo et al., 2017). Aparte del ectoparasitoide *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae) y el endoparasitoide *Diaphorencyrtus* sp. (Hymenoptera: Encyrtidae), todos los demás enemigos naturales de *D. citri* son depredadores generalistas: nueve especies de coccinélidos, *Azya orbigera* Mulsant, *Cheilomenes sexmaculata* (Fabricius) (figuras 9.2a y b), *Chilocorus* cf. *cacti* (L.), *Curinus colombianus* Chapin, *Cycloneda sanguinea* (L.), *Harmonia axyridis* (Pallas) (figura 9.2c), *Hippodamia convergens* Guérin-Méneville, *Olla v-nigrum* (Mulsant) y *Scymnus rubicundus* Erichson (Coleoptera: Coccinellidae); dos especies de moscas depredadoras, *Allograpta* (Fazia) CR-2 aff. *hians* (Enderlein) y *Leucopodella* sp. (Diptera: Syrphidae);

un chinche asesino, *Zelus* cf. *nugax* Stål (Hemiptera: Reduviidae); una avispa, *Polybia* sp. (Hymenoptera: Vespidae); y dos especies de crisópidos, *Ceraeochrysa* sp. y *Ceraeochrysa* cf. *claveri* (Navás) (Neuroptera: Chrysopidae) (Kondo, González, & Guzmán-Sarmiento, 2017).

Entre las especies más importantes de depredadores de *D. citri*, se han reportado varias de la familia Coccinellidae: *Olla v-nigrum*, *C. sanguinea*, *Chilocorus cacti*, *Axion* sp., *Arawana* sp., *Azya orbigera* y *Brachiacantha decora* (Casey) (González, Gómez Pacheco, Hernández Espinosa, & Rodríguez Tapia, 2010; Michaud, 2001, 2002; Michaud & Olsen, 2004; Palomares-Pérez et al., 2016). En México, la mariquita *Exochomus marginipennis* (Le Conte) se ha reportado como un enemigo natural con potencial para su integración en programas de control biológico de *D. citri* (Palomares-Pérez et al., 2016). Según Michaud (2001), en la Florida (EE. UU.), las poblaciones del coccinélido *Olla v-nigrum* en cultivos de cítricos aumentaron después de la invasión de *D. citri*, lo que indica que *O. v-nigrum* juega un papel clave en el control biológico de esta plaga.

Según un estudio realizado en la India, el coccinélido *C. sexmaculata*, el parasitoide *T. radiata* y el crisópido *Mallada boninensis* (Okamoto) (Neuroptera: Chrysopidae) son los tres enemigos naturales más eficaces en el control de *D. citri* (Shivankar & Rao, 2010). De acuerdo con Chávez et al. (2017), la presencia del parasitoide específico *T. radiata* y del depredador general *C. sexmaculata* probablemente explica por qué no se han observado altas poblaciones de *D. citri* en Ecuador, a pesar de su reciente introducción en ese país. En la India, en los agroecosistemas del distrito de Papum Pare, en el estado de Arunachal Pradesh, *C. sexmaculata* es una de las especies más dominantes (Hemchandra, Kalita, & Singh, 2010).

De las especies registradas en Colombia como depredadores de *D. citri*, se observó que el coccinélido *C. sexmaculata* ejerció un control biológico importante en los cultivos de cítricos de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA), Centro de Investigación Palmira, departamento del Valle del Cauca (T. Kondo, observación personal, 26 de septiembre de 2017). Liberaciones en campo de este coccinélido podrían ayudar a disminuir las poblaciones de *D. citri* y la dispersión de la enfermedad devastadora de los cítricos *huanglongbing*. Para una lista de enemigos naturales de plagas comunes de los cítricos, se recomienda consultar el trabajo de León y Kondo (2017).

Control biológico clásico fortuito de la cochinilla acanalada de Colombia *Crypticerya multicicatrices* Kondo & Unruh (Hemiptera: Monophlebidae)

En la última década, los insectos-escama de la tribu Iceryini (Hemiptera: Coccomopha: Monophlebidae), conocidos comúnmente como cochinillas acanaladas, han sido reportados frecuentemente como plagas invasoras en muchas partes del mundo (Kondo et al., 2014, 2016a, 2016b). Algunos ejemplos de la invasión de estos insectos en el Nuevo Mundo incluyen *Crypticerya genistae* (Hempel) en el estado de Espírito Santo (Brasil) (Culik et al., 2007), en la isla de Guadalupe (Etienne & Matile-Ferrero, 2008), en el estado de la Florida (EE. UU.) (Hodges, 2008; Hodges, Hodges, & Unruh, 2008) y en Colombia (Kondo et al., 2016a, 2016b). También incluyen *Icerya purchasi* Maskell en las islas Galápagos (Causton, 2004), *Crypticerya multicicatrices* Kondo & Unruh en la isla de San Andrés (Colombia) (ICA, 2010; Kondo, Gullan, & Ramos Portilla; Kondo et al., 2012a, 2014, 2016b; Silva-Gómez et al., 2013) y, más recientemente, *Crypticerya brasiliensis* (Hempel) en Colombia (Kondo et al., 2016a, 2016b).

Crypticerya genistae se reportó en Colombia como una plaga del ají *Capsicum* sp. cv. Topito (Solanaceae) (Kondo et al., 2016a, 2016b). Las plantas de las familias Asteraceae, Euphorbiaceae y Fabaceae son afectadas por *C. genistae* (Etienne & Matile-Ferrero, 2008; Hodges et al., 2008), así como las familias Malvaceae y Solanaceae (Kondo et al., 2016a).

San Andrés es la isla principal del Archipiélago de San Andrés, Providencia y Santa Catalina, que está compuesto por una extensa área de islas, bancos y cayos en el oeste del Caribe. San Andrés Isla está ubicada a

unos 700 km al noroeste de Colombia continental y 250 km al este de Nicaragua (Geister & Díaz, 1997; Hartnoll, Baine, Grandas, James, & Atkin, 2006). Por lo tanto, San Andrés está más cerca de Nicaragua (y de otros países centroamericanos) que de Colombia. Sin embargo, a pesar de la proximidad geográfica de este archipiélago con América Central, la cochinilla acanalada de Colombia (CAC), *C. multicicatrices*, probablemente fue introducida en las islas en plantas ornamentales infestadas traídas desde Colombia continental, ya que este es el único lugar desde el cual se había informado previamente de su existencia: como *Icerya brasiliensis* Hempel (Kondo, 2001) y como *Crypticerya* sp. (Kondo, 2008) (Kondo-Rodríguez, 2009; Kondo & Unruh, 2009). Además, existe un comercio intensivo entre las islas y el territorio continental de Colombia, lo que explicaría su introducción en la isla (Kondo et al., 2012a, 2014).

Desde 2010 hasta principios de 2013, el daño causado por la CAC resultó en la pérdida de la competitividad y la rentabilidad del sector agrícola de la isla de San Andrés, lo cual disminuyó la calidad de vida de las familias nativas, ocasionó la pérdida de la autosostenibilidad en la seguridad alimentaria local y la disminución de la satisfacción de los turistas que visitan las islas debido a la decadencia visual causada por las altas infestaciones de esta plaga invasora (Kondo et al., 2014).

La CAC es una plaga polífaga nativa de Colombia continental, reportada en 147 especies vegetales, principalmente, palmas (Arecaceae), mango *Mangifera indica* (Anacardiaceae), árboles y arbustos leguminosos (Fabaceae). También ha sido reportada en muchos cultivos utilizados como alimento por los isleños y en las plantas ornamentales que forman parte del paisaje tropical de las islas (Kondo et al., 2012a, 2014). El Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) informó que, en 2010, hubo 180 hectáreas afectadas por la cochinilla rosada de hibisco *Maconellicoccus hirsutus* (Green) (Hemiptera: Pseudococcidae) y *C. multicicatrices* en la isla de San Andrés, afectación que aumentó a 1.740 hectáreas para 2011 (Alterio & Ramos, 2011). El menor daño fue causado por *M. hirsutus*, dado que esta especie contó con dos especies de parasitoides: *Anagyrus kamali* Moursi y *Gyranusoidea indica* Shafee, Alam y Agarwal (Hymenoptera: Encyrtidae). Estas últimas se introdujeron junto con la cochinilla harinosa o poco después de la introducción de esta en la isla (Evans et al., 2012).

La CAC tiene cuatro etapas de desarrollo: tres etapas ninfales y la etapa adulta (Kondo & Unruh, 2009). Por lo general, todas las etapas se pueden encontrar en una sola población; la especie se considera hermafrodita (Kondo et al., 2012a), similar a *C. zeteki*, especie estrechamente relacionada (Hughes-Schrader & Monahan, 1966). Los machos de la CAC se desconocen (Kondo & Unruh, 2009; Kondo et al., 2012a). Sin embargo, Silva-Gómez et al. (2013) reportaron haber criado dos machos adultos en el laboratorio. La CAC puede encontrarse en todos sus estados durante todo el año, aunque las infestaciones suelen ser más severas en tiempos de sequía. Las plántulas son especialmente susceptibles y pueden secarse cuando las poblaciones son altas (Kondo et al., 2012a).

Crypticerya multicicatrices es un insecto que tiene un ciclo de desarrollo bastante largo, que se extiende hasta aproximadamente cinco meses, en los cuales los individuos sobreviven 152,6 ± 2,40 días (desde el huevo hasta el adulto) en condiciones de semicampo y 136,74 ± 2,91 días en condiciones de invernadero (Sotelo & Kondo, 2017). Además, el insecto permanece en la etapa adulta más del 60 % del tiempo de supervivencia total, lo que sugiere el uso de agentes de control biológico: depredadores que se especializan en alimentarse en esta etapa del desarrollo (Sotelo & Kondo, 2017).

La CAC se encuentra comúnmente en las ramas y hojas de la planta hospedera, pero puede aparecer en el tronco y sobre los frutos cuando las poblaciones son altas. A menudo, las hormigas las atienden para recolectar la miel de rocío que excretan (Kondo et al., 2012a). En San Andrés, la CAC se ha encontrado atendida hasta por siete géneros de hormigas (Hymenoptera: Formicidae) distribuidas en cuatro subfamilias; los géneros son *Crematogaster, Monomorium* (Myrmicinae), *Paratrechina, Camponotus* (Formicinae), *Dorymyrmex, Dolichoderus* (Dolichoderinae) y *Ectatomma* (Ectatomminae)(Silva-Gómez et al., 2013).

En la guanábana *Annona muricata* L. (Annonaceae), se ha informado que *C. multicicatrices* (como *Crypticerya* sp.) está relacionada con el retraso en el crecimiento

(Kondo, 2008) y que puede causar defoliación y muerte de la planta hospedera en ataques severos (Kondo et al., 2012a). La especie produce miel de rocío, un líquido azucarado que promueve el crecimiento de hongos que se asocian a síntomas de fumagina. Esta última causa daños cosméticos a las partes comerciales de la planta, con reducción de la calidad del producto, y puede disminuir la tasa fotosintética de las hojas (Kondo et al., 2012a). Curiosamente, en Colombia continental no se ha reportado esta especie asociada a síntomas de fumagina (Kondo & Unruh, 2009), pero se asocia comúnmente con la fumagina en San Andrés (Kondo et al., 2012a). Kondo et al. (2012a) indicaron que es probable que la miel de rocío producida por la CAC sea baja en azúcares, pues la fumagina generalmente no se observa cuando las poblaciones son bajas. Por otra parte, cuando hay fumagina, no se encuentran hormigas o se encuentran muy pocas atendiendo a la CAC (Silva-Gómez et al., 2013).

La CAC se describió originalmente con base en especímenes recolectados en los departamentos de Antioquia, Tolima y Valle del Cauca, en Colombia continental, donde se registró en 11 plantas hospederas (Kondo & Unruh, 2009). Una especie del mismo género, *C. montserratensis*, ha sido reportada como una plaga de *Citrus* spp. en la parte continental de Colombia, pero, de acuerdo con Kondo et al. (2012b), esta puede corresponder a una identificación errónea de *C. multicicatrices*. En 2010, se informó de afectación de la CAC a 13 especies de plantas (ICA, 2010). Recientemente, Kondo et al. (2012a) reportaron infestaciones en otras 82 plantas hospedadoras, y Silva-Gómez et al. (2013), en un estudio sobre la incidencia de la CAC y *M. hirsutus* en el Archipiélago de San Andrés, Providencia y Santa Catalina, informaron de 52 nuevos registros de plantas hospedadoras, lo que incrementó las especies de plantas hospedadoras a un total de 147 especies (Kondo et al., 2014). Para 2010, la CAC estaba bien establecida en San Andrés y también estaba presente en la isla de Providencia (Alterio & Ramos, 2011; ICA, 2010). Debido al largo ciclo de vida de la CAC, para que el insecto se haya propagado a toda la isla, tuvo que haber llegado a esta a fines de la década de los 2000, probablemente entre 2007 o 2008 (Kondo et al., 2014).

Las estrategias de manejo para la CAC se basaron originalmente en el control químico. Los primeros intentos de control biológico se llevaron a cabo por la Universidad Nacional de Colombia, con la producción masiva de un hongo que se encontró infestando especímenes de CAC recolectados en una planta de mango en San Andrés. El hongo se reportó inicialmente como *Paecilomyces* sp. (Quiroga, Maya, Martínez, & Hoyos, 2011), pero más tarde se identificó como *Isaria* sp. (Eurotiales: Trichocomaceae) (Kondo et al., 2012a; Silva-Gómez et al., 2013). Quiroga et al. (2011) realizaron experimentos de patogenicidad de *Isaria* sp. y obtuvieron tasas de mortalidad de 30 % a 88 % en condiciones de humedad artificialmente alta, pero no se publicaron reportes sobre la eficacia bajo condiciones de campo (Kondo et al., 2016b). Entre 2010 y 2011 no se reportaron otros enemigos naturales de la CAC en las islas de San Andrés (Alterio & Ramos, 2011; ICA, 2010).

Así, en vista de la falta de controladores en la isla de San Andrés, Kondo et al. (2012a) discutieron sobre la necesidad de implementar un programa de control biológico clásico allí, y recomendaron el uso de enemigos naturales especializados, en lugar de los generalistas, para minimizar el impacto ecológico sobre insectos no objetivo. En un esfuerzo por implementar dicho programa en San Andrés, AGROSAVIA, con financiación del Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural de Colombia (MADR), llevó a cabo investigaciones en la parte continental de Colombia, lo que resultó en el descubrimiento de varios enemigos naturales. Los dos primeros enemigos naturales se encontraron en el municipio de Palmira (Valle del Cauca), y fueron identificados como los coccinélidos *Delphastus quinculus* Gordon y *Diomus seminulus* (Mulsant) (Coleoptera: Coccinellidae), los cuales se reportaron por primera vez alimentándose de huevos y ninfas de primer estadio de la CAC (González, López, & Kondo, 2012). Los adultos de *D. quinculus* y *D. seminulus* comen a través del ovisaco (un saco de cera adherido al abdomen y producido por el insecto donde se guardan los huevos) de la hembra adulta de la CAC, para llegar hasta los huevos y las ninfas recién nacidas del primer instar (ocasionalmente se encuentran varios coccinélidos en un ovisaco) (González et al., 2012).

En otro estudio, Gaimari et al. (2012) reportaron la mosca *Syneura cocciphila* (Coquillet) (Diptera: Phoridae) como un depredador de la CAC en la ciudad de Cali (Colombia) (Kondo et al., 2016b). Las larvas

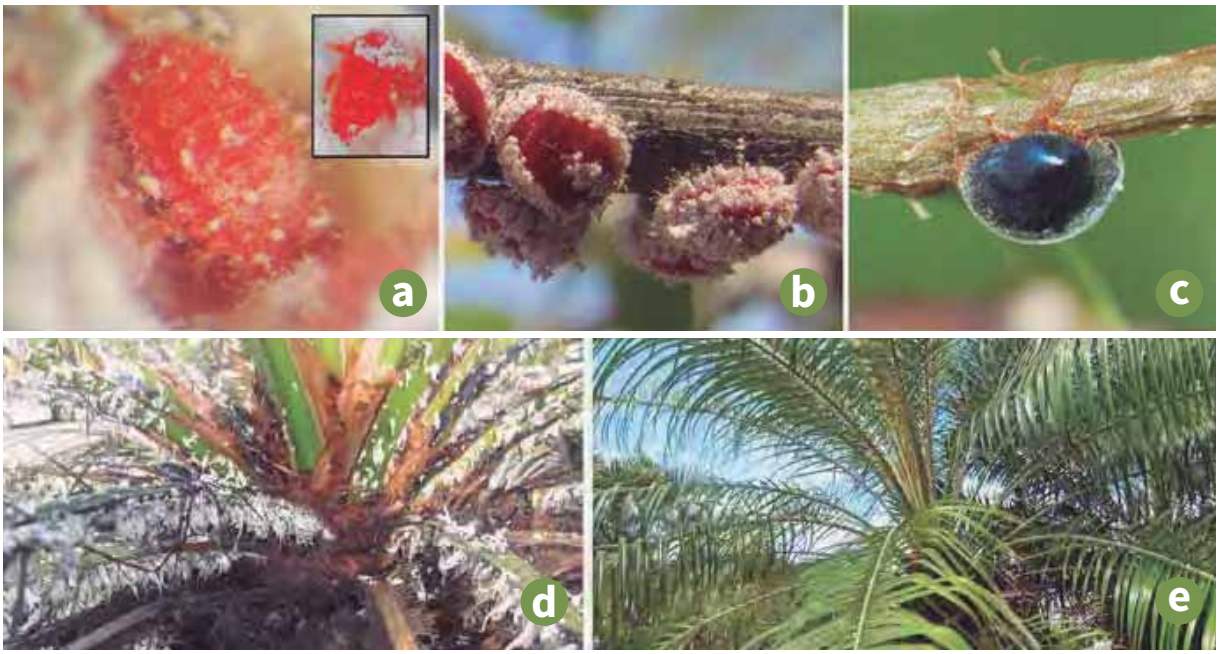
depredadoras de *S. cocciphila* se alimentan del contenido corporal del adulto y también de los huevos dentro del ovisaco (Kondo et al., 2016b; Muñoz, Manrique, Sotelo-Cardona, Gaimari, & Kondo, 2018). La pupación ocurre dentro del cuerpo del insecto, dentro del ovisaco o justo afuera de él; generalmente dejan un orificio circular de emergencia en el extremo posterior del ovisaco o (con menor frecuencia) directamente en el cuerpo del insecto (Gaimari, Quintero, & Kondo, 2012). Las larvas de la mosca depredadora hacen que los huevos dentro de cada ovisaco se sequen, de modo que quedan visibles solo los coriones de estos (Gaimari et al., 2012).

Syneura cocciphila ha sido reportada como un enemigo natural de *C. genistae*, especie invasora en Puerto Rico (Ciomperlik, 2010). En la isla de Montserrat, se informó sobre ataques de *S. cocciphila* a *C. montserratensis* (Bartlett, 1978), especie de cochinilla acanalada cercana a la CAC (Kondo et al., 2016b). *Syneura cocciphila* parece especializarse en insectos escama de la tribu Iceryini (Gaimari et al., 2012). El ciclo de vida de *S. cocciphila* desde la oviposición hasta la emergencia de los adultos es 20,04 días, el estado de huevo dura 1,38 (± 0,18) días, el tiempo total de desarrollo de los tres estadios larvales dura 4,5 (± 0,19) días, el estado de prepupa dura 1,63 (± 0,09) días y el estado de pupa dura 12,53 (± 0,12) días (Muñoz et al., 2018). En promedio, las hembras adultas viven aproximadamente 13 días y los machos adultos 11 días en condiciones de laboratorio. *S. cocciphila* es un agente de control biológico efectivo de *C. multicicatrices*, sin embargo, la cría de *S. cocciphila* en condiciones de laboratorio no ha sido factible hasta el momento. Es posible que *S. cocciphila* requiera de espacios amplios para que ocurra la cópula. Se deben realizar estudios adicionales para determinar qué estímulos inducen la cópula, ya que este es un componente crítico en la cría masiva de esta importante mosca depredadora (Muñoz et al., 2018).

Además de las dos especies de coccinélidos y el mosco depredador, se han encontrado otros enemigos naturales de la CAC en la parte continental de Colombia (en Palmira, Valle del Cauca), que incluyen al menos dos parasitoides himenópteros (Encyrtidae) extraídos de los adultos de la CAC y larvas de una especie de Chrysopidae que se alimentan de huevos y ninfas de la CAC (Kondo et al., 2012a, 2016b). En febrero de 2013, se recolectaron adultos y ninfas de una especie de coccinélido en el noreste de la isla de San Andrés que se alimentaban de los huevos dentro de los ovisacos de la CAC. El coccinélido inicialmente fue identificado como una especie no descrita del género *Anovia* Casey (Kondo et al., 2014). La mariquita no se identificó a nivel de especie cuando se informó de su aparición por primera vez en la isla, ya que en ese momento la especie no parecía corresponder a ninguna de las especies descritas en el género *Anovia* Casey, 1908 (Coleoptera: Coccinellidae: Noviini), tanto por su *habitus* como por la morfología de la *genitalia* del macho. Posteriormente, a través de un análisis de muchas muestras de especímenes de *Anovia* recolectados en Colombia y Perú, la especie fue finalmente identificada como *Anovia punica* Gordon, 1972 (figuras 9.3a, b y c), una especie originalmente descrita de Venezuela y reportada también en Honduras, Panamá y Trinidad (González & Kondo, 2014).

Las etapas de desarrollo de *A. punica* se clasifican de la siguiente manera: huevo, cuatro instares larvales (figura 9.3a), prepupa, pupa (figura 9.3b) y adulto (figura 9.3c). El ciclo de vida, desde huevo hasta adulto, dura en promedio 29,41 ± 1,85 días (Pinchao, Sotelo, González, & Kondo, 2017). La longevidad de la hembra y del macho es de 94 y 90 días, respectivamente. Los parámetros de la tabla de vida muestran que una hembra de *A. punica* es reemplazada por 86 hembras (R_0). La tasa intrínseca de crecimiento (r_m) es de 0,1115, el tiempo promedio de generación (T) es de 40 días y el tiempo de duplicación (Dt) es de 6,2 días (Pinchao et al., 2017). Los parámetros de la tabla de vida sugieren que *A. punica* puede utilizarse como un potencial depredador de *C. multicicatrices* (Pinchao et al., 2017). En Cali, se han registrado tanto ninfas como adultos de otra especie de coccinélido, la mariquita vedalia *R. cardinalis*, que se alimenta de huevos y ninfas y que comúnmente se encuentra cohabitando con *A. punica* (Pinchao, Kondo, & González, 2015).

Recientemente, Silva-Gómez et al. (2017) reportaron dos especies adicionales a *A. punica* en la isla de San Andrés como depredadores de *C. multicicatrices: Cryptognatha auriculata* Mulsant, 1850, en cocotero (*Cocos nucifera*), y *Zagloba beaumonti* Casey, 1899, en limón (*Citrus limon*). Sin embargo, estos registros se consideran dudosos y deben ser confirmados. En estudios de campo realizados por Silva-Gómez entre 2010 y 2017, se encontraron varias especies de



Fotos: Takumasa Kondo

Figura 9.3. *A. punica*, depredador principal de *C. multicicatrices*. a. Larva del segundo instar de *A. punica* y larva del primer instar (primer plano); b. Pupa de *A. punica* (izquierda) y larva del cuarto instar (derecha); c. Adulto de *A. punica*; d. Palma *Phoenix roebelenii* con una infestación alta de *C. multicicatrices*; e. La misma palma ocho meses después del primer avistamiento de *A. punica* en la isla de San Andrés.

coccinélidos cerca a individuos de *C. multicicatrices*, pero solo *A. punica* se encontró como depredador de CAC. *Cryptognatha auriculata*, tal como lo mencionan Silva-Gómez et al. (2017), es un gran depredador de la escama de armadura *Aspidiotus destructor* Signoret (Hemiptera: Diaspididae). Especies del género *Cryptognatha* han sido normalmente conocidas como depredadores de Diaspididae, entre ellas, *Aspidiotus destructor* (Chapin, 1964; Gordon, 1985), *Parlagena bennetti* Williams (Chapin, 1964) y *Pseudaulacaspis pentagona* (Targioni Tozzetti) (Gordon, 1985). Otros trabajos como el de Bortoli, Venvenga, Gravena y Miranda (2001) sobre otra especie de un género de Chryptognathini, *Pentilia egena* Mulsant, también lo relacionan con Diaspididae —con la especie *Chrysomphalus aonidum* (Linnaeus) (citada como *Chrysomphalus ficus*)—; mientras que *Pentilia discors* Gorham es mencionada por Arias-Reverón (1990) como depredador de varias especies de diaspídidos del género *Lepidosaphes*.

Por otro lado, el cocotero, además de ser un hospedero de *C. multicicatrices*, también es uno de los principales hospederos de *A. destructor*, especie común en la isla de San Andrés. Otro diaspídido muy común en las hojas de cocotero en San Andrés es la escama blanca del cocotero, *Parlagena bennetti* Williams (Hemiptera: Diaspididae) (Kondo, Gullan, Watson, Bustillo Pardey, & Montes, 2015), especie ya mencionada como presa de *C. auriculata* (Chapin, 1964). Adicionalmente, en la figura 9.3 (Silva-Gómez et al., 2017), la hoja en que se encuentra *C. auriculata* presenta síntomas de clorosis típicas causadas por *A. destructor*, donde los tejidos por donde pasa el estilete del diaspídido se vuelven cloróticos debido a las toxinas que el insecto inyecta durante la alimentación. Es de anotar que *C. multicicatrices* no causa este tipo de síntomas en las hojas.

Finalmente, *C. auriculata* es un coccinélido de color rojizo y puede confundirse, por su color y tamaño, con el fenotipo rojo de *A. punica*, por lo tanto, es muy posible que Silva-Gómez et al. (2017) hayan confundido las dos especies que se pueden encontrar cohabitando en hojas de cocotero, es decir, *C. auriculata* como depredador de diaspídidos y *A. punica* como depredador de *C. multicicatrices*. En estudios de cría de *A. punica* en laboratorio, de vez en cuando se obtienen especímenes de coloración totalmente roja provenientes de padres de coloración típica azul.

La segunda especie, *Z. beaumonti*, reportada por Silva-Gómez et al. (2017) sobre cítricos también se conoce como depredador de diaspídidos; por ejemplo, *Chrysomphalus* sp., y es muy probable que este sea también un error de asociación del hospedero. Coronado-Blanco, Ruiz-Cancino y Marín-Jarillo (2000) mencionaron a *Z. beaumonti* en relación con *Unaspis citri*, plaga muy común en los cítricos (Kondo et al., 2012b). Arias-Reveron (1990) reportó esta misma especie (*Z. beaumonti*) como depredador sobre varias especies de *Lepidosaphes*, mientras que Lima (1999) la reportó sobre *Diaspis echinocacti* (Bouché), todas, especies de la familia Diaspididae.

Es de anotar que existen 112 especies de Diaspididae reportadas en los cítricos en el mundo (García-Morales et al., 2016) y 20 especies en Colombia (Kondo et al., 2012b; Ramos-Portilla & Caballero, 2017). Los diaspídidos son insectos diminutos de coloración críptica y pueden pasar desapercibidos, por lo tanto, pueden ocurrir este tipo de errores en la asociación depredador-hospedero. Es importante realizar experimentos de laboratorio para verificar la depredación de *C. auriculata* y *Z. beaumonti* sobre *C. multicicatrices*, hacer observaciones directas que permitan evidenciar que las dos especies cumplen su ciclo de vida alimentándose de *C. multicicatrices*, para así determinar si estos coccinélidos en verdad depredan a este insecto plaga. En este sentido, mientras no se realicen estudios de seguimiento, no es posible considerar a *C. auriculata* y *Z. beaumonti* como depredadores de *C. multicicatrices*.

Anovia punica es un depredador efectivo de *C. multicicatrices* en el archipiélago de San Andrés (figuras 9.3a, b y c) (Kondo et al., 2014). Las ninfas y los adultos de *A. punica* (como *Anovia* sp.) se alimentan de los huevos de *C. multicicatrices* perforando los ovisacos de las hembras adultas (Kondo et al., 2014). Gordon (1972) reportó como presas de *A. punica* a las especies *Icerya purchasi* (Maskell) y *Crypticerya montserratensis* (Riley & Howard) en Panamá y Venezuela. Todas las presas conocidas de *A. punica* son escamas acanaladas de los géneros *Crypticerya* Cockerell e *Icerya* Maskell, pertenecientes a la tribu Iceryini (Hemiptera: Coccoidea: Monophlebidae) (González & Kondo, 2014). Debido a que *A. punica* es un depredador especialista de cochinillas acanaladas, se considera un enemigo natural ideal de *C. multicicatrices*, puesto que no se alimenta de otras presas.

Se observaron brotes poblacionales de la CAC desde 2010 hasta febrero de 2013. Sin embargo, en un estudio de campo realizado en octubre de 2013, solo ocho meses después de que el coccinélido *A. punica* fue visto por primera vez, este ya se había extendido a toda la isla, y las poblaciones de la CAC habían sido diezmadas hasta el punto de que era muy difícil encontrar un espécimen (figuras 9.3d y e) (Kondo et al., 2014). Además de la depredación efectiva por *A. punica*, las fuertes lluvias en San Andrés podrían haber ayudado a reducir las poblaciones de la CAC. La temporada de lluvias en San Andrés se compone de un periodo de lluvias moderadas (mayo-julio) y un periodo de máxima precipitación (octubre-diciembre), en el que se registra el 80 % de las precipitaciones anuales (Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales [Ideam], 1995). Sin embargo, las poblaciones de la CAC bajaron drásticamente entre febrero y octubre, lo que no concuerda con el periodo de fuertes lluvias, por lo tanto, la depredación por *A. punica* debe haber sido el principal factor de control de la CAC en la isla (Kondo et al., 2014).

Este es un ejemplo de control biológico clásico fortuito, que se produjo espontáneamente sin intervención humana deliberada (Kondo et al., 2014). Además, es muy posible que *A. punica* haya llegado a la isla de San Andrés de manera similar a la CAC, probablemente en plantas ornamentales infestadas con *C. multicicatrices* traídas de la parte continental de Colombia.

Control biológico del ácaro verde de la yuca *Mononychellus tanajoa* en África

El ácaro verde de la yuca o *Mononychellus tanajoa* (Bondar) (Acari: Tetranychidae) es originario de las Américas (Braun et al., 1993) y se alimenta principalmente de plantas del género *Manihot* (Bolland et al., 1998; Migeon, Nouguier, & Dorkeld, 2011). *Mononychellus tanajoa* afecta de manera importante a la especie cultivable de yuca *Manihot esculenta* Crantz (Euphorbiaceae) (Yaninek & Herren, 1988). La asociación *M. tanajoa-M. esculenta* había sido reportada exclusivamente en las Américas hasta 1971, cuando se registró la presencia de este ácaro en yucas

también en Uganda, en el continente africano (Lyon, 1973; Yaninek & Herren, 1988). Durante el resto de la década de los setenta y los ochenta se presentaron reportes de esta asociación en 27 países africanos más, lo cual resultó en pérdidas estimadas entre el 13 % y el 84 % en la producción de yuca en ese continente (Girling, Bennet, & Yassen, 1977; Herren, 1982; Yaninek & Herren, 1988). Esta situación condujo al desarrollo de iniciativas para controlar este ataque severo: una de las estrategias fue el control biológico clásico con enemigos naturales de las Américas (Girling et al., 1977; Yaninek & Herren, 1988).

La primera tarea realizada para el control biológico fue la búsqueda de enemigos naturales en las Américas por parte de investigadores del Commonwealth Institute of Biological Control. Estas exploraciones se efectuaron en Trinidad, donde se documentaron varios depredadores (Yaseen, 1982). Posteriormente, se ejecutaron otras exploraciones en Colombia, México, Nicaragua, Perú y diferentes islas del Caribe, entre 1974 y 1976 (Yaseen & Bennet, 1976). En estas campañas se determinaron varios depredadores, entre los cuales *Oligota minuta* Cameron (Coleoptera: Staphylinidae), *Amblydromalus manihoti* (Moraes) y *Amblydromalus rapax* (De Leon) (Acari: Phytoseiidae) fueron sugeridos para su introducción en África (Yaseen & Bennet, 1976). Otras visitas realizadas en el norte de Suramérica, incluyendo Colombia entre 1977 y 1979, confirmaron a las especies *O. minuta* y *A. manihoti* como potenciales controladores en África y adicionaron otras especies de *Holobus* y de *Stethorus* (Coleoptera: Coccinellidae) para la exportación hacia África (Yaseen, 1982).

A partir de estos primeros estudios, se realizaron las primeras importaciones de enemigos naturales de *M. tanajoa* a África provenientes de Trinidad (Girling et al., 1977; Yaninek & Herren, 1988). En total se introdujeron 1.600 adultos de *O. minuta* en el oeste de Kenia (Girling et al., 1977; Ingram, 1982), pero muy pocos controladores se establecieron (Ingram, 1982; Yaseen, 1982). La falla en la permanencia de *O. minuta* se atribuyó a la inadecuada información biológica sobre la plaga y el enemigo natural. En este caso, el depredador no sobrevivió a las bajas poblaciones del ácaro, además, se presentaron dificultades logísticas que condujeron a una excesiva mortalidad durante el transporte, por lo que solo se pudieron hacer pocas liberaciones (Girling et al., 1977; Yaninek & Herren, 1988).

Posteriormente, se inició en 1980 el proyecto African-wide Biological Control Project (ABCP), liderado por el International Institute of Tropical Agriculture (IITA). Este tenía el objetivo de controlar plagas exóticas de la yuca, entre las que se encontraba *M. tanajoa* (Yaninek & Herren, 1988; Yaninek, Onzo, & Ojo, 1993). En el marco de este proyecto, se realizaron a partir de 1983 exploraciones en Colombia y el resto del norte de Suramérica por parte del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) (Yaninek & Hanna, 2003; Yaninek & Herren, 1988; Yaninek et al., 1993). Estas búsquedas se enfocaron en los ácaros fitoseídos, dado que son muy abundantes y se encuentran ampliamente distribuidos en cultivos de yuca (Yaninek et al., 1993). Las localidades visitadas en Suramérica presentaban similitudes ecológicas con las áreas afectadas en África (Yaninek & Bellotti, 1987). Este estudio permitió la cría y exportación hacia África de 5,3 millones de ácaros fitoseídos pertenecientes a diez especies provenientes de Colombia (tabla 9.1), los cuales fueron liberados en 359 localidades en diez países, entre 1983 y 1990 (Yaninek & Hanna, 2003; Yaninek et al., 1993).

Las especies y poblaciones colombianas exportadas a África no lograron establecerse en los sitios de liberación, lo cual se explicó por la presencia de periodos muy prolongados de baja humedad relativa o ausencia de recursos alimenticios cuando *M. tanajoa* tenía bajas densidades (Yaninek et al., 1993). Por lo anterior, en 1988 se realizó un ajuste de la búsqueda de los controladores en Suramérica, y se priorizaron los sitios con ácaros fitoseídos capaces de sobrevivir a periodos de baja densidad de *M. tanajoa* (Yaninek & Hanna, 2003). Estas nuevas exploraciones condujeron al nordeste de Brasil, desde donde se criaron y exportaron 6,4 millones de ácaros fitoseídos pertenecientes a cinco especies, los cuales fueron liberados en 528 sitios, en 20 países, entre 1989 y 2000 (Yaninek & Hanna, 2003).

De las cinco especies importadas del Brasil, solo *Amblydromalus manihoti*, *Neoseiulus idaeus* y *Typhlodromalus aripo* De Leon se pudieron establecer (Yaninek & Hanna, 2003; Yaninek et al., 1991). *A. manihoti* permaneció en Benín, Burundi, Ghana y Nigeria; *N. idaeus*, en Benín y Kenia; y *T. aripo* se extendió a 20 países de África en menos de diez años (Yaninek & Hanna, 2003). La superioridad de *T. aripo* frente al resto de fitoseídos se atribuye a la poca sobrexplotación de su presa y a su capacidad

Tabla 9.1. Características de las introducciones a África de las especies de fitoseídos provenientes de Colombia entre 1983 y 1990

Especie	# país	# envíos	Depredadores enviados	Sitios de liberación
Amblyseius aerialis (Muma)	7	80	141.335	26
Euseius concordis (Chant)	8	77	170.262	44
Galendromus annectens (De Leon)	10	124	516.728	41
Neoseiulus anonymus (Chant & Baker)	10	169	1.921.580	68
Neoseiulus californicus (McGregor)	8	83	443.512	30
Neoseiulus idaeus Denmark & Mumma	10	187	1.819.779	81
*Phytoseiulus mexicanus**	1	1	726	1
Amblydromalus manihoti (Moraes)	6	56	86.077	24
Ueckermannseius tenuiscutus McMurtry & Moraes	1	8	33.452	4

* No se encuentra una descripción taxonómica publicada de esta especie, probablemente corresponde a *Proprioseiopsis mexicanus* (Garman), que es la única especie con este epíteto reportada en Colombia (Demite, McMurtry, & De Moraes, 2014; De Moraes & Mesa, 1988; A. A. Vásquez Ordóñez, observación personal, 12 de enero de 2018).

Fuente: Yaninek y Hanna (2003)

de sobrevivir, desarrollarse y ovipositar a partir de una gran diversidad de dietas (Yaninek & Hanna, 2003). Además, *T. aripo* habita en el ápice de las plantas, donde se encuentra protegido de los extremos climáticos y se favorece su transporte entre cultivadores, quienes intercambian cortes de tallos, incluido el ápice (Yaninek & Hanna, 2003). Estas nuevas introducciones redujeron las poblaciones de *M. tanajoa* e incrementaron en un tercio la producción de yuca en África (Yaninek, 2007; Yaninek & Hanna, 2003; Yaninek et al., 1991), lo cual significó un ahorro de cientos de millones de dólares en comida al año (Yaninek, 2007; Yaninek & Hanna, 2003).

Las investigaciones realizadas en Colombia fueron de gran importancia para este programa de control biológico, ya que se estudiaron numerosos controladores de *M. tanajoa* con potencial de exportación hacia África (Yaninek & Bellotti, 1987; Yaninek & Herren, 1988; Yaseen & Bennet, 1977). Así mismo, desde este territorio se exportaron 5,3 millones de ácaros fitoseídos pertenecientes a diez especies (Yaninek & Hanna, 2003; Yaninek et al., 1993). Aunque las mencionadas investigaciones no lograron su objetivo de controlar a *M. tanajoa* en África, se determinó la importancia de la sobrevivencia del depredador del ácaro verde de la yuca a periodos de baja densidad de *M. tanajoa* y a sequías (Yaninek & Hanna, 2003; Yaninek et al., 1993). Con este conocimiento, se orientó la búsqueda hacia territorios como el nordeste de Brasil, donde se encontraron depredadores que cumplían con estas condiciones, entre estos, *T. aripo*, que se convirtió en el control biológico de *M. tanajoa* en África (Yaninek & Hanna, 2003).

Todo el esfuerzo realizado en Colombia para el control de *M. tanajoa* puede llegar a tener impacto adicional en la yuca. En el CIAT se tienen 1.574 registros de 41 especies de fitoseídos asociados a la yuca en Colombia (A. A. Vásquez Ordóñez, observación personal, 12 de enero de 2018). Esta información demuestra una gran diversidad de fitoseídos asociados a este cultivo, a lo cual se suma la gran riqueza de condiciones ambientales propias de Colombia. Por lo tanto, se podría tener un impacto en futuros programas de control biológico que intenten diezmar poblaciones de ácaros fitófagos en condiciones climáticas distintas a las de África. Cabe destacar la creciente producción

de yuca en Asia (Howeler, 2011), donde se tienen condiciones climáticas muy distintas a las africanas y se han documentado invasiones por ácaros fitófagos (Parsa et al., 2015). Por otra parte, es importante recalcar el papel que podrían tener estos ácaros fitoseídos colombianos en el control de trips y moscas blancas asociadas a la yuca, puesto que estos se han sugerido como controladores de tales plagas en otros cultivos (McMurtry, De Moraes, & Sourassou, 2013). Cabe destacar que los trips y las moscas blancas tienen un impacto considerable en la producción de yuca (Bellotti et al., 2011).

Beneficios y dificultades del uso de depredadores para el control biológico

Depredadores para el control biológico en invernaderos

Un invernadero, en el contexto agrícola, es definido como una extensión de terreno cerrado mediante una estructura cubierta de plástico o vidrio. Pese a que el nivel de sofisticación puede variar, el objeto de la agricultura de invernadero es favorecer el desarrollo de plantas a través del control de variables ambientales y de la restricción de la entrada de plagas y patógenos vegetales al cultivo. En general, el uso de depredadores para el control biológico de plagas en invernaderos es relativamente limitado. En esta sección, se discuten los retos particulares que representa el uso de depredadores para el desarrollo de programas exitosos de control biológico de plagas en invernaderos. Se presentan las principales limitaciones para el establecimiento de poblaciones de depredadores y los factores asociados a la reducción de su eficacia como agentes de control biológico. Para ilustrar y sustentar la discusión, se utilizan ejemplos de sistemas documentados en cultivos de invernadero en Colombia.

Una característica que distingue a los depredadores de otros enemigos naturales (como parasitoides y patógenos) es que estos, en general, atacan y se alimentan de una amplia diversidad de presas. Esta condición puede incrementar la probabilidad de establecimiento del agente de control, pero también puede reducir el impacto de su aplicación a corto plazo. En invernaderos, por ejemplo, la mayor parte de los cultivos son anuales, y las dinámicas depredador-presa son forzadas a terminar al final de cada ciclo. Por este motivo, los programas de control de plagas en cultivos de invernadero tienen como objetivo principal suprimir la densidad de poblaciones plaga por debajo de los niveles críticos en el menor tiempo posible, a diferencia de aquellos de libre exposición, en los que se busca el establecimiento de dinámicas depredador-presa a largo plazo (control biológico clásico) (Urano, Shima, Hongo, & Susuki, 2003). Particularmente, la eficacia a corto plazo puede ser una limitación importante para el uso de depredadores en programas de control biológico de plagas. Por ejemplo, en coccinélidos, la diversidad de la dieta está relacionada con la escala espacial en la cual estos depredadores perciben los parches de presas en el ambiente (Bianchi, Schellhorn, & Van Der Werf, 2009; Ives, Kareiva, & Perry, 1993).

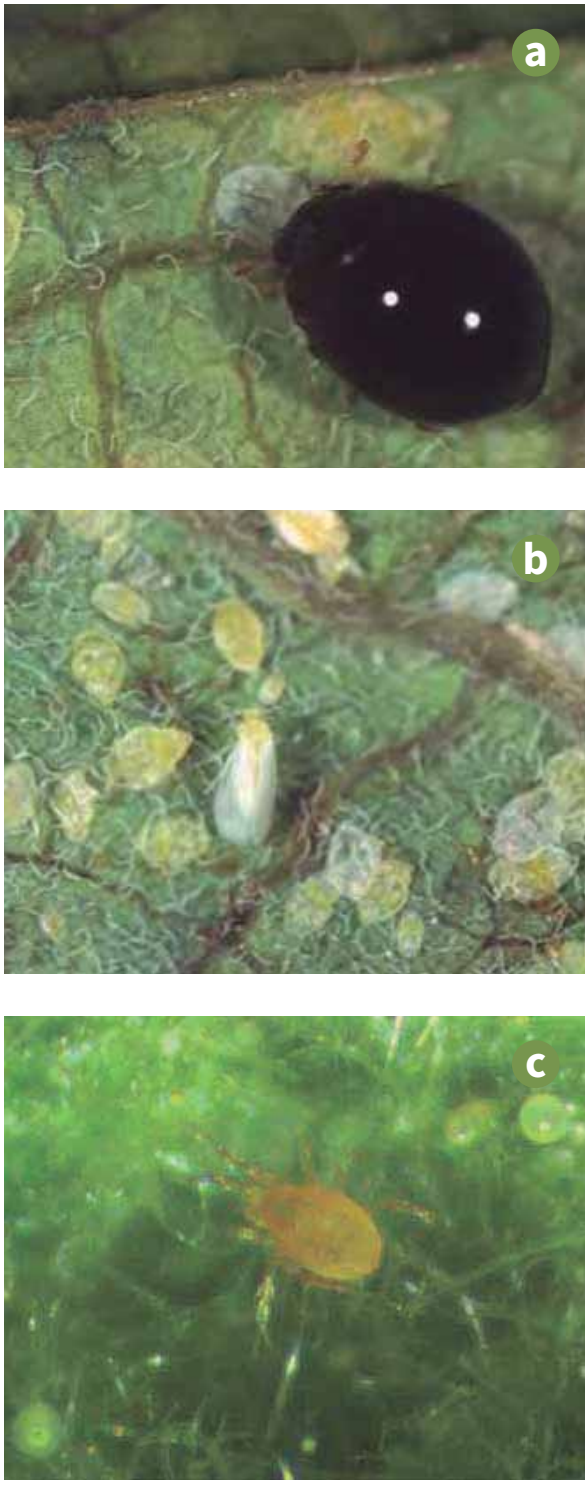
Las especies con una dieta diversa tienden a percibir parches de presas a escalas amplias debido a que existe la probabilidad de encontrar fuentes de alimento alternativas. Esto implica que, en general, los coccinélidos generalistas gastan menos tiempo buscando presas en plantas individuales que aquellos con dietas más especializadas (Bianchi et al., 2009; Ives et al., 1993). Esto, por supuesto, reduce la eficacia de los coccinélidos generalistas como agentes de control biológico en ambientes cerrados, ya que tienden a invertir la mayor parte del tiempo volando entre plantas o intentando emigrar a otros hábitats (Hodek, Honek, & Van Emden, 2012; Krivan, 2008).

Sin embargo, algunos coccinélidos se han usado con relativo éxito para el control biológico de plagas en invernadero. Tal es el caso de *Delphastus catalinae* (Horn) (Coleoptera: Coccinellidae) (figura 9.4a), un depredador nativo del norte de Suramérica especializado en el consumo de moscas blancas

(Hemiptera: Aleyrodidae) (figura 9.4b) (Hoelmer & Pickett, 2003). Debido a su relativo grado de especialización de la dieta, los adultos y larvas de *D. catalinae* tienden a invertir una buena cantidad de tiempo buscando ninfas de mosca blanca en plantas en campo y en invernaderos. Evaluaciones de laboratorio y campo han revelado que *D. catalinae* puede ser un agente de control eficiente en EE. UU. (Heinz & Parrella, 1994; Heinz & Zalom, 1996; Heinz, Brazzle, Parrella, & Pickett, 1999; Legaspi, Legaspi, Simmons, & Soumare, 2008) y en Colombia (González, Benítez, & López-Ávila, 2006; Pérez, García-González, & Cotes, 2008). De hecho, es uno de los depredadores de moscas blancas más populares en Europa (Van Lenteren, 2012) y el único indicado para cultivos de invernadero en el mercado de los EE. UU. (Hunter, 1998; Rincón-Vitova Insectaries, 2011). Sin embargo, el uso de *D. catalinae* para controlar infestaciones de mosca blanca en invernaderos puede resultar altamente costoso y, por lo tanto, inviable (Heinz & Parrella, 1994). Además, las tasas de liberación recomendadas por los proveedores exceden en mucho aquellas que se derivan de las tasas de consumo de presas reportadas en laboratorio (Biobest, 2011; Rincón-Vitova Insectaries, 2011).

El caso de *D. catalinae* se ha usado como modelo de estudio para comprender las características de las interacciones depredador-presa que determinan el éxito o el fracaso del uso de un depredador como agente de control de plagas. Estudios detallados sobre la interacción entre *D. catalinae* y la mosca blanca *Bemisia tabaci* biotipo B (= *Bemisia argentifolii*; = grupo Middle East-Asia Minor 1) (De Barro, Liu, Boykin, & Dinsdale, 2011) (figura 9.4b) en plantas de tomate revelaron que tanto la plaga como el depredador se distribuyen dentro de las plantas en patrones bien definidos. Mientras que las ninfas de *B. tabaci* se localizan en su mayoría en el segundo quinto superior del dosel de la planta (Rincón, Hoy, & Cañas, 2015), los adultos de *D. catalinae* concentran su búsqueda de presas en las hojas ubicadas en el estrato medio y medio-bajo del dosel (Rincón, Cañas, & Hoy, 2016). Estos resultados explican, en parte, la dificultad de predecir el resultado de una liberación de *D. catalinae* para el control de *B. tabaci* si se usan únicamente las tasas de consumo observadas en laboratorio como referencia.

Si las probabilidades de encuentro entre depredadores y presas no se distribuyen de manera homogénea



Fotos: Diego Rincón y Stephanie Numa Vergel

Figura 9.4. Control biológico en condiciones de invernadero. a. *Delphastus catalinae* (Horn) (Coleoptera: Coccinellidae) en depredación de ninfas de mosca blanca; b. Mosca blanca de los invernaderos, *Bemisia tabaci* biotipo B (= *Bemisia argentifolii*) (Hemiptera: Aleyrodidae); c. Ácaro depredador *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot (Acari: Phytoseiidae).

dentro del dosel de las plantas, la mayoría de los modelos depredador-presa entregarán predicciones sobredimensionadas con respecto a la eficacia de *D. catalinae* como agente de control. Además, se evidenció que los adultos de *D. catalinae* pueden percibir la densidad de presas en una planta y, así, modular el área buscada dentro del dosel. Entre más presas en una planta, mayor es el número de foliolos visitados por el depredador (Rincón, Cañas, & Hoy, 2017). Con el fin de comprender los factores que determinan las tasas de consumo de un sistema con estas características, Rincón et al. (2017) construyeron un modelo de simulación que incorpora explícitamente las distribuciones de las presas y del esfuerzo de búsqueda de los depredadores en las plantas. Con este modelo, se encontró que ligeras discrepancias entre la distribución de las presas y el esfuerzo de búsqueda de los depredadores pueden llegar causar impactos significativos en la magnitud de las tasas de consumo por depredador en una planta. Además, se evidenció que la capacidad del depredador de modular su esfuerzo de búsqueda en función de la cantidad de presas en una planta puede causar cambios en su tipo de respuesta funcional. Al final, el estudio del sistema "tomate-*B. tabaci*-*D. catalinae*" demostró que la predicción del resultado de una liberación de depredadores en invernaderos puede ser más complicado que extrapolar las tasas de consumo observadas en condiciones de laboratorio. En particular, la aparente eficacia de *D. catalinae* como agente de control de *B. tabaci* puede verse afectada por el comportamiento de búsqueda de presas que este depredador exhibe en ambientes estructuralmente complejos (plantas) y por la distribución heterogénea de los parches de presas.

Otro depredador con una dieta relativamente especializada que es usado con relativo éxito en programas de control biológico en cultivos de invernadero es el ácaro *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae) (figura 9.4c). Hoy en día, este depredador está disponible comercialmente en Colombia y se usa con frecuencia para el control de la arañita roja *Tetranychus* spp., en cultivos de plantas ornamentales de invernadero en la sabana de Bogotá (Daza Vallejos, Bustos Rodríguez, Cantor Rincón, Rodríguez Caicedo, & Cure Hakim, 2010; De Vis & Barrera, 1999). *Phytoseiulus persimilis* se especializa en el ataque y consumo de diferentes estados de ácaros del género *Tetranychus*, el cual incluye varias especies plaga de plantas ornamentales y vegetales de invernadero. De hecho, las poblaciones de *P. persimilis* no pueden subsistir sin la presencia de poblaciones de *Tetranychus* spp. En ocasiones, *P. persimilis* resulta ser tan eficiente que llega a consumir virtualmente todas las presas disponibles, lo que conlleva su propia desaparición y la necesidad de eventuales reintroducciones en caso de que *Tetranychus* spp. reaparezca (Flint et al., 1998; Hilarión, Niño, Cantor, Rodríguez, & Cure, 2008). Este resultado, sin embargo, puede responder al tamaño del invernadero, ya que se ha observado que la complejidad estructural del ambiente y el tamaño del área donde ocurre la interacción entre depredadores y presas pueden afectar la respuesta funcional y numérica de los depredadores (Bergstrom & Englund, 2004; Freeman & Smith, 1990; Rincón et al., 2017; Stiling, Throckmorton, Silvanima, & Strong, 1991).

En particular, Nachman (2006a) demostró que la combinación entre la distribución por parches de *T. urticae* y el comportamiento de agregación de *P. persimilis* contribuye a la estabilización de las dinámicas depredador-presa en el tiempo. Nachman (2006a) sugirió que las dinámicas depredador-presa a escala local son propensas al colapso debido a que la tasa de mortalidad de *T. urticae* es constante (independientemente de la densidad de las presas). Sin embargo, a escala de múltiples parches, la mortalidad de *T. urticae* es baja cuando la densidad de sus poblaciones es baja, pero se incrementa conforme aumenta el número de individuos de *T. urticae* por unidad de área. Esta condición favorece el establecimiento de dinámicas depredador-presa estables en el tiempo (Berryman, 1999).

El mecanismo propuesto por Nachman (2006b) es que las poblaciones de *T. urticae* presentan distribuciones aleatorias (dispersas) en bajas densidades, pero tienden a agruparse conforme el número de individuos por unidad de área incrementa. Por su parte, los individuos de *P. persimilis* tienen una relativa dificultad para encontrar presas dispersas en el ambiente, pero tienen la capacidad de agregarse en respuesta a la agregación de *T. urticae*, lo que causa un incremento en su eficiencia de búsqueda y en las tasas de mortalidad de *T. urticae*. En consecuencia, en un ambiente lo suficientemente grande, la disposición de las poblaciones de *T. urticae* será los suficientemente dispersa (aleatoria) para reducir las tasas de depredación cuando la

densidad de la plaga sea baja. La capacidad de agregación de *P. persimilis* hará su trabajo para regular las poblaciones de *T. urticae* cuando estas incrementen con su nivel de agregación (Nachman, 2006b).

En conclusión, la efectividad de los depredadores en programas de control biológico de plagas dependerá, en buena medida, del comportamiento de forrajeo de estos en ambientes heterogéneos. Este comportamiento puede ser deducido, al menos parcialmente, de la diversidad de la dieta del depredador. Idealmente, en cultivos de invernadero, los depredadores empleados en programas de control biológico deben tener dietas más o menos especializadas. Además, deben tener la capacidad de responder numéricamente a la agregación de las poblaciones de las plagas. En el caso del sistema "tomate-*B. tabaci*-*D. catalinae*", las tasas de consumo en las plantas se reducen significativamente en comparación con aquellas observadas en el laboratorio, por cuenta de un alineamiento pobre entre la distribución de los parches de *B. tabaci* y las zonas que el depredador prefiere para buscar presas. Esto contrasta con la capacidad de *P. persimilis* para agregarse en respuesta a la distribución de *T. urticae* cuando la densidad de este último incrementa. Al final, la respuesta de cualquier depredador dependerá, en buena medida, del tamaño de la población de la plaga en el cultivo, por lo que la efectividad de estos agentes debe estudiarse a la luz de umbrales económicos definidos en el marco de un programa de manejo integrado de plagas (MIP). Este tema se trata en detalle en el capítulo 18 de este libro, "El control biológico en un contexto del manejo integrado de plagas estratégico".

Depredadores para el control biológico en libre exposición

Dentro de una estrategia de manejo integrado, el uso de depredadores en condiciones de campo puede contribuir al control sostenible de plagas. Al igual que los biocontroladores en condiciones de invernadero, los depredadores pueden ser utilizados en estrategias de tipo aumentativo o de conservación. En el control aumentativo, los depredadores son periódicamente introducidos en el cultivo, con el fin de prevenir o reducir el incremento de las poblaciones de la plaga (Hoy, 2008). En el control biológico por conservación, no se liberan enemigos naturales, sino que el hábitat o las prácticas agronómicas se adecúan, tanto en el cultivo como en el paisaje circundante, con el fin de hacerlos más favorables a la colonización y el establecimiento de los enemigos naturales ya presentes en el agroecosistema (Eilenberg, Hajek, & Lomer, 2001). En esta sección, se presenta la información más reciente sobre el uso de depredadores en los programas de control biológico en Colombia y se analizan las perspectivas para su implementación en planes de manejo integrado.

Control biológico aumentativo

Existe una amplia evidencia de la efectividad del control biológico aumentativo en cultivos a campo abierto en el neotrópico. Diferentes especies de parasitoides han sido ampliamente aplicados en el departamento del Valle del Cauca, con el fin de controlar poblaciones del barrenador de la caña de azúcar y otros lepidópteros plaga (Van Lenteren & Bueno, 2003). Así mismo, el uso de entomopatógenos es una actividad cada vez más habitual en diferentes sistemas agrícolas del país, por su efectividad para controlar poblaciones de insectos plaga (capítulos 5, 6 y 7 de este libro). Estas estrategias de control biológico aumentativo, además de reducir los efectos adversos asociados al uso de insecticidas de síntesis química, constituyen opciones económicamente viables que vienen siendo utilizadas en cultivos comerciales.

En contraste, el uso de depredadores en programas de control biológico aumentativo en Colombia ha estado limitado a la experimentación en condiciones de invernadero. Existen algunas iniciativas de investigación en desarrollo, orientadas a evaluar la viabilidad del uso de depredadores en programas de control biológico para libre exposición, pero el desconocimiento de las técnicas de producción masiva, así como los elevados costos de cría y liberación de los depredadores, son las principales dificultades para su implementación a escala comercial. El uso masivo de depredadores como estrategia de control requiere de relaciones colaborativas entre la agricultura y la industria, proceso que aún se encuentra en

sus primeras fases en Colombia. No obstante, la implementación exitosa de un programa de manejo de plagas forestales basado en el uso de depredadores en Brasil es un ejemplo real de las potencialidades de esta estrategia en la agricultura de libre exposición para los países latinoamericanos (Pires et al., 2015; Zanuncio, Tavares, Fernandes, Wilcken, & Zanuncio, 2014).

Control biológico por conservación

El control biológico por conservación presenta una situación paradójica en Latinoamérica. Por un lado, es —quizás inadvertidamente— la estrategia más utilizada en los sistemas de agricultura tradicional y de subsistencia (Trujillo, 1992), en donde existe mayor diversidad biológica y una mínima dependencia de insumos químicos. Por otro, es la estrategia menos reconocida por los agricultores. Entre el 50 % y el 90 % de las especies con potencial para adquirir el estatus de plaga es controlado por enemigos naturales nativos (Pimentel, 2005). Estas comunidades de enemigos naturales, depredadores que dominan numéricamente, reducen las poblaciones de la plaga y generan un impacto positivo en la producción agrícola.

En este sentido, el uso de depredadores presenta un enorme potencial dentro de las estrategias de control biológico por conservación, debido a que su ecología y comportamiento les proporcionan ventajas frente a los parasitoides. Por ejemplo, los depredadores tienen mayores posibilidades de colonizar tempranamente los cultivos y establecerse, ya que una dieta más amplia les permite sobrevivir y reproducirse con recursos provistos por fuentes alternativas, antes de la aparición de las plagas (Rosenheim, Limburg, & Colfer, 1999). Además, su naturaleza polífaga les permite reducir las poblaciones de la plaga a niveles muy bajos, sin que eso conlleve disminución de sus propias poblaciones (Symondson, Sunderland, & Greenstone, 2002).

El control biológico por conservación es especialmente relevante para el control de plagas endémicas. En los países latinoamericanos existe una considerable cantidad de insectos plaga endémicos, debido a la gran diversidad biológica (Trujillo, 1992). El registro histórico de los programas de control biológico sugiere que las plagas nativas son mejor controladas por un complejo de depredadores, mientras que los parasitoides especialistas son más promisorios en el control de plagas exóticas (Hawkins, Mills, Jervis, & Price, 1999). En este sentido, la conservación de depredadores es una estrategia ecológicamente apropiada para promover el manejo de plagas nativas. Además, también contribuye al manejo de plagas exóticas en circunstancias en las que el control biológico clásico no es efectivo (Symondson et al., 2002). Desde el punto de vista económico, los programas de control biológico por conservación son más viables, pues requieren menor inversión que los programas de control biológico aumentativo.

A pesar de estas ventajas, en Colombia no se ha evaluado suficientemente la efectividad de la conservación de depredadores, en la perspectiva de incorporarla como un componente formal dentro de una estrategia de MIP. La mayoría de estudios se han realizado en sistemas agroforestales perennes (como café y cacao) que, al estar sometidos a un menor grado de perturbación que los cultivos anuales, proporcionan condiciones más adecuadas para los depredadores. Por ejemplo, el uso del sombrío en cafetales favorece la presencia de hormigas depredadoras, que contribuyen a la reducción de la broca del café (Gallego-Ropero & Armbrecht, 2005). Del mismo modo, la presencia de árboles acompañantes en las plantaciones de cacao reduce la población de plagas chupadoras y de herbívoros masticadores (Rice & Greenberg, 2000), debido al incremento en las poblaciones de artrópodos depredadores y de vertebrados (murciélagos y aves) (Gras et al., 2016).

La conservación de depredadores puede llevarse a cabo por medio de diversas técnicas, de las cuales el manejo del hábitat es la más difundida. La idea esencial del manejo del hábitat es aumentar la diversidad vegetal en el agroecosistema, con el fin de proveer a los depredadores de alimento suplementario como néctar y polen, presas alternativas y sitios de refugio y anidamiento (Landis, Wratten, & Gurr, 2000). El incremento de la diversidad vegetal en el entorno local y el paisaje circundante no ejerce por sí mismo la acción de control de plagas, sino que promueve el incremento en la población y diversidad de depredadores. La siembra de franjas herbáceas florales alrededor o dentro del cultivo, los cultivos de cobertura y los mosaicos de cultivos

son ejemplos de prácticas de manejo del hábitat que promueven la diversidad de depredadores. En cuanto a las prácticas culturales, las más importantes son la reducción del uso de insecticidas de amplio espectro y la implementación de sistemas de labranza de conservación.

Otro aspecto para considerar en la conservación de depredadores es el contexto paisajístico. Muchas especies de depredadores presentan movimiento bidireccional entre las zonas de cultivo y las áreas naturales adyacentes; su capacidad de dispersión se extiende más allá de los límites espaciales del campo de cultivo. En general, los paisajes complejos, con una alta proporción de áreas naturales, albergan una mayor abundancia y diversidad de depredadores, por lo cual presentan mayores niveles de control biológico (Bianchi, Booij, & Tscharntke, 2006). Por esto, el manejo del hábitat y la estructura del paisaje circundante son determinantes para la diversidad y abundancia de depredadores.

En conclusión, el uso de depredadores para el control biológico aumentativo o de conservación es una estrategia promisoria para el manejo sostenible de insectos plaga en los cultivos de libre exposición en Colombia. Sin embargo, su uso es marginal dentro de las estrategias de control biológico actualmente utilizadas. Experiencias en todo el mundo indican que las estrategias de control biológico deben superar el paradigma de priorizar el uso de enemigos naturales especialistas (parasitoides) y considerar la importancia fundamental del complejo de depredadores como mecanismo complementario de control (Symondson et al., 2002). En efecto, algunos estudios han demostrado que, en ciertos sistemas de cultivo, el control ejercido por los depredadores es más importante que la acción de los parasitoides (Debach, 1946; Safarzoda, Bahlai, Fox, & Landis, 2014).

Estudios realizados en zonas agroecológicas en Colombia han identificado un número considerable de depredadores naturalmente asociados a una amplia gama de plagas. La fauna benéfica existente en el país es muy diversa y, manejada apropiadamente, puede contribuir al control de las poblaciones de insectos plaga. Sin embargo, se requiere un mayor conocimiento del comportamiento y eficiencia de estos depredadores en condiciones de campo, antes de que estas herramientas puedan ser transferidas a los productores.

Conclusiones y perspectivas

Los depredadores han sido utilizados para el control de plagas agrícolas desde los inicios del concepto moderno de control biológico. En Colombia, se usan con relativo éxito en cultivos de invernadero y de libre exposición. Algunas características de la biología de los depredadores, como la amplitud de la dieta y la elevada capacidad de consumo de presas por individuo, hacen de estos organismos excelentes candidatos como agentes de control de plagas. Sin embargo, el uso de depredadores en programas de control biológico aumentativo en Latinoamérica se limita al uso de algunos coccinélidos y de ácaros depredadores (Phytoseiidae). Esto contrasta con la amplia diversidad de parasitoides y microorganismos que se crían o propagan para el control de plagas en cultivos de invernadero y de libre exposición.

El comportamiento de búsqueda de presas asociado con la amplitud de la dieta de los depredadores es un factor que requiere ser estudiado y tenido en cuenta antes de seleccionar uno de ellos como agente de control biológico. En teoría, entre más específica sea la dieta de un depredador, mayor será la probabilidad de que un programa de control biológico por aumentación resulte en una rápida reducción de las poblaciones de la plaga. Sin embargo, depredadores con dietas específicas son indicados para cultivos transitorios o de invernadero, en los que el establecimiento no es un objetivo primordial. Por otro lado, la liberación de depredadores con dietas diversas puede ser menos eficiente en la reducción de poblaciones de plagas a corto plazo, pero presenta una mayor probabilidad de establecimiento y de favorecer, en consecuencia, un control biológico sostenido a largo plazo, sin la necesidad de llevar a cabo nuevas liberaciones.

El conocimiento de los hábitos y de la biología de los enemigos naturales es fundamental para la selección de los agentes y de la estrategia de control biológico adecuada (control biológico clásico o por aumentación). Este conocimiento debe ser analizado a la luz de un programa de manejo integrado de plagas (MIP), en el que se incluyan acciones complementarias que incrementen la probabilidad de obtener el resultado deseado. En cultivos de invernadero en los que se busque una reducción rápida de las poblaciones plaga por debajo del umbral económico puede incluirse la liberación de agentes de control que complementen la acción de un determinado depredador. En cultivos de libre exposición en los que se busque el establecimiento de una o varias especies de depredadores pueden incluirse estrategias de conservación de hábitats que provean los recursos necesarios para favorecer su supervivencia y reproducción a largo plazo. Al final, el éxito de cualquier programa de control biológico de plagas dependerá de la capacidad para comprender las complejas interacciones entre los organismos que habitan en los cultivos y para manipular sus propiedades en función de la sostenibilidad del sistema.

Agradecimientos

Los autores expresan su agradecimiento al Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural de Colombia (MADR) por la financiación de varios proyectos de investigación que resultaron en publicaciones, gracias a las cuales fue posible este capítulo. Un especial agradecimiento también a Stephanie Johana Numa Vergel (Agrosavia, Departamento de Laboratorios de Investigación y de Servicios) por la foto del ácaro depredador *Phytoseiulus persimilis*. Gracias, finalmente, a los revisores anónimos por sus comentarios, que ayudaron a mejorar el manuscrito.

Referencias

Adan Abrams, P. (2012). Predator-prey models. En A. Hastings & L. Gross (Eds.), *Encyclopedia of Theoretical Ecology* (pp. 587-594). Berkley, EE. UU.: University of California Press.

Aldana, J., Aldana, R. C., & Calvache, H. (2002). Manejo de *Leptopharsa gibbicarina* Froeschner, insecto inductor de la Pestalotiopsis [Boletín técnico N.° 16]. Bogotá, Colombia: Cenipalma.

Aldana, J., Calvache, H., & Arias, D. (2000). Programa comercial de manejo de *Leptopharsa gibbicarina* Froeschner (Hemiptera: Tingidae) con la hormiga *Crematogaster* spp., en una plantación de palma de aceite. *Palmas*, *21*(número especial), 167-173.

Aldana, J., Calvache, H., & Méndez, A. (1995). Distribución de hormigas y su efecto sobre *Leptopharsa gibbicarina* en una plantación de palma de aceite. *Palmas*, *16*(3), 19-23.

Aldana, R. C., Aldana, J., Calvache, H., & Arias, D. (1998). Papel de la hormiga *Crematogaster* sp. en el control de *Leptopharsa gibbicarina* en una plantación de palma de aceite. *Palmas*, *19*(4), 25-32.

Alterio, M. A. & Ramos, A. (2011). *Informe de visita de diagnóstico de la situación sanitaria en el Archipiélago de San Andrés, Providencia y Santa Catalina*. Recuperado de http://xn--elisleo-9za.com/index.php?option=com_content&view=article&id=2464:la-cochinilla-ide-que-se-trata&catid=41:ambiental&Itemid=83.

Andrade, M. E., Briceño, J. A., Muñoz, P., & Jiménez, J. (1989). Búsqueda y reconocimiento de los enemigos naturales y hospedantes alternos de las principales plagas. En flores bajo invernadero en la sabana de Bogotá. *Acta Biológica Colombiana*, *1*(5), 45-57. Recuperado de https://revistas.unal.edu.co/index.php/actabiol/article/view/21925.

Arias-Reverón, J. M. (1990). Notes on natural enemies attacking *Lepidosaphes* species [Homoptera: Diaspididae] associated with Citrus in Costa Rica. *Entomophaga*, *35*(2), 301-303.

Bacaër, N. (2011). Lotka, Volterra and the predator–prey system (1920–1926). En N. Bacaër (Ed.), *A short history of mathematical population dynamics* (pp. 71-76). Londres, Reino Unido: Springer London.

Barrios-Trilleras, C. E., Cuchimba-Triana, M. S., & Bustillo-Pardey, A. E. (2015). Parámetros poblacionales de *Leptopharsa gibbicarina* (Hemiptera: Tingidae) plaga de la palma de aceite. *Revista Colombiana de Entomología*, *41*(1), 1-5.

Bartlett, B. R. (1978). Margarodidae. En C.P. Clausen (Ed.), *Introduced parasites and predators of arthropod pests and weeds: a world review* (pp. 132-136). Washington, D.C., EE. UU.: Agricultural Research Service, United States Department of Agriculture.

Bellotti, A. C., Melo, E. L., Arias, B., Herrera, C. J., Hernández, M. P., Holguín, C. M. ... Trujillo, H. (2005, September). Biological control in the Neotropics: A selective review with emphasis on cassava. En M. S. Hoddle (Comp.), *Second international symposium on biological control of arthropods* (pp. 206-227). Davos, Switzerland.

Bellotti, A., Herrera, C. J., Hernández, M. P., Arias, B., Guerrero, J. M., & Melo, E. L. (2011). Casssava pests in Latin America, Africa and Asia. En R. H. Howeler (Ed.), *The cassava handbook, a reference manual based on the Asian regional cassava training course, held in Thailand* (pp. 199-257). Cali, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT).

Bergstrom, U. & Englund, G. (2004). Spatial scale, heterogeneity and functional responses. *Journal of Animal Ecology*, *73*(3), 487-493.

Berryman, A. (1999). Theoretical foundations of biological control. En B. A. Hawkins, & H. V. Cornell (Eds.), *Theoretical approaches to biological control* (pp. 3-21). Cambridge, Inglaterra: Cambridge University Press.

Bianchi, F., Booij, C. J. H., & Tscharntke, T. (2006). Sustainable pest regulation in agricultural landscapes: A review on landscape composition, biodiversity and natural pest control. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *273*(1595), 1715-1727.

Bianchi, F., Schellhorn, N. A., & Van Der Werf, W. (2009). Foraging behaviour of predators in heterogeneous landscapes: the role of perceptual ability and diet breadth. *Oikos*, *118*(9), 1363-1372.

Biobest. (2011). *Biological control: Beneficial insects and mites: Delphastus-System*. Recuperado de http://www.biobest.be/producten/179/3/0/0/.

Bolland, H. R., Gutiérrez, J., & Flechtmann, C. H. W. (1998). *World catalogue of the spider mite family (Acari: Tetranychidae)*. Leiden, Holanda: Brill Academic Publishers.

Bortoli, S. A., Venvenga, S. R., Gravena, S., & Miranda, J. E. (2001). Biologia de *Pentilia egena* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae) e predação sobre *Chrysomphalus ficus* Ashmead (Homoptera: Diaspididae). *Boletín de Sanidad Vegetal Plagas, 27*, 337-343.

Braun, A. R., Álvarez, J. M., Cuéllar, M. E., Duque, M. C., Escobar, J. R., Franco, C., ... Zuñiga, R. R. (1993). Inventario de ácaros fitófagos y sus enemigos naturales en el cultivo de la yuca en Ecuador. En A. R. Braun (Ed.), *Bases fundamentales para investigación sobre los ácaros plagas y sus enemigos naturales en el Ecuador. Documento de Trabajo No. 126* (pp. 1-51). Cali, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT).

Bueno, V. H. P. & Van Lenteren, J. C. (2002). *The popularity of augmentative biological control in Latin America: history and state of affairs*. Paper presented at the 1st International Symposium on Biological Control of Arthropods, Honolulu, Hawaii. Recuperado de https://www.bugwood.org/arthropod/day2/bueno.pdf.

Causton, C. E. (2004). Predicting the field prey range of an introduced predator, *Rodolia cardinalis* Mulsant, in the Galápagos. En R. G. Van Driesche & R. Reardon (Eds.), *Assessing host ranges for parasitoids and predators used for classical biological control: a guide to best practice. FHTET-2004-03* (pp. 195-223). Morgantown, EE. UU.: United States Department of Agriculture Forest Service.

Chapin, E. A. (1964). Las especies colombianas de *Cryptognatha* (Coleoptera: Coccinellidae). *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, 12*(46), 231-234.

Chávez, Y., Chirinos, D. T., González F., G., Lemos, N., Fuentes, A., Castro, R., & Kondo, T. (2017). *Tamarixia radiata* (Waterston) and *Cheilomenes sexmaculata* (Fabricius) as biological control agents of *Diaphorina citri* Kuwayama in Ecuador. *Chilean Journal of Agricultural Research, 77*(2), 180-184. doi:10.4067/S0718-58392017000200180.

Ciomperlik, M. (2010). *Crypticerya genistae* scale, an invasive pest in Puerto Rico. En *CPHST Biological Control Unit 2010 Annual Report* (pp. 33-34). Raleigh, EE. UU.: U. S. Department of Agriculture.

Coronado-Blanco, J. M., Ruiz-Cancino, E., & Marín-Jarillo, A. (2000). Registro de la asociación depredadora de *Zagloba beaumonti* Casey (Coleoptera: Coccinellidae) con *Unaspis citri* (Comstock) (Homoptera: Diaspididae). *Acta Zoológica Mexicana, 79*, 277-278.

Culik, M. P., Martins, D. S., Ventura, J. A., Peronti, A. L. B. G., Gullan, P. J., & T. Kondo. (2007). Coccidae, Pseudococcidae, Ortheziidae, and Monophlebidae (Hemiptera: Coccoidea) of Espírito Santo, Brazil. *Biota Neotropica, 7*(3), 1-5. doi:http://dx.doi.org/10.1590/S1676-06032007000300006 .

Daza Vallejos, M. A., Bustos Rodríguez, H. A., Cantor Rincón, F., Rodríguez Caicedo, D., & Cure Hakim, J. R. (2010). Criterios para la producción de *Phytoseiulus persimilis* (Parasitiformes: Phytoseiidae) bajo condiciones de invernadero. *Acta Biológica Colombiana, 15*(1), 37-46.

Debach, P. (1946). An insecticidal check method for measuring the efficacy of entomophagous insects. *Journal of Economic Entomology, 39*(6), 695-697. doi:https://doi.org/10.1093/jee/39.6.695.

De Barro, P. J., Liu, S.-S., Boykin, L. M., & Dinsdale, A. B. (2011). *Bemisia tabaci*: A statement of species status. *Annual Review of Entomology, 56*, 1-19. doi:10.1146/annurev-ento-112408-085504.

Demite, P. R., McMurtry, J. A., & De Moraes, G. J. (2014). Phytoseiidae database: a website for taxonomic and distributional information on phytoseiid mites (Acari). *Zootaxa, 3795*(5), 571-577. doi:10.11646/zootaxa.3795.5.6.

De Moraes, G. J. & Mesa, N. C. (1988). Mites of the family Phytoseiidae (Acari) in Colombia, with descriptions of three new species. *International Journal of Acarology, 14*(2), 71-88. doi:10.1080/01647958808683790.

Departamento Administrativo Nacional de Estadística (DANE). (2016). *Encuesta Nacional Agropecuaria ENA 2015. Boletín técnico*. Recuperado de https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/agropecuario/enda/ena/2015/boletin_ena_2015.pdf.

De Vis, R., & Barrera, A. J. (1999). Use of two predators *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot (Acari: Phytoseiidae) and *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae) for the biological control of *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) in roses in the Bogota plateau. *ISHS Acta Horticulturae (International Symposium on Cut Flowers in the Tropics), 482*, 259-268. doi:10.17660/ActaHortic.1999.482.38.

Eilenberg, J., Hajek, A., & Lomer, C. (2001). Suggestions for unifying the terminology in biological control. *Biocontrol, 46*(4), 387-400. doi:10.1023/A:1014193329979.

Etienne, J. & Matile-Ferrero, D. (2008). *Crypticerya genistae* (Hempel), nouveau danger en Guadeloupe (Hemiptera, Coccoidea, Monophlebidae). *Bulletin de la Société Entomologique d'Egypte, 113*(4), 517-520.

Evans, G., Kondo, T., Maya Álvarez, M. F., Hoyos Carvajal, L. M., Quiroz J. A., & Silva Gómez, M. (2012). First report of *Anagyrus kamali* Moursi and *Gyranusoidea indica* Shafee, Alam and Agarwal (Hymenoptera: Encyrtidae), parasitoids of the pink hibiscus mealybug *Maconellicoccus*

hirsutus (Green) (Hemiptera: Pseudococcidae) on San Andres Island, Colombia. *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria, 13*(2), 219-222. doi:10.21930/rcta.vol13_num2_art:260.

Flint, M. L., Dreistadt, S. H., & Clark, J. K. (1998). *Natural enemies handbook: The illustrated guide to biological pest control. UC Division of Agriculture and Natural Sciences.* Berkeley EE. UU.: University of California Press.

Freeman, B. E. & Smith, D. C. (1990). Variation of density-dependence with spatial scale in the leaf-mining fly *Liriomyza commelinae* (Diptera, Agromyzidae). *Ecological Entomology, 15*(3), 265-274. doi:10.1111/j.1365-2311.1990.tb00808.x.

Gaimari, S. D., Quintero, E. M., & Kondo, T. (2012). First report of *Syneura cocciphila* (Coquillett, 1895) (Diptera: Phoridae), as a predator of the fluted scale *Crypticerya multicicatrices* Kondo & Unruh, 2009 (Hemiptera: Monophlebidae). *Boletín del Museo de Entomología de la Universidad del Valle, 13*(2), 26-28.

Gallego-Ropero, M., & Armbrecht, I. (2005). Depredación por hormigas sobre la broca del café *Hypothenemus hampei* (Curculionidae: Scolytinae) en cafetales cultivados bajo dos niveles de sombra en Colombia. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología*, (76), 32-40.

García-Morales, M., Denno, B. D., Miller, D. R., Miller, G. L., Ben-Dov, Y., & Hardy, N. B. (2016). ScaleNet: A literature-based model of scale insect biology and systematics. Database: *The Journal of Biological Databases and Curation*, pii: bav118. doi:10.1093/database/bav118.

Geister, J., & Díaz, J. M. (1997). A field guide to the oceanic barrier reefs and atolls of the southwest Caribbean (Archipelago of San Andres and Providencia, Colombia). En H. A. Lessios & I. G. Macintyre (Eds.), *Proceedings of the 8th International Coral Reef Symposium Vol. 1* (pp. 235-262). Ciudad de Panamá: Smithsonian Tropical Research Institute.

Girling, D. J., Bennet, F. D., & Yassen, M. (1977). Biological control of the green mite *Mononychellus tanajoa* (Bondar) (Acarina: Tetranychidae) in Africa. En T. Brekelbaum, A. Bellotti, & J. C. Lozano (Eds.), *Proceedings of the Cassava Protection Workshop, 7-12 november, 1977* (pp. 165-170). Cali, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT).

González, F. C., Gómez Pacheco, M., Hernández Espinosa, D., & Rodríguez Tapia, J. (2010). Entomófagos asociados a las plagas citrícolas, *Lepidosaphes gloverii* Packard (Hemiptera: Diaspididae), *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) y *Diaphorina citri* (Kuwayama) (Hemiptera: Psyllidae) en naranjo Valencia. *Centro Agrícola, 37*(4), 59-65.

González F. G., & Kondo, T. (2014). Geographical distribution and phenotypic variation of *Anovia punica* Gordon (Coleoptera: Coccinellidae: Noviini), a predatory ladybeetle of fluted scales (Hemiptera: Coccoidea: Monophlebidae). *Insecta Mundi, 0398*, 1-6.

González, G., López, R., & Kondo, T. (2012). First report of *Delphastus quinculus* Gordon and *Diomus seminulus* (Mulsant) (Coleoptera: Coccinellidae) feeding on eggs and first-instar nymphs of *Crypticerya multicicatrices* Kondo & Unruh (Hemiptera: Monophlebidae). *Insecta Mundi, 0268*, 1-6.

González, J. G., Benítez, E. R., & López-Ávila, A. (2006). Efecto de la densidad del depredador de moscas blancas *Delphastus pusillus* (Le Conte) (Coleoptera: Coccinellidae) sobre su eficiencia de búsqueda. *Revista Colombiana de Entomología, 32*(1), 10-17.

Gordon, R. D. (1972). The tribe Noviini in the new world (Coleoptera: Coccinellidae). *Journal of the Washington Academy of Sciences, 62*(1): 23-31.

Gordon, R. D. (1985). The Coccinellidae (Coleoptera) of America north of Mexico. *Journal of The New York Entomological Society, 93*(1), 1-912.

Gras, P., Tscharntke, T., Maas, B., Tjoa, A., Hafsah, A., & Clough, Y. (2016). How ants, birds and bats affect crop yield along shade gradients in tropical cacao agroforestry. *Journal of Applied Ecology, 53*(3), 953-963. doi:https://doi.org/10.1111/1365-2664.12625.

Guzmán, L., Calvache, H., Aldana, J., & Méndez, A. (1997). Manejo de *Leptopharsa gibbicarina* Froeschner (Hemiptera: Tingidae) con la hormiga *Crematogaster* sp. en una plantación de palma de aceite. *Palmas, 18*(4), 19-26.

Harris, K. M. (1973). Aphidophagous Cecidomyiidae (Diptera): taxonomy, biology and assessments of field populations. *Bulletin of Entomological Research, 63*(2), 305-325. doi:https://doi.org/10.1017/S0007485300039080.

Hartnoll, R. G., Baine, M. S. P., Grandas, Y., James J., & Atkin, H. (2006). Population biology of the black land crab, *Gecarcinus ruricola*, in the San Andres archipelago, western Caribbean. *Journal of Crustacean Biology, 26*(3), 316-325.

Hawkins, B. A., Mills, N. J., Jervis, M. A., & Price, P. W. (1999). Is the biological control of insects a natural phenomenon? *Oikos, 86*(3), 493-506.

Heinz, K. M., Brazzle, J. R., Parrella, M. P., & Pickett, C. H. (1999). Field evaluations of augmentative releases of *Delphastus catalinae* (Horn) (Coleoptera: Coccinellidae) for suppression of *Bemisia argentifolii* Bellows & Perring (Homoptera: Aleyrodidae) infesting cotton. *Biological Control, 16*(3), 241-251. doi:10.1006/bcon.1999.0750.

Heinz, K. M. & Parrella, M. P. (1994). Biological control of *Bemisia argentifolii* (Homoptera, Aleyrodidae) infesting *Euphorbia pulcherrima* - evaluations of releases of *Encarsia luteola* (Hymenoptera, Aphelinidae) and *Delphastus pusillus* (Coleoptera, Coccinellidae). *Environmental Entomology, 23*(5), 1346-1353. doi:https://doi.org/10.1093/ee/23.5.1346.

Heinz, K. M. & Zalom, F. G. (1996). Performance of the predator *Delphastus pusillus* on *Bemisia* resistant and susceptible tomato lines. *Entomologia Experimentalis et Applicata, 81*(3), 345-352. doi:10.1046/j.1570-7458.1996.00105.x.

Hemchandra, O., Kalita, J., & Singh, K. (2010). Biodiversity of aphidophagous coccinellids and their role as bioindicators in agro-forest ecosystem. *The Bioscan, 1*(special issue), 115-122.

Herren, H. R. (1982). Distribution and economic importance of *Phenacoccus manihoti* and *Mononychellus tanajoa* in Africa. En H. R. Herren, R. N. Hennessey, & R. Bitterli (Eds.), *Biological control and host plant resistance to control the cassava mealybug and green mite in Africa. Proceeding of an International Workshop, December 6-10, 1982* (pp. 3-5). Ibadan, Nigeria: International Institute of Tropical Agriculture (IITA).

Hilarión, A., Niño, A., Cantor, F., Rodríguez, D., & Cure, J. R. (2008). Criterios para la liberación de *Phytoseiulus persimilis* Athias Henriot (Parasitiformes: Phytoseiidae) en cultivo de rosa. *Agronomía Colombiana, 26*(1), 68-77.

Hodek, I., Honek, A., & Van Emden, H. F. (Eds.). (2012). *Ecology and behaviour of the ladybird beetles (Coccinellidae)* (pp. 605). Oxford, Reino Unido: John Wiley & Sons.

Hodges, G. S. (2008). *Icerya genistae* Hempel (Hemiptera: Margarodidae): an emerging pest in south Florida. En M. Branco, J. C. Franco, & C. J. Hodgson (Eds.), *Proceedings of the XI International Symposium on Scale Insect Studies, Oeiras, Portugal, 24-27 September 2007* (p. 157). Lisboa, Portugal: ISA Press.

Hodges, G. S., Hodges, A. C., & Unruh, C. M. (2008). A new exotic pest for Florida's natural areas: *Crypticerya genistae* (Hemiptera: Monophlebidae). *Florida Entomologist, 91*(2), 335-337.

Hoelmer, K. A., & Pickett, C. H. (2003). Geographic origin and taxonomic history of *Delphastus* spp. (Coleoptera: Coccinellidae) in commercial culture. *Biocontrol Science and Technology, 13*(5), 529-535. doi:10.1080/09583150 31000141018.

Holling, C. S. (1961). Principles of insect predation. *Annual Review of Entomology, 6*, 163-182. doi:10.1146/annurev.en.06.010161.001115.

Howeler, R. H. (2011). Recent trends in production and utilization of cassava in Asia. En R. H. Howeler (Ed.), *The Cassava Handbook, A Reference Manual Based on the Asian Regional Cassava Training Course, Held in Thailand* (pp. 1-22). Cali, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT).

Hoy, M. A. (2008). Augmentative Biological Control. En J. L. Capinera (Ed.), *Encyclopedia of Entomology* (pp. 327-334). Dordrecht, Holanda: Springer.

Hughes-Schrader, S. & Monahan, D. F. (1966). Hermaphroditism in *Icerya zeteki* Cockerell, and the mechanism of gonial reduction in iceryine coccids (Coccoidea: Margarodidae Morrison). *Chromosoma, 20*(1), 15-31. doi:10.1007/BF00331895.

Hunter, C. D. (1998). *Suppliers of beneficial organisms in North America*. EE. UU., Sacramento, EE. UU.: California Environmental Protection Agency.

Imbachi, K., Mesa, C., Nora, C., Rodríguez, I. V., Gómez, I., Cuchimba, M., ... Carabalí, A. (2012). Evaluación de estrategias de control biológico de *Polyphagotarsonemus latus* (Banks) y *Phyllocoptruta oleivora* (Ashmead) en naranja Valencia. *Acta Agronómica, 61*(4), 364-370. doi:10.15446/acag.

Ingram, W. R. (1982). Potential for the biocontrol of green cassava mites in Africa. En H.R. Herren, R. N. Hennessey, & R. Bitterli (Eds.), *Biological control and host plant resistance to control the cassava mealybug and green mite in Africa. Proceeding of an International workshop, December 6-10, 1982* (pp.103-115). Ibadan, Nigeria: International Institute of Tropical Agriculture (IITA).

Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). (2010). *Plan para el manejo y mitigación del riesgo ocasionado por la cochinilla rosada (Maconellicoccus hirsutus) y la chinche acanalada (Crypticerya multicicatrices) en las islas de San Andrés y Providencia* (pp. 15). San Andrés, Colombia: ICA.

Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). (2015, diciembre). *Resolución No. 00002390. Declaración el estado de emergencia fitosanitaria en el territorio nacional por la presencia de adultos de Diaphorina citri infectados con la bacteria de la enfermedad del HLB*. Recuperado de https://goo.gl/AmFBe6.

Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). (2016). *Productos registrados, Bioinsumos - septiembre 23 de 2016*. Recuperado de https://goo.gl/urv2nL.

Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales (Ideam). (1995). *Datos de las variables climáticas de la isla de San Andrés, Providencia y Santa Catalina* (p. 70). Bogotá, Colombia: Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales.

Ives, A. R., Kareiva, P., & Perry, R. (1993). Response of a predator to variation in prey density at 3 hierarchical scales: Lady beetles feeding on aphids. *Ecology, 74*(7), 1929-1938. doi:10.2307/1940836.

Kondo, T. (2001). Las cochinillas de Colombia (Hemiptera: Coccoidea). *Biota Colombiana, 2*(1), 31-48.

Kondo, T. (2008). Las escamas de la guanábana: *Annona muricata* L. *Novedades Técnicas, Revista Regional, Corpoica, Centro de Investigación Palmira, 9*(10), 25-29.

Kondo, T., González F., G., & Guzmán-Sarmiento, Y. C. (2017). Capítulo I. Enemigos naturales de *Diaphorina citri*. En T. Kondo (Ed.), *Protocolo de cría y liberación de Tamarixia radiata Waterston (Hymenoptera: Eulophidae)* (pp. 23-32). Mosquera, Colombia: Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica).

Kondo, T., González, G., Tauber, C., Guzmán-Sarmiento, Y. C., Vinasco-Mondragon, A. F., & Forero, D. (2015). A checklist of natural enemies of *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) in the department of Valle del Cauca, Colombia and the World. *Insecta Mundi*, *0457*, 1-14.

Kondo, T., Gullan, P. J., Peronti, A. L. B. G., Ramos-Portilla, A. A., Caballero, A., & Pretelt, N. V. (2016a). First records of the iceryine scale insects *Crypticerya brasiliensis* (Hempel) and *Crypticerya genistae* (Hempel) (Hemiptera: Monophlebidae) for Colombia. *Insecta Mundi*, *0480*, 1-9.

Kondo, T., Gullan, P. J., Watson, G. W., Bustillo Pardey, A. E., & Montes, L. G. (2015). New distribution and host records for white coconut scale, *Parlagena bennetti* Williams (Hemiptera: Diaspididae). *Insecta Mundi*, *0422*, 1–6.

Kondo, T., Gullan, P., & Ramos Portilla, A. A. (2012a). Report of new invasive scale insects (Hemiptera: Coccoidea), *Crypticerya multicicatrices* Kondo & Unruh (Monophlebidae) and *Maconellicoccus hirsutus* (Green) (Pseudococcidae), on the islands of San Andres and Providencia, Colombia, with an updated taxonomic key to iceryine scale insects of South America. *Insecta Mundi*, *0265*, 1-17.

Kondo, T., Gullan, P., González, G. (2014). An Overview of a fortuitous and Efficient biological control of the Colombian fluted scale, *Crypticerya multicicatrices* Kondo & Unruh (Hemiptera: Monophlebidae: Iceryini), on San Andres Island, Colombia. *Acta Zoologica Bulgarica, supp., 6*, 87-93.

Kondo, T., Peronti, A. L., Kozár F., & Szita, E. (2012b). Capítulo 7. Los insectos escama asociados a los cítricos, con énfasis en *Praelongorthezia praelonga* (Douglas) (Hemiptera: Coccoidea: Ortheziidae). En C. P. Pássaro Carvalho (Ed.), *Cítricos: cultivo, poscosecha e industrialización* (pp. 173-189). Itagüí, Colombia: Editorial Artes y Letras S. A. S.

Kondo, T., Peronti, A.L., Kozár, F., & Szita, E. (2013). Chapter 17. The citrus orthezia, *Praelongorthezia praelonga* (Douglas) (Hemiptera: Ortheziidae), a potential invasive species. En J. E. Peña (Ed.), *Potential invasive pests of agricultural crops* (pp. 301-319). Wallingford, Reino Unido: CAB International.

Kondo T., Ramos-Portilla, A. A., Peronti, A. L. B. G., & Gullan, P. J. (2016b). Known distribution and pest status of fluted scale insects (Hemiptera: Monophlebidae: Iceryini) in South America. *Redia, Journal of Zoology*, *99*, 187-195. doi:http://dx.doi.org/10.19263/REDIA-99.16.24.

Kondo-Rodríguez, D. T. (2009). Los insectos escama (Hemiptera: Coccoidea) del mango, *Mangifera indica* L. (Anacardiaceae) en Colombia. *Novedades Técnicas, Revista Regional. Corpoica, Centro de Investigación Palmira*, *10*(13), 41-44.

Kondo, T., & Unruh, C. (2009). A new species of *Crypticerya* Cockerell (Hemiptera: Monophlebidae) from Colombia, with a key to species of the tribe Iceryini found in South America. *Neotropical Entomology*, *38*(1), 92-100. doi:10.1590/S1519-566X2009000100009.

Krivan, V. (2008). Dispersal dynamics: Distribution of lady beetles (Coleoptera: Coccinellidae). *European Journal of Entomology*, *105*(3), 405-409. doi:10.14411/eje.2008.051.

Landis, D. A., Wratten, S. D., & Gurr, G. M. (2000). Habitat management to conserve natural enemies of arthropod pests in agriculture. *Annual Review of Entomology*, *45*, 175-201. doi:10.1146/annurev.ento.45.1.175.

Le Caltagirone, A., & Doutt, R. L. (1989). The history of the vedalia beetle importation to California and its impact on the development of biological control. *Annual Review of Entomology*, *34*, 1-16. doi:10.1146/annurev.en.34.010189.000245.

Legaspi, J. C., Legaspi, B. C., Simmons, A. M., & Soumare, M. (2008). Life table analysis for immatures and female adults of the predatory beetle, *Delphastus catalinae*, feeding on whiteflies under three constant temperatures. *Journal of Insect Science*, *8*, 7. doi:10.1673/031.008.0701.

León, G., & Kondo, T. (2017). *Insectos y ácaros de los cítricos; Guía ilustrada de especies dañinas y benéficas, con técnicas para el manejo integrado de plagas* (pp. 182). Mosquera, Colombia: Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica).

Lima, I. M. M. (1999). *Ciclo de vida de Zagloba beaumonti Casey, 1899 (Coleoptera: Coccinellidae) como predador de Diaspis echinocacti (Bouché, 1833) (Hemiptera: Diaspididae): Duração, sobrevivência e fertilidade* (tesis de doctorado). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, Brasil.

Lyon, W. F. (1973). A plant-feeding mite *Mononychellus tanajoa* (Bondar) (Acarina: Tetranychidae) new to the African continent threatens cassava (*Manihot esculenta* Crantz) in Uganda, East Africa. *PANS Pest Articles and News Summaries*, *19*(1), 36-37. doi:10.1080/09670877309412727.

McMurtry, J. A., De Moraes, G. J., & Sourassou, N. F. (2013). Revision of the lifestyles of phytoseiid mites (Acari: Phytoseiidae) and implications for biological control strategies. *Systematic and Applied Acarology*, *18*(4), 297-320. doi:10.11158/saa.18.4.1.

Mead, F. W., & Fasulo, T. R. (2010). *Asian citrus psyllid, Diaphorina citri Kuwayama (Insecta: Hemiptera: Psyllidae)*. Recuperado de http://www.crec.ifas.ufl.edu/extension/greening/pdf/asiaticcitruspsyllid.pdf.

Michaud, J. P. (2001). Numerical response of *Olla v-nigrum* (Coleoptera: Coccinellidae) to infestations of Asian citrus psyllid (Hemiptera: Psyllidae) in Florida. *Florida Entomologist*, *84*(4), 608-612. doi:10.2307/3496392.

Michaud, J. P. (2002). Invasion of the Florida citrus ecosystem by *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae) and asymmetric competition with a native species, *Cycloneda sanguinea*. *Environmental Entomology*, *31*(5), 827-835. doi:10.1603/0046-225X-31.5.827.

Michaud, J. P. & Olsen, L. E. (2004). Suitability of Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*, as prey for ladybeetles. *BioControl*, *49*(4), 417-431. doi:10.1023/B:BICO.0000034605.53030.db.

Migeon, A., Nouguier, E., & Dorkeld, F. (2011). Spider mites web: A comprehensive database for the Tetranychidae. En M. W. Sabelis, & J. Bruin (Eds.), *Trends in Acarology. Proceedings of the 12th International Congress* (pp. 557-560). Dordrecht, Holanda: Springer.

Montañez, M. L., Calvache, H., Luque, J. E., & Méndez, A. (1997). Control biológico de *Leptopharsa gibbicarina* (Hemiptera: Tingidae) con la hormiga *Crematogaster* sp. (Hymenoptera: Formicidae) en palma de aceite. *Revista Palmas*, *18*(1), 23-30.

Muñoz, K., Manrique, M. B., Sotelo-Cardona, P., Gaimari, S. D., & Kondo, T. (2018). Notes on the morphology and biology of *Syneura cocciphila* (Coquillett) (Diptera: Phoridae) a predator of *Crypticerya multicicatrices* Kondo & Unruh (Hemiptera: Monophlebidae). *Journal of Insect Science*, *18*(1), 1-5. doi:10.1093/jisesa/iex110.

Nachman, G. (2006a). The effects of prey patchiness, predator aggregation, and mutual interference on the functional response of *Phytoseiulus persimilis* feeding on *Tetranychus urticae* (Acari: Phytoseiidae, Tetranychidae). *Experimental and Applied Acarology*, *38*(2-3), 87-111. doi:10.1007/s10493-006-7209-4.

Nachman, G. (2006b). A functional response model of a predator population foraging in a patchy habitat. *Journal of Animal Ecology*, *75*(4), 948-958. doi:10.1111/j.1365-2656.2006.01114.x.

Nicholls, C. I., Parrella, M. P., & Altieri, M. A. (1998). Advances and perspectives in the biological control of greenhouse pests with special reference to Colombia. *Integrated Pest Management Reviews*, *3*(2), 99-109. doi:10.1023/A:1009695730407.

Palomares-Pérez, M., Rodríguez-Vélez, B., Ayala-Zermeño, M. A., De la Cruz-Llanas, J. J., Mendoza-Castañeda, A. M., Sánchez-González, J.A., ... Cordoba-Urtíz, E. G. (2016). Aspectos biológicos y capacidad de depredación de *Exochomus marginipennis* (LeConte) (Coleoptera: Coccinellidae) sobre *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae). *Chilean Journal of Agricultural & Animal Sciences*, *32*(2), 102-109. doi:10.4067/S0719-38902016000200003.

Parsa, S., Hazzi, N. A., Chen, Q., Lu, F., Campo, B. V. H., Yaninek, J. S., & Vásquez-Ordóñez, A. A. (2015). Potential geographic distribution of two invasive cassava green mites. *Experimental and Applied Acarology*, *65*(2), 195-204. doi:10.1007/s10493-014-9868-x.

Pérez, R., García-González, J., & Cotes, A. M. (2008). Effect of a biopesticide on the predatory activity of *Delphastus pusillus* (Coleoptera: Coccinellidae). *Revista Colombiana de Entomología*, *34*(2), 176-181.

Pimentel, D. (2005). Environmental and economic costs of the application of pesticides primarily in the United States. *Environment, Development and Sustainability*, *7*(2), 229-252. doi:10.1007/s10668-005-7314-2.

Pinchao, E. C., Kondo, T., & González F., G. (2015). *Rodolia cardinalis* (Mulsant) (Coleoptera: Coccinellidae), a new predator of *Crypticerya multicicatrices* Kondo and Unruh (Hemiptera: Monophlebidae). *Insecta Mundi*, *0431*, 1-7.

Pinchao, E. C., Sotelo, P., González, G., & Kondo, T. (2017). Biological data on *Anovia punica* Gordon (Coleoptera: Coccinellidae), a predator of *Crypticerya multicicatrices* Kondo & Unruh (Hemiptera: Monophlebidae). *Neotropical Entomology*, 1-10. doi:https://doi.org/10.1007/s13744-017-0561-8.

Pires, E., Soares, M., Nogueira, R. M., Zanuncio, J. C., Moreira, P. S., & Oliveira, M. A. (2015). Seven decades of studies with *Asopinae predators* in Brazil. *Bioscience Journal*, *31*(5), 1530-1549. doi:10.14393/BJ-v31n5a2015-27335.

Quiroga, I. A., Maya, M. F., Martínez, A. S., & Hoyos, L. M. (2011). *Paecilomyces* sp. como alternativa de control biológico de la cochinilla acanalada (*Crypticerya multicicatrices* Cockerell) en San Andrés (Colombia). *Boletín del Museo Entomológico Francisco Luís Gallego*, *3*(4), 10-17.

Ramos-Portilla, A. A., & Caballero, A. (2017). Diaspididae en *Citrus* spp. (Rutaceae) de Colombia: Nuevos registros y una clave taxonómica para su identificación. *Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín*, *70*(2), 8139-8154. doi:10.15446/rfna.v70n2.64519.

Rice, R. A., & Greenberg, R. (2000). Cacao cultivation and the conservation of biological diversity. Ambio: *A Journal of the Human Environment*, *29*(3), 167-173. doi:10.1579/0044-7447-29.3.167.

Rincón, D. F., Cañas, L. A., & Hoy, C. W. (2016). Intra-plant spatial interaction between *Delphastus catalinae* (Coleoptera: Coccinellidae) and *Bemisia tabaci* biotype B (Hemiptera: Aleyrodidae) and its effect on predation rates. *Biological Control*, *95*, 13-22. doi:10.1016/j.biocontrol.2015.12.010.

Rincón, D. F., Cañas, L. A., & Hoy, C. W. (2017). Modeling changes in predator functional response to prey across spatial scales. *Theoretical Ecology*, *10*(4), 403-415. doi:10.1007/s12080-017-0338-z.

Rincón, D. F., Hoy, C. W., & Cañas, L. (2015). Generating within-plant spatial distributions of an insect herbivore based on aggregation patterns and per-node infestation probabilities. *Environmental Entomology*, *44*(2), 194-209. doi:10.1093/ee/nvu022.

Rincón-Vitova Insectaries, Inc. (2011). *Dephastus cataliane: Whitefly predator*. Recuperado de http://www.rinconvitova.com/bulletins_product_pdf/Delphastus_BUL.pdf.

Rodas, C. A., Serna, R., Bolaños, M. D., Granados, G. M., Wingfield, M. J., & Hurley, B. P. (2014). Biology, incidence and host susceptibility of *Pineus borneri* (Hemiptera: Adelgidae) in Colombian pine plantations. *Southern Forests: A Journal of Forest Science*, *77*(3), 165-171. doi:10.2989/20702620.2014.1001662.

Rosenheim, J. A., Limburg, D. D., & Colfer, R. G. (1999). Impact of generalist predators on a biological control agent, *Chrysoperla carnea*: Direct observations. *Ecological Applications*, *9*(2), 409-417. doi:10.1890/1051-0761(1999)009[0409:IOGPOA]2.0.CO;2.

Safarzoda, S., Bahlai, C. A., Fox, A. F., & Landis, D. A. (2014). The role of natural enemy foraging guilds in controlling cereal aphids in Michigan wheat. *Plos One*, *9*(12), e114230. doi:10.1371/journal.pone.0114230.

Shivankar, V. J., & Rao, C. N. (2010). Psyllids and their management. *Pest Management in Horticultural Ecosystems*, *16*(1), 1-4.

Silva-Gómez, M., Quiroz-Gamboa, J. A., Yepes, F. C., Maya, M. F., Santos, A., & Hoyos-Carvajal, L. M. (2013). Incidence evaluation of *Crypticerya multicicatrices* and *Maconellicoccus hirsutus* in Colombian Seaflower Biosphere Reserve. *Agricultural Sciences*, *4*(12), 654-665. doi:10.4236/as.2013.412088.

Silva-Gómez, M., Quiroz-Gamboa, J.A., Hoyos-Carvajal, L.M., Yepes-R., F.C., Maya-A., M.F. & Santos-M., A. (2017). Coccinélidos depredadores de *Crypticerya multicicatrices* (Hemiptera: Monophlebidae) en San Andrés Isla, Colombia. *Boletín Científico Centro de Museos Museo de Historia Natural, Universidad de Caldas*, *21*(1), 165-173. doi:10.17151/bccm.2017.21.1.13.

Smith, L. & Bellotti, A. C. (1996). *Successful biocontrol projects with emphasis on the neotropics*. Recuperado de http://web.entomology.cornell.edu/shelton/cornell-biocontrol-conf/talks/bellotti.html.

Sotelo, P., & Kondo, T. (2017). On the biology of the Colombian fluted scale, *Crypticerya multicicatrices* Kondo & Unruh (Hemiptera: Monophlebidae). *Neotropical Entomology*, *46*(4), 433-441. doi:10.1007/s13744-016-0463-1.

Stiling, P., & Cornelissen, T. (2005). What makes a successful biocontrol agent? A meta-analysis of biological control agent performance. *Biological Control*, *34*(3), 236-246. doi:10.1016/j.biocontrol.2005.02.017.

Stiling, P., Throckmorton, A., Silvanima, J., & Strong, D. R. (1991). Does spatial scale affect the incidence of density dependence: A field-test with insect parasitoids. *Ecology*, *72*(6), 2143-2154. doi:10.2307/1941566.

Suárez-Rubio, M., & Suárez, M. F. (2004). The use of the copepod *Mesocyclops longisezus* as a biological control agent for *Aedes aegypti* in Cali, Colombia. *Journal of the American Mosquito Control Association*, *20*(4), 401-404.

Symondson, W. O. C., Sunderland, K. D., & Greenstone, M. H. (2002). Can generalist predators be effective biocontrol agents? *Annual Review of Entomology*, *47*, 561-594. doi:10.1146/annurev.ento.47.091201.145240.

Trujillo, J. (1992). Control biológico por conservación: enfoque relegado. Perspectivas de su desarrollo en Latinoamérica. *Memorias del IV Congreso Internacional de Manejo de Plagas* Ceiba (Honduras), 33(1A), 17-26.

Urano, S., Shima, K., Hongo, K., & Susuki, Y. (2003). A simple criterion for successful biological control on annual crops. *Population Ecology*, *45*(2), 97-103. doi:10.1007/s10144-003-0142-z.

Valenzuela, G. (1993). Aspectos históricos del control biológico. En F. Palacios (Ed.), *Control biológico en*

Colombia: historia, avances y proyecciones (pp. 1-8). Palmira, Colombia: Universidad Nacional de Colombia.

Van Lenteren, J. C. (2012). The state of commercial augmentative biological control: plenty of natural enemies, but a frustrating lack of uptake. *Biocontrol, 57*(1), 1-20. doi:10.1007/s10526-011-9395-1.

Van Lenteren, J. C., & Bueno, V. H. P. (2003). Augmentative biological control of arthropods in Latin America. *Biocontrol, 48*(2), 123-139. doi:10.1023/A:1022645210394.

Van Lenteren, J. C., Bolckmans, K., Köhl, J., Ravensberg, W. J., & Urbaneja, A. (2018). Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. *Biocontrol, 63*(1), 39-59. doi:10.1007/s10526-017-9801-4.

Velásquez, V. H., Núñez, B., & García, R. F. (1992). *Avances en el reconocimiento y evaluación de agentes benéficos de Orthezia praelonga Douglas*. Ponencia presentada en el XIX Congreso de Socolen, Colombia, Manizales.

Vélez, R. (1997). *Plagas agrícolas de impacto económico en Colombia: bionomía y manejo integrado*. Medellín, Colombia: Editorial Universidad de Antioquia.

Yaninek, J. S. & Bellotti, A. C. (1987). Exploration for natural enemies of cassava green mites based on agrometeorological criteria. En D. Rijks & G. Mathys (Eds.), *Proceedings of the Sentinar on Agrometeorology and Crop Protection in the Lowly Humid and Sub-Humid Tropics, Cotonou, Benin, 7-11 July 1986* (pp. 69-75). Ginebra, Suiza: World Meteorological Organization.

Yaninek, J. S. & Herren, H. R. (1988). Introduction and spread of the cassava green mite, *Mononychellus tanajoa* (Bondar) (Acari: Tetranychidae), an exotic pest in Africa, and the search for appropriate control methods; a review. *Bulletin of Entomological Research, 78*(1), 1-13.

Yaninek, J. S., Mégevy, B., de Moraes, G. J., Bakker, F., Braun, A., & Herren, H. R. (1991). Establishment of the neotropical predator *Amblyseius idaeus* (Acari: Phytoseiidae) in Benin, West Africa. *Biocontrol Science and Technology, 1*(4), 323-330. doi:10.1080/09583159109355211.

Yaninek, J. S., Onzo, A., & Ojo, J. B. (1993). Continent-wide releases of neotropical phytoseiids against the exotic cassava green mite in Africa. *Experimental and Applied Acarology, 17*(1-2), 145-160. doi:10.1007/BF00156950.

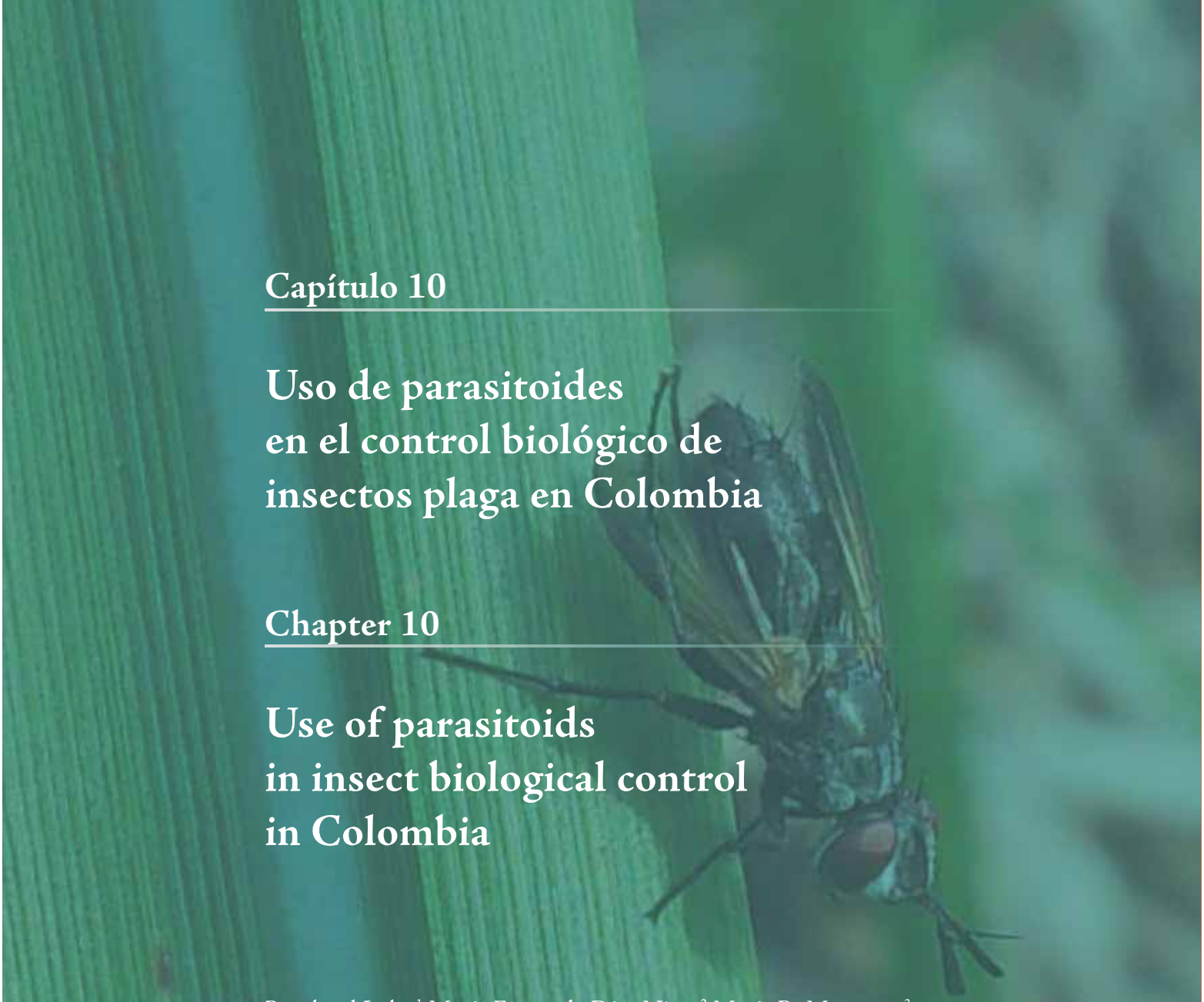
Yaninek, S. (2007). Biological control of the cassava green mite in Africa: Overcoming challenges to implementation. En C. Vincent, M.S. Goettel, & G. Lazarovits (Eds.), *Biological control: A global perspective* (pp. 28-37). Oxfordshire, Inglaterra: CAB International.

Yaninek, S. & Hanna, R. (2003). Cassava green mite in Africa–A unique example of successful classical biological control of a mite pest on a continental Scale. En P. Neuenschwander, C. Borgemeister, & J. Langewald (Eds.), *Biological control in IPM systems in Africa* (pp. 61-75). Oxfordshire, Inglaterra: CAB International.

Yaseen, M. (1982). Exploration for *Phenacoccus manihoti* and *Mononychellus tanajoa* natural enemies: The challenge, the achievements. *Proceedings Workshop on Biological Control and Resistance Breeding to Control Cassava Mealybug (Phenacoccus manihoti) and Green Spider Mite (Mononychellus tanajoa) in Africa*. Ibadan, Nigeria: International Institute of Tropical Agriculture.

Yaseen, M. & Bennett, F. D. (1976). Distribution, biology and population dynamics of the green cassava mite in the Neotropics. En J. H. Cock, R. MacIntyre, & M. Graham (Eds.), *Proceedings of the Fourth Symposium of the International Society for Tropical Root Crops* (pp. 196-202). Cali, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT).

Zanuncio, J. C., Tavares, W. S., Fernandes, B. V., Wilcken, C. F., & Zanuncio, T. V. (2014). Production and use of Heteroptera predators for the biological control of eucalyptus pests in Brazil. *Ekoloji, 23*(91), 98-104. doi:10.5053/ekoloji.2014.9112.



Capítulo 10

Uso de parasitoides en el control biológico de insectos plaga en Colombia

Chapter 10

Use of parasitoids in insect biological control in Colombia

Bernhard Löhr,[1] María Fernanda Díaz Niño,[2] María R. Manzano,[3] Consuelo Alexandra Narváez Vásquez,[1] María Isabel Gómez-Jiménez,[4] Arturo Carabalí,[1] Germán Vargas,[5] Takumasa Kondo,[1] Alex Enrique Bustillo Pardey[6]

[1] Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA)

[2] Instituto Colombiano Agropecuario (ICA)

[3] Universidad Nacional de Colombia

[4] Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT)

[5] Centro de Investigación de la Caña de Azúcar de Colombia (Cenicaña)

[6] Centro Nacional de Investigación de la Palma de Aceite (Cenipalma)

Contenido

Introducción 489

Parasitoides nativos 491

Parasitoides del género *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) como controladores biológicos de plagas 491

Parasitoides de mosca blanca 495

Parasitoides de moscas de las frutas en Colombia 499

Parasitoides como controladores de *Erinnyis ello* 507

Fidiobia sp., parasitoide del picudo de los cítricos, *Compsus viridivittatus* (Coleoptera: Curculionidae) 509

Uso de parasitoides exóticos para el control de insectos nativos: el caso de la caña de azúcar 512

Los barrenadores del tallo *Diatraea* y su control biológico mediante parasitoides de huevos y larvas 513

Tamarixia radiata (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae), parasitoide del psílido asiático de los cítricos, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) 518

Control biológico clásico 520

Parasitoides de origen africano para el control de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) en Colombia 520

Uso de parasitoides colombianos en otros países 528

Conclusiones y perspectivas 530

Agradecimientos 531

Referencias 532

Resumen

En este capítulo se presenta la historia de uso de parasitoides para el control biológico de plagas en Colombia con estudios de casos, cubriendo especies de parasitoides nativos y su conservación; control biológico inundativo o inoculativo con liberaciones repetidas de parasitoides himenópteros y dípteros en caña de azúcar y cultivos transitorios, y control biológico clásico con parasitoides introducidos o exóticos en cultivos perennes. Asimismo, se presenta la industria de producción de parasitoides y una lista de especies comercializadas.

Palabras clave

Control biológico inoculativo, inundativo y clásico, parasitoides, producción comercial de parasitoides

Abstract

The history of parasitoid use for biological control of pest insects in Colombia is documented with case studies covering indigenous parasitoid species and their conservation; inoculative biocontrol through repeated releases of hymenopterous and dipterous parasitoids in sugarcane and annual field crops; and classical biological control with introduced or exotic parasitoids in perennial crops. An overview of the biocontrol industry in Colombia and a list of the parasitoid species commercially available is presented.

Keywords

Inoculating, inundative and classic biological control, parasitoids, commercial production of parasitoids

Introducción

El término *parasitoide* tiene su origen en una publicación de Reuter, Buch y Buch (1913) y fue introducido para distinguir a los insectos que viven como parásitos en su estado larval de otros insectos o artrópodos en una relación que siempre termina con la muerte del huésped. Esta característica los distingue de los parásitos que pueden convivir con sus huéspedes por mucho tiempo y generalmente no causan la muerte. Los parasitoides son parte de la gama de organismos controladores de plagas que existen naturalmente en todos los ecosistemas y que contribuyen a mantener un equilibrio entre las plantas y sus plagas: el control biológico.

Colombia puede ser considerado uno de los pioneros de control biológico en América Latina. En 1933, para el control del áfido lanudo del manzano, *Eriosoma lanigerum* (Hausmann) (Hemiptera: Aphididae), se introdujo el primer agente de control biológico proveniente de los Estados Unidos, la avispita *Aphelinus mali* (Haldeman) (Hymenoptera: Aphelinidae) (Hagen & Franz, 1973). Pocos años más tarde fue introducida la mariquita *Rodolia cardinalis* (Mulsant) (Coleoptera: Coccinellidae), que eliminó un brote de una escama acanalada, probablemente *Icerya purchasi* (Maskell) (Hemiptera: Monophlebidae), que había sido introducida accidentalmente en Bogotá, con la importación de acacias ornamentales (Valenzuela, 1993).

En estos dos casos se trata de control biológico clásico, o sea la introducción de enemigos naturales exóticos para el control de plagas exóticas introducidas accidentalmente. Pero en Colombia existe también un volumen considerable de estudios de enemigos naturales locales. En una revisión de los estudios publicados en la *Revista Colombiana de Entomología* se encontró una gran variedad de trabajos: desde el simple registro de especies benéficas (depredadores, parasitoides, bacterias, hongos, nemátodos y virus) en muestreos de campo, hasta su uso para la mitigación del daño causado por varias plagas en diferentes cultivos. El enfoque de estos estudios ha cambiado través del tiempo, pasando de la investigación de parasitoides y depredadores, prevalentes en el período 1975-1994, a la investigación de entomopatógenos, particularmente hongos, en el período 1995-2009 (tabla 10.1).

Tabla 10.1. Artículos publicados en la *Revista Colombiana de Entomología* sobre agentes de control biológico entre 1975 y 2016

Número de artículos publicados de agentes de control biológico						
Año de publicación	Depredadores	Parasitoides	Bacterias	Hongos	Nemátodos	Virus
1975-1979	1	11	1	1	1	0
1980-1984	1	8	0	3	1	0
1985-1989	7	10	0	3	0	3
1990-1994	15	10	4	11	2	0
1995-1999	4	16	9	25	4	0
2000-2004	11	9	6	37	5	0
2005-2009	7	4	1	15	5	5
2010-2014	16	18	2	7	9	2
2015-2016*	10	8	1	7	3	0
Total	**72**	**94**	**24**	**109**	**30**	**10**

* Hasta el volumen 42/1

Nota: Solamente se consideraron artículos de trabajos hechos en Colombia.

Fuente: Elaboración propia

La investigación de las diversas opciones de control biológico ha resultado en un número de empresas (tabla 10.2) que producen un amplio rango de agentes para el control biológico inundativo, es decir, la liberación repetida de números elevados de benéficos (o sus propágulos, en el caso de entomopatógenos) para contener problemas de plagas en el campo. El Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) lista entre las especies comercializadas 13 especies de parasitoides (11 Hymenoptera, 2 Diptera), cuatro especies de depredadores (2 crisopide, 1 antocoride y 1 ácaro) y 23 especies de entomopatógenos (12 hongos, 9 bacterias, 1 nemátodo y 1 virus) (Instituto Colombiano Agropecuario [ICA], 2016). No obstante, la situación regulatoria de la mayoría de estas especies es irregular; es decir, falta el registro de los productos ante la institución encargada: ICA.

Tabla 10.2. Producción comercial de parasitoides en Colombia

Especie de parasitoide	Plagas a parasitar	Número de empresas productoras y situación regulatoria
Amitus fuscipennis (MacGown & Nebeker)	Mosca blanca	1 sin registro
Billaea claripalpis (Wulp)	*Diatraea* spp. en arroz, caña de azúcar y maíz	2 sin registro
Cephalonomia stephanoderis Betrem	Broca del café	1 sin registro
Cotesia flavipes (Cameron)	Lepidoptera en arroz, caña de azúcar y maíz	4 sin registro
Encarsia formosa Gahan	Mosca blanca	1 sin registro
Lydella minense (Townsend)	*Diatraea* spp. en arroz, caña de azúcar y maíz	4 sin registro
Pachycrepoideus vindemmiae (Rondani)	Moscas de la fruta (*Anastrepha* spp., *Toxotrypana curvicauda*), moscas negras de la fruta (*Dasiops* spp.), otros	1 sin registro
Prorops nasuta Waterston	Broca del café	1 sin registro
Phymastichus coffea LaSalle	Broca del café	1 sin registro
Spalangia cameroni Perkins	Varias especies de moscas (*Musca domestica, Stomoxys calcitrans, Haematobia irritans*, y otros)	1 sin registro
Trichogramma atopovirilia Oatman & Platner	Lepidoptera (huevos, especialmente *Diatraea* spp.)	3 sin registro
Trichogramma exiguum Pinto & Platner	Lepidoptera (huevos, especialmente *Diatraea* spp., i.e., *D. tabernella, D. busckella, D. indigenella, D. saccharalis*)	3 registrados: BioAgro (Val*), Inbecol (Val), Productos Biológicos Perkins Ltda. (Val) 12 sin registro
Trichogramma pretiosum Riley	Lepidoptera (huevos) (*Alabama* sp., *Anticarsia* sp., *Cydia* sp., *Diatraea* spp., *Elasmopalpus* sp., *Heliothis* spp., *Erinnyis* sp., *Spodoptera* spp., *Sitotroga* sp., y otros)	4 sin registro

* Departamento del Valle del Cauca.

Fuente: Adaptada de ICA (2016)

En este capítulo se documentan ejemplos recientes de estudios de parasitoides de importantes plagas en la fruticultura y cultivos transitorios, y dos ejemplos de control biológico clásico en cultivos de altísima importancia para la economía nacional: el café y la caña de azúcar.

Parasitoides nativos

Los parasitoides nativos son los insectos controladores biológicos que existen naturalmente en un ecosistema y en muchos casos han coevolucionado con el sistema planta-herbívoro. Forman parte de la oferta ecosistémica local y su presencia frecuentemente se nota solamente después de su eliminación con aplicaciones disruptivas de insecticidas de espectro amplio.

Parasitoides del género *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) como controladores biológicos de plagas

María Fernanda Díaz Niño,
Instituto Colombiano Agropecuario

La familia Trichogrammatidae es actualmente una de las 20 familias que se agrupan en la Superfamilia Chalcidoidea. Un amplio número de especies de trichogrammatidos se encuentran distribuidos alrededor del mundo, parasitando huevos de al menos 200 especies de insectos, pertenecientes a 70 familias y 8 órdenes de insectos en diversos hábitats, desde acuáticos hasta arbóreos (Boivin, 2009; Jalali, 2013).

La familia incluye cerca de 650 especies descritas en 80 géneros (Rincón, 1999). Estos organismos han sido reportados principalmente como parasitoides de insectos del orden Lepidoptera, pero algunas especies pueden parasitar individuos de los órdenes: Coleoptera, Diptera, Hemiptera, Neuroptera y Thysanoptera; además, algunas especies pueden parasitar hospederos acuáticos como Dytiscidae, Notonectidae y Odonata mientras que el huevo está debajo de la superficie del agua, lo que denota una amplia adaptabilidad a diferentes ecosistemas (Boivin, 2009; Jalali, 2013). Los géneros mejor estudiados de la familia Trichogrammatidae son *Trichogramma* Westwood y Trichogrammatoidea Girault, ambos géneros exclusivamente parasitoides de huevos (Jalali, 2013).

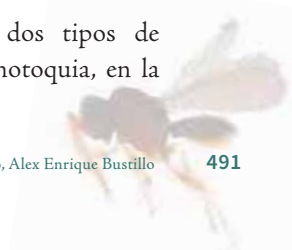
El género *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) fue descrito por Westwood en 1833 (citado por Basso & Pintureau, 2004), a partir de la especie *Trichogramma evanescens* como especie tipo. Se trata de pequeñas avispas parasitoides (de 0,5 mm aproximadamente) que se desarrollan en numerosas especies, principalmente del orden Lepidoptera, algunas de las cuales son plagas en sistemas productivos agrícolas y forestales (Pizzol, Pintureau, Khoualdia, & Desneux, 2010; Smith, 1996).

Pinto (1999) reportó que el género *Trichogramma* está conformado por al menos 180 especies. De acuerdo con el mismo autor, el mayor número de especies de *Trichogramma* se encuentra en Norteamérica (68), en la región paleártica (52) y en la región oriental (40), mientras que, en África Tropical, Australia, Nueva Zelanda y América del Sur, han sido registradas 33 especies. Querino y Zucchi (2005) reportaron 38 especies de *Trichogramma* para América del Sur, de las cuales 26 especies están presentes en el Brasil.

Características generales

Las avispas de este género constituyen un grupo de himenópteros endoparasitoides de huevos, lo que significa que se localizan y alimentan en el interior de su hospedante (Carballo & Guaharay, 2004; Rincón, 1999); además, son solitarias o gregarias e idiobiontes, es decir que el desarrollo del huésped se detiene o se reduce desde la parasitación (Resende & Penteado-Dias, 2003).

En el género *Trichogramma* existen dos tipos de reproducción: la más común es la arrenotoquia, en la



que huevos fertilizados producen hembras diploides y huevos no fertilizados producen machos haploides; la menos común es la telitoquia o partenogénesis completa, en la que huevos fertilizados y no fertilizados producen hembras diploides. En especies del género *Trichogramma*, la telitoquia puede ser causada por bacterias del género *Wolbachia* y se conoce como telitoquia reversible (Beserra, Querino, & Parra, 2003; Gerding & Torres, 2001).

Los huevos de las especies de *Trichogramma* son pequeños (de 0,1 a 0,4 mm de longitud y 0,3 a 0,5 mm de ancho), alargados y en algunas oportunidades expandidos centralmente, con ambos extremos redondos y suaves, o puede haber un pedúnculo en un extremo (Boivin, 2009; Jarjees & Merritt, 2002). Además, son hidrópicos y aumentan en tamaño justo después de la oviposición, debido a la absorción de nutrientes directamente del hospedante, a través de la membrana que recubre al huevo. A las 18 horas de la oviposición, el embrión está rodeado de dos envolturas: el corión y su propia exuvia embrionaria. Entre estas dos capas, es posible observar células libres y grandes núcleos (Boivin, 2009).

Posteriormente, durante el último estado de desarrollo embrionario, aún rodeado por la exuvia, inicia el movimiento activo del embrión, que con el tiempo producirá el rompimiento del corión y lo liberará en su huésped; durante este estado, se desarrollarán las mandíbulas que romperán la exuvia y permitirán la emergencia de la larva de primer instar (Boivin, 2009). Esta larva suele ser sacciforme, mientras que la de último instar suele ser robusta, claramente segmentada y sin espinas ni setas integumentales, pero con mandíbulas visibles (Boivin, 2009; Jarjees & Merritt, 2002). En promedio, la larva puede medir de 0,15 a 0,30 mm de longitud y de 0,08 a 0,12 mm de ancho, llegando a crecer hasta medir 0,50 mm de longitud y 0,30 mm de ancho (Boivin, 2009; Wu, Cohen, & Nordlund, 2000).

La pupación tiene lugar dentro de los restos del huevo de la especie hospedante, dando lugar a la emergencia del adulto a través de un agujero que realiza en el corión. El número de estadios o instares en Trichogrammatidae varía de uno a cinco, dependiendo de la especie; sin embargo, estudios recientes sugieren que, para el género *Trichogramma*, solo se desarrolla un estadio larvario (Boivin, 2009; Jarjees & Merritt, 2002; Wu et al., 2000).

Los adultos poseen coloraciones que varían entre el amarillo claro y el negro, dependiendo del alimento que consuman, de la especie hospedante y de la región geográfica en donde se desarrollen. Las hembras pueden ovipositar entre 20 y 70 huevos durante su vida. De estos, el 90 % es depositado durante las primeras 48 horas después de emergidas las hembras, ya que la cópula se produce casi inmediatamente después de la emergencia de los adultos (Boivin, 2009; Gerding & Torres, 2001). En la mayoría de las especies, los adultos emergen con un suplemento de energía limitado y sin acceso a recursos alimenticios como el néctar, por lo que mueren en pocos días; asimismo, el alimento disponible en los ecosistemas puede incrementar la fecundidad del parasitoide, incrementar la longevidad de los adultos y acelerar la tasa de maduración de los huevos (Díaz, Ramírez, & Poveda, 2012; Winkler, Wäckers, Bukovinszkine-Kiss, & Van Lenteren, 2006).

El comportamiento de localización y reconocimiento del hospedante es bien conocido en *Trichogramma* (Rincón, 1999). Si bien un huevo proporciona muy pocas señales que pueden ser utilizadas por el parasitoide para su localización, existen muchas otras señales que permiten a las especies del género *Trichogramma* ubicar a su hospedante (Vinson, 2010). Dentro de las señales que pueden ser utilizadas por los parasitoides para la ubicación rápida y exitosa del hospedante se encuentran aquellas emitidas por el sustrato o especie vegetal donde la hembra deposita sus huevos (señales volátiles asociadas a los proceso de alimentación, como masticación o perforación del tejido vegetal); las emitidas por la hembra durante la oviposición, y las utilizadas por la especie huésped para atraer al sexo opuesto o individuos de su misma especie, que incluyen feromonas sexuales y de agregación, así como sonidos y señales visuales (Bakthavatsalam, Tandon, & Bhagat, 2013; Ferreira, 2010; Rincón, 1999; Vinson, 2010).

Además, dentro de las especies que conforman la familia Trichogrammatidae, se han reportado casos de foresis, en los que el parasitoide localiza a la especie hospedante y lo utiliza como vehículo, a la espera de que este oviposite los huevos. En este caso, el parasitoide debe localizar a la hembra hospedante, para lo cual utiliza las señales químicas emitidas por las feromonas sexuales; una vez localizada a la hembra huésped, el parasitoide se adhiere en un lugar

seguro, por lo que se reporta que los parasitoides de lepidópteros prefieren las alas para ubicarse y ser transportados (Vinson, 2010).

Importancia dentro de los programas de control biológico

Los parasitoides del género *Trichogramma* son ampliamente utilizados dentro de los programas de control biológico de plagas en el mundo (Bueno, Bueno, Parra, Vieira, & Oliveira, 2010; Morales et al., 2007; Smith, 1996). En más de 50 países se han adelantado estudios con *Trichogramma*, y en al menos 32 millones de hectáreas comerciales se realizan liberaciones de estas especies anualmente (Pizzol et al., 2010; Smith, 1996).

La habilidad de las hembras de este grupo para reconocer un amplio rango de hospedantes como potenciales sitios de oviposición, la capacidad de las larvas de alimentarse de múltiples especies y la posibilidad de controlar las plagas antes de que estas afecten económicamente el cultivo le confieren características especiales al género (Beserra et al., 2003; Rincón, 1999).

Otras de las ventajas del uso de avispas del género *Trichogramma*, responsables de su amplio uso en programas de control biológico inundativo, son la posibilidad de cría masiva en hospedantes alternativos (principalmente sobre la especie *Sitotroga cerealella* (Olivier) (Lepidoptera: Gelechiidae); la longevidad de los adultos; la distribución cosmopolita; la fácil adaptación de las especies a las diversas condiciones de los agroecosistemas, y la eficacia económica demostrada (Bueno et al., 2010; Ferreira, 2010; Kalyebi et al., 2005; Ma & Chen, 2006; Siqueira, Bueno, Bueno, & Vieira, 2012).

La liberación de *Trichogramma* para el control biológico de plagas ha sido una estrategia implementada por más de 100 años; no obstante, la cría masiva de estas especies en Norte América solo se llevó a cabo después de 1920; en Suramérica, los primeros trabajos sobre cría masiva de parasitoides de *Trichogramma* se iniciaron en Perú, con el objeto de ser utilizados en programas de control de *Diatraea saccharalis* Fabricius (Lepidoptera: Crambidae) (Amaya & Zenner de Polania, 1976). En los años siguientes, la implementación de esta estrategia de control biológico fue disipada por el aumento en el uso de plaguicidas de síntesis química en el mundo (Smith, 1996).

Fue solo hasta 1937 y 1949 cuando investigadores de la antigua Unión Soviética y de la República Popular China, respectivamente, desarrollaron programas de Manejo Integrado de Plagas (MIP), utilizando agentes de control biológico del género *Trichogramma*, y solo fue hasta la década de los años sesenta en que los europeos y americanos incorporaron nuevamente esta tecnología como herramienta para la mitigación de organismos plaga (Orr & Such, 1998; Smith, 1996).

En Colombia, específicamente en 1961, el Instituto de Fomento Algodonero inició el programa de cría masiva de *Trichogramma*, que fue retomado en 1965 por la Federación Nacional de Algodoneros, entidad que instaló el laboratorio de cría de parasitoides en el departamento del Tolima. A partir de 1973, se reinició la producción masiva de avispitas en laboratorios ubicados en el departamento del Valle del Cauca (García & Jiménez, 1992).

Por otra parte, Valenzuela (1965), a través del Programa de Control Supervisado y el informe de labores implementado en la zona norte del Tolima durante la campaña algodonera, recopiló información correspondiente a las estrategias de cría y liberación de avispas del género *Trichogramma*. Posteriormente, esta información fue citada por el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA, 1975), en su documento técnico titulado "Cría masiva de la avispita *Trichogramma* sp.", en el que, además, se aporta información sobre las estrategias de liberación en sistemas productivos de algodón para el control de *Alabama argillacea* (Hübner), *Heliothis* spp. y *Sacadodes pyralis* Dyar (Lepidoptera: Noctuidae).

En la década de los años setenta, se inició el registro documental de los resultados obtenidos, a partir de las liberaciones de parasitoides del género *Trichogramma*, en sistemas productivos como el algodón en Colombia, evidenciándose resultados como la correlación directa entre el nivel de infestación de la plaga y el porcentaje de parasitismo de *Trichogramma australicum* (especie exótica introducida) y *T. pretiosum*, así como el comportamiento de los parasitoides liberados sobre las especies hospedantes *Alabama argillacea* y

Heliothis spp. (Lepidoptera: Noctuidae), y el efecto del uso de plaguicidas de síntesis química sobre las poblaciones de parasitoides (Guzmán, 1984).

En 1976, Amaya y Zenner de Polanía presentaron un recuento de las especies del género *Trichogramma* reportadas en Colombia, siendo *Trichogramma fasciatum* (Perkins), *T. perkinsi* Girault, *T. semifumatum* Perkins, *T. minutum* Riley, *T. evanescens* Westwood y *T. pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) las especies parasitoides reportadas como las que afectan poblaciones de diferentes lepidópteros plaga, en sistemas productivos como el algodón y la caña de azúcar.

Además, en ese trabajo, los autores presentan resultados correspondientes al porcentaje de parasitación en condiciones de cría cercano al 85 %, así como el porcentaje de emergencia que fue del 75 % y la relación de sexos de aproximadamente 1:1. Esta investigación permitió entender, con cifras concretas, algunas de las causas de la baja eficacia del control biológico percibida por productores, y permitió identificar la necesidad de incrementar el número de parasitoides efectivos por unidad de superficie, así como atender las recomendaciones para la cría y liberación de parasitoides en sistemas productivos agrícolas del país (Amaya & Zenner de Polania, 1976).

Amaya-Navarro (1977) documentó aspectos sobre la biología y morfología de las especies del género *Trichogramma* utilizadas en programas de control biológico de plagas en el país, y su uso potencial en el control de plagas en sistemas productivos como caña de azúcar, sorgo, maíz y yuca, así como aspectos relacionados con el efecto de la temperatura, de la precipitación y de la conservación, sobre la eficacia de *Trichogramma* spp.

Uno de los resultados más satisfactorios del uso de *Trichogramma* spp. en programas de control biológico de plagas en Colombia fue, sin lugar a duda, el obtenido en los programas de Manejo Integrado de Plagas en algodón y caña de azúcar. Es así como para 1981 se liberaron 611.090 pulgadas cuadradas de *Trichogramma*, en las 6.396 hectáreas sembradas en algodón e inscritas en la Federación de Algodoneros del municipio de Zarzal y aledaños a los sistemas productivos de caña de la empresa Riopaila SA. El promedio fue de 1,2 aplicaciones de insecticidas por hectárea, hasta llegar a 0,8 aplicaciones en 1984. Para esta misma región, el promedio de aplicaciones de insecticidas en 1975 era del orden de 12 aplicaciones por ciclo de siembra (Gaviria, Belloti, & Gaviria, 1986).

El proceso de investigación y documentación de la eficiencia de los programas de control biológico de plagas, mediante la implementación de especies nativas e introducidas al país, continuó durante las décadas de los años ochenta y noventa, a través de trabajos como los realizados por Gaviria et al. (1986), que resaltó la mayor eficacia en el control biológico de los barrenadores de la caña de azúcar ejercido por los parasitoides de larvas (Diptera: Tachinidae) en comparación con las especies del género *Trichogramma*.

En 1993, Sarmiento realizó la descripción de una nueva especie de *Trichogramma* de los andes colombianos. La especie fue descrita como *Trichogramma lopezandinensis* a partir de huevos de la especie *Colias dimera* Doubleday & Hewitson (Lepidoptera: Pieridae), sobre la que se realizaba un estudio ecológico en alturas superiores a los 2.800 m s. n. m., en el municipio de Chipaque (Cundinamarca) (Rincón, 1999; Sarmiento, 1993). Sobre esta especie se adelantaron estudios de su biología orientados al control biológico de la polilla guatemalteca de la papa *Tecia solanivora* Povolný (Lepidoptera: Gelechiidae) (López-Ávila, Rubio, Vargas, & Castro, 2004; Rincón, 1999).

En años posteriores, en Colombia se han desarrollado trabajos orientados a identificar las especies vegetales que, dentro de los agroecosistemas, puedan proveer los recursos alimenticios necesarios para el establecimiento de las especies de *Trichogramma*, de manera que los programas de control biológico con estos parasitoides pasen de ser inundativos a conservativos y, de esta forma, se reduzcan los costos asociados a la cría y liberación permanente de avispas en los cultivos (Díaz et al., 2012).

En Colombia, actualmente se crían y liberan comercialmente las especies *Trichogramma atopovirilia*, *T. exiguum* y *T. pretiosum*. *Trichogramma atopovirilia* se encuentra distribuida a través del Norte de México, Sur del Salvador, Venezuela, Colombia y Brasil; por otra parte, *T. exiguum* está presente en la región Neotropical, desde el oeste de Norte América y el sur de Quebec, hasta la Florida, México, Centroamérica y Sudamérica (Chile, Uruguay, Colombia y Perú); finalmente, *T. pretiosum* es la especie más

ampliamente distribuida, y está presente desde el sur de Canadá hasta Argentina (Morales et al., 2007; Ríos & Terán, 2003).

La eficacia de los programas de control biológico de plagas que incorporan las liberaciones de *Trichogramma* spp. dependen, entre otros factores, del conocimiento de las características biológicas y etológicas de la especie que se utilizará y su interacción con el hospedante, por lo que antes de implementar una medida de manejo que incluya la liberación de estas avispas parasitoides es necesario adelantar estudios previos en laboratorio y condiciones experimentales en campo (Bueno et al., 2010).

Parasitoides de mosca blanca

María R. Manzano,
Universidad Nacional de Colombia

Diversas especies de moscas blancas (Hemiptera: Aleyrodidae) causan daños a cultivos en Colombia. Un buen aporte al conocimiento de parasitoides de moscas blancas lo realizó el Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) en asocio con entidades nacionales e internacionales con énfasis en dos de sus cultivos prioritarios, la yuca y el fríjol. Otras instituciones como la Universidad Militar Nueva Granada y la Universidad Jorge Tadeo Lozano aportaron al conocimiento de parasitoides de moscas blancas en tomate. Las especies de mayor impacto en hortalizas son *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) y *Bemisia tabaci* Gennadius, y para yuca, *Aleurotrachelus socialis* Bondar y *Trialeurodes variabilis* (Quaintance).

Las moscas blancas causan daño directo al alimentarse del floema, pero también causan daños indirectos, debido a la excreción de melaza que ayuda al desarrollo del hongo *Capnodium* spp. (Byrne, Bellows, & Parrella, 1990) causante de la fumagina. Además, algunas especies transmiten virus. La fumagina cubre la superficie foliar e interfiere con la fotosíntesis, y puede aumentar la absorción térmica y elevar la temperatura foliar, reduciendo la eficiencia foliar y causando muerte prematura del tejido (Byrne et al., 1990). Con relación a los virus, *T. vaporariorum* es vector de los géneros *Crinivirus* y *Torradovirus* (Navas-Castillo, López-Moya, & Aranda, 2014), entre ellos el *Crinivirus*, conocido como virus del amarillamiento de venas de la papa (Salazar, Müller, Querci, Zapata, & Owens, 2000), y *B. tabaci* transmiten begomovirus en diversos cultivos en Colombia (Cuellar & Morales, 2006). Además, *Aleurotrachelus socialis* está asociada a la transmisión de virus en yuca en Colombia (Carvajal-Yepes et al., 2014). Dado el impacto mundial del daño por *B. tabaci* desde la década de los años noventa, se iniciaron estudios para conocer los parasitoides de esta especie en Colombia (Schuster et al., 1998). Con base en la cantidad de información publicada, se abordará el estudio de parasitoides de moscas blancas en hortalizas, yuca y cítricos. Además de los cultivos mencionados, se encuentran reportes de parasitoides en melón y tabaco.

Hortalizas

López-Ávila, Cardona, García, Rendón y Hernández (2001) reportaron varias especies de parasitoides en cuatro especies de moscas blancas en tomate, fríjol, col y berenjena. Se reporta que a *Bemisia tabaci* (Biotipo B) en fríjol, col y berenjena fue parasitada por cuatro especies de *Encarsia* y una especie de *Eretmocerus* (tabla 10.3). Los mismos autores reportaron a *Trialeurodes vaporariorum* parasitada por *Amitus fuscipennis* Mac Gown & Nebeker (Hymenoptera: Platygastridae) en tomate, por cinco especies de *Encarsia* (tabla 10.3).

En Colombia, *B. tabaci* y *T. vaporariorum* se separan altitudinalmente en su distribución, siendo *T. vaporariorum* la especie predominante en el trópico alto suramericano (altura > 1.000 m s. n. m.) y *B. tabaci* la predominante en el trópico bajo (altura < 400 m s. n. m.), coexistiendo ambas especies en los valles interandinos (Quintero et al., 2001). Recientemente, se reportó a *Bemisia tabaci* por encima del 1.400 m s. n. m. en el Valle del Cauca (Díaz, Endersby, & Hoffmann, 2015). Esta distribución refleja también la adaptación altitudinal de sus parasitoides. Precisamente para *T. vaporariorum* en fríjol, habichuela (*Phaseolus vulgaris* L.) y tomate (*Solanum lycopersicum* L.), ubicados en el trópico alto (> 1.000 m s. n. m.), su principal enemigo natural es *A. fuscipennis* (De Vis, Fuentes, & Van Lenteren, 2002; Granadillo-Cuello et al., 2014; Manzano, Van Lenteren, Cardona, & Drost, 2000).

Tabla 10.3. Especies de parasitoides (Hymenoptera) de moscas blancas reportadas en Colombia

Especie de parasitoide	Hospedero(s)	Cultivo	Referencia
Aleuroctonus vittatus (Dozier) (Eulophidae)	*Aleurodicus* sp.	Naranja, mandarina, tangelo y lima ácida	León, Evans y Campos (2001)
*Amitus fuscipennis** MacGown y Nebeker (Platygastridae)	*Trialeurodes vaporariorum* (Westwood)	Tomate y papa	López-Ávila et al. (2001)
		Fríjol	Granadillo-Cuello, Villalobos-Moreno y Villamizar-Cobos (2014); López-Ávila et al. (2001)
		Tabaco	Valderrama Granobles, Valencia y Sánchez (2007)
Amitus macgowni Evans y Castillo (Platygastridae)	*Aleurotrachelus socialis* Bondar, *Trialeurodes variabilis* Quantaince	Yuca	Evans y Castillo (1998)
	A. *socialis*	Yuca	Trujillo et al. (2004)
Amitus spiniferus (Brethes) (Platygastridae)	*Aleurothrixus floccosus* (Maskell)	Naranja, mandarina, tangelo y lima ácida	León et al. (2001)
Encarsia aleurothrixi Evans y Polaszek (Aphelinidae)	*A. floccosus*	Naranja, mandarina, tangelo y lima ácida	León et al. (2001)
Encarsia bascinta Gahan (Hymenoptera Aphelinidae)	*A. floccosus*	Naranja, mandarina, tangelo y lima ácida	León et al. (2001)
Encarsia bellottii Evans y Castillo	*A. socialis, T. variabilis*	Yuca	Evans y Castillo (1998)
	A. socialis	Yuca	Trujillo et al. (2004)
Encarsia citrella Howard	*Dialeurodes citri* Riley y Howard	Naranja, mandarina, tangelo y lima ácida.	León et al. (2001)
*Encarsia formosa** Gahan (Aphelinidae)	*Bemisia tabaci*	Yuca-ahuyama	López-Ávila et al. (2001); Nicholls, Parrella y Altieri (1998)
	Trialeurodes vaporariorum	Flores, invernaderos	
Encarsia hispida De Santis (Aphelinidae)	*T. vaporariorum*	Frijol	López-Ávila et al. (2001)
	A. socialis, Bemisia tuberculata Bondar	Yuca	López-Ávila et al. 2001
	A. socialis, T. variabilis	Yuca	Evans y Castillo (1998)
Encarsia luteola Howard	No mencionado en el artículo	Naranja, mandarina, tangelo y lima ácida	León et al. (2001)
Encarsia grupo *luteola*	*A. socialis*	Yuca	Trujillo et al. (2004)

(Continúa)

(Continuación tabla 10.3)

Especie de parasitoide	Hospedero(s)	Cultivo	Referencia
Encarsia mineoi Viggiani (Aphelinidae)	*A. socialis*	Berenjena	López-Ávila et al. (2001)
Encarsia nigricephala Dozier (Aphelinidae)	*T. vaporariorum*	Tomate	López-Ávila et al. (2001)
	B. tabaci	Frijol	López-Ávila et al. (2001)
	Complejo *B. tabaci, T. vaporariorum*	Habichuela	Manzano, Van Lenteren y Cardona (2003a)
Encarsia pergandiella Howard (Aphelinidae)	*T. vaporariorum*	Frijol	López-Ávila et al. (2001)
	A. socialis	Yuca	López-Ávila et al. (2001)
	A. socialis, T. variabilis	Yuca	Evans y Castillo (1998)
Encarsia sophia (Girault y Dodd (Aphelinidae)	*A. socialis*	Yuca	Trujillo et al. (2004)
Encarsia strenua Silvestri (Aphelinidae)	*B. tabaci*	Col	López-Ávila et al. (2001)
Encarsia sp. (Aphelinidae)	*B. tabaci*	Berenjena	López-Ávila et al. (2001)
Encarsia sp. (Aphelinidae)	*A. socialis*	Yuca	Trujillo et al. (2004)
Eretmocerus sp. (Aphelinidae)	*B. tabaci*	Melón	López-Ávila et al. (2001)
Eretmocerus sp. (Aphelinidae)	*A. socialis*	Yuca	Evans y Castillo (1998); Trujillo et al. (2004)
Euderomphale sp. (Eulophidae)	*A. socialis*	Yuca	Trujillo et al. (2004)
Metaphycus sp. (Encyrtidae)	*A. socialis*	Yuca	López-Ávila et al. (2001); Trujillo et al. (2004)

* Producidos comercialmente

Fuente: Elaboración propia

Además, se reportaron niveles de parasitismo por encima del 80 % a campo abierto (sin ser liberado) en cultivos de tomate (De Vis et al., 2002) o de fríjol en el Valle del Cauca (Manzano et al., 2000). A alturas menores (alrededor de 1.000 m s. n. m.) *Encarsia nigricephala* Dozier predomina como parasitoide del complejo *T. vaporariorum-Bemisia tabaci* en cultivos de habichuela (Manzano, Van Lenteren, & Cardona, 2003b). Por otra parte, *A. fuscipennis* no se encontró parasitando a *B. tabaci* (Manzano, Martínez, Andrés, & Vélez-Mera, 2009). Medina, Saldarriaga y Pérez (1994) describieron siete estados de desarrollo de *A. fuscipennis*: huevo, tres estados larvales, prepupa, pupa y adulto. Este es un parasitoide pro-ovigénico que emerge con una carga de huevos de 430 huevos/hembra a 25 °C (De Vis et al., 2002), lista para ser ovipositada (Manzano, Van Lenteren, & Cardona, 2002a; Viggiani, 1991), y que prefiere ovipositar en ninfas de los primeros estadios de desarrollo (Manzano, Van Lenteren, & Cardona, 2002b).

Teniendo en cuenta los criterios de selección de agentes de control biológico propuestos por Van Lenteren y Manzaroli (1999), *A. fuscipennis* tiene algunas características ventajosas:

a. Se reproduce por partenogénesis telitoquia, posiblemente causada por *Wolbachia* (Manzano et al., 2000), lo que, entre otros aspectos, disminuiría costos en crías masivas; sin embargo, la presencia de algunos machos sugiere la existencia de poblaciones sexuales y asexuales del parasitoide (Manzano et al., 2000).

b. Expresa valores de la tasa intrínseca de crecimiento natural rm superiores a los de *T. vaporariorum* en fríjol (Manzano et al., 2002a) y tomate (De Vis et al., 2002).

c. Tiene un comportamiento de búsqueda de área restringida como respuesta adaptativa al patrón de distribución de las ninfas de mosca blanca (Godfray, 1994; Manzano et al., 2002b), con un alto porcentaje de aceptación del hospedero (Manzano et al., 2003a).

d. En campo, se alimenta de nectarios extraflorales de la planta de fríjol y de las plantas acompañantes al cultivo (Hernández, Otero, & Manzano, 2013), puede desplazarse al menos 12 m y es dispersado por el viento (Hernández & Manzano, 2016).

La otra especie de parasitoide importante, especialmente para tomate cultivado en forma protegida (casa de malla, invernadero), es *Encarsia formosa* Gahan (Hymenoptera: Aphelinidae). Para obtener un buen control de *T. vaporariorum* en tomate, se debe liberar un adulto de *E. formosa* por cada 17 ninfas de mosca blanca de tercer instar, evaluando el control después de 35 días (Aragón, Rodríguez, & Cantor, 2008) o introducir cinco pupas por semana durante 13 semanas (De Vis & Van Lenteren, 2008), teniendo en cuenta además que el radio de acción de la avispa es de 8 a 10 m (Cantor, Rodríguez, & Cure, 2011). También se ha estudiado la liberación conjunta de *E. formosa* y *A. fuscipennis* para control de *T. vaporariorum* en cultivos de tomate en invernaderos; para ello, es recomendable liberar *E. formosa* y complementar con liberaciones de *A. fuscipennis*, si se esperan altas densidades de *T. vaporariorum*, dada la mayor frecuencia de parasitismo de *A. fuscipennis* (De Vis et al., 2002). Actualmente, ambas especies de parasitoides se liberan en cultivos de tomate (Torrado, 2016).

La integración del control con *E. formosa* e insecticidas no es recomendada para invernaderos (De Vis & Van Lenteren, 2008), pero sí es una posibilidad para *A. fuscipennis* en campo (Manzano et al., 2003b). Aparte de los parasitoides mencionados, *Encarsia pergandiella* Howard (Hymenoptera: Aphelinidae) fue reportada parasitando *T. vaporariorum* en cultivos de fríjol con una baja incidencia (Granadillo-Cuello et al., 2014).

Yuca

Las moscas blancas que causan mayores pérdidas económicas en yuca (*Manihot esculenta* Crantz) son el complejo *Aleurotrachelus socialis*, *Trialeurodes variabilis* y *Bemisia tuberculata*, pero las dos primeras especies llegan a constituir casi el 92 % de la población total en un momento del cultivo (Bellotti, Arias, Herrera, & Holguín, 2007). En condiciones de campo, se ha reportado parasitismo natural de hasta el 60 % por *Amitus aleurodinis* Haldeman (Hymenoptera: Platygastridae) y por *Eretmocerus aleurodiphaga* (Risbec) (Hymenoptera: Aphelinidae) (Bellotti et al., 2007). Los niveles de parasitismo de ambas especies sobre *A. socialis* y *T. variabilis* no fueron afectados por el establecimiento de cultivos mixtos de yuca y fríjol caupi (*Vigna unguiculata* L.) (Walp) (Gold, Altieri, & Bellotti, 1989b).

Otras especies de parasitoides listadas por Melo (2002) y las identificadas taxonómicamente por Evans y Castillo (1998), como *Encarsia pergandiella* Howard, *E. hispida* De Santis y *E. bellotti* Evans & Castillo, fueron incluidas en la tabla 10.3. Trujillo et al. (2004) mencionan diferencias notables en la distribución en áreas geográficas de los parasitoides de moscas blancas de yuca en Colombia. En la costa Caribe *A. socialis* fue parasitada por ocho especies: *Encarsia* sp., *E. hispida*, *E. sophia* (Girault y Dodd), *Encarsia* grupo *luteola*, *E. bellotti*, *Metaphycus* sp. (Hymenoptera: Encyrtidae), *Euderomphale* sp. (Hymenoptera: Eulophidae) y *Eretmocerus* sp.; en la región del Magdalena, el 73 % de *A. socialis* fue parasitado por *Amitus macgowni* Evans & Castillo, seguido de *Encarsia* sp.; en el Cauca, la representación fue similar a la del Caribe, pero con dominancia del género *Encarsia*; en las regiones Andinas, Caribe y Magdalena, *B. tuberculata* fue

parasitada por *Eretmocerus* spp. y *Encarsia* spp. También se presentaron diferencias en la distribución geográfica de parasitoides para *T. variabilis*. El promedio de parasitismo total por región para todas las especies fluctuó entre 3 y 25 % (Trujillo et al., 2004).

El hiperparasitoide *Signiphora aleyrodis* Ashmead (Hymenoptera: Signiphoridae) estuvo presente en varias regiones de Colombia, probablemente diezmando las poblaciones de los parasitoides de *A. sociales* (Trujillo et al., 2004).

López-Ávila et al. (2001) reportaron a *E. formosa* parasitando a *B. tabaci* en la asociación yuca-ahuyama. Con base en registros de distribución de moscas blancas y sus parasitoides en yuca presentes en la colección de artrópodos del CIAT, Vásquez-Ordóñez, Hazzi, Escobar-Prieto, Paz-Jojoa y Parsa (2015) publicaron una base de datos, en la que se evidencia que alrededor del 66 % de los registros de moscas blancas correspondió a *A. socialis*, mientras que el 16% correspondió a *B. tuberculata*, y que los parasitoides más registrados fueron *E. hispida, A. macgowni* y *E. bellottii* para *A. socialis*, y *E. sophia* para *B. tuberculata.*

Frutales

Los parasitoides de moscas blancas de cítricos del piedemonte llanero del Meta, representados por cultivos comerciales de naranja, mandarina, tangelo y lima ácida, fueron reportados por León et al. (2001) (tabla 10.3); incluyen a *Aleuroctonus vittatus* (Dozier) (Eulophidae). Las moscas blancas encontradas fueron *Aleurothrixus floccosus* (Maskell), *Aleurocanthus woglumi* (Ashby), *Dialeurodes citri* Riley & Howard y *Aleurodicus* sp. Con relación al melón (*Cucumis melo* L.), *Eretmocerus* sp. fue reportado como parasitoide de *B. tabaci* (López-Ávila et al., 2001).

Otros cultivos

López-Ávila et al. (2001) reportaron a *A. fuscipennis* como parasitoide de *T. vaporariorum* en papa, y Valderrama et al. (2007) lo registraron en cultivos de tabaco en Huila, Santander, Norte de Santander y Valle del Cauca. Se ha estudiado la combinación del efecto de *A. fuscipennis* y *E. formosa* en el control de *T. vaporariorum* en ornamentales (Márquez & Valencia, 1991) y aparentemente *E. formosa* fue liberada (Nicholls et al., 1998) o podría ser considerada como un agente de control biológico a liberar (Valcárcel-Calderón, 2013), pero hay pocos registros bibliográficos al respecto.

Producción comercial de parasitoides de mosca blanca

Tello, Cantor, Rodríguez y Cure (2007) sentaron las bases para estandarizar el proceso de cría de *E. formosa*. Actualmente, *A. fuscipennis* y *E. formosa* son las únicas dos especies de parasitoides de moscas blancas producidos comercialmente en Colombia por la empresa Bioterra®, del Centro de Bio-Sistemas de la Universidad Jorge Tadeo Lozano en Bogotá, donde además se realiza control de calidad de su producción (Universidad Jorge Tadeo Lozano, 2017).

Parasitoides de moscas de las frutas en Colombia

Consuelo Alexandra Narváez Vásquez,
Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA)

Las moscas de las frutas son una de las plagas de mayor importancia económica que afectan la producción frutícola en el mundo. Particularmente, algunas especies de la familia Tephritidae (alrededor del 1 % de las 4.200 especies descritas) (Aluja, 1999), cuyo estado larval consume pulpa de fruta de varias especies de plantas comerciales y silvestres, se consideran el principal problema fitosanitario en la fruticultura. En Colombia, los géneros de mayor importancia son *Anastrepha* Schiner, *Ceratitis* MacLeay y *Dasiops* Rondani, que además de causar daños directos representan una limitante para exportar fruta fresca, debido a las restricciones cuarentenarias de los países importadores.

En diferentes regiones de Colombia, se tienen registros de varios géneros y especies de enemigos naturales de moscas de la fruta, todos pertenecientes al orden Hymenoptera, y en su mayoría son de origen neotropical. La ocurrencia de estos enemigos naturales no implica un control natural satisfactorio de la plaga, debido principalmente a la baja densidad de sus poblaciones. Se ha registrado un total de veintiún (21) especies de avispas parasitoides de larvas y pupas de moscas de las frutas en Colombia, de las cuales *Doryctobracon crawfordi* (Viereck), *Doryctobracon areolatus* (Szepligeti) y *Aganaspis pelleranoi* (Brèthes) son las especies más comunes en los diferentes agroecosistemas (tabla 10.4).

Tabla 10.4. Listado de parasitoides de moscas de las frutas en Colombia

Familia y especie de parasitoide	Tipo de parasitoide[4]	Estrategia de ataque[5]	Estado de hospedero atacado[6]	Especie mosca de la fruta hospedera[7]	Referencia
Braconidae					
Alysia sp.[1]	K	En	L, P	A	León (1987)
Asobora anastrephae (Muesebeck)[1]	S, K	En	L, P	A Ao	Yepes y Vélez (1989) Sarmiento, Aguirre y Martínez (2012)
Doryctobracon areolatus (Szepligeti)[1]	S, K	En	L, P	Ale, Aco, Api, Ao Ao, Aor, Af, Ast Af, Ao	Carrejo y González (1999) Yepes y Vélez (1989) Sarmiento et al. (2012)
Doryctobracon crawfordi (Viereck)[1]	S, K	En	L, P	Sin información Aor, Af Af, Cc Ast-Af Af	González (1952) Yepes y Vélez (1989) Portilla, González y Núñez (1994) Núñez, Santos, Guarín y León (2004) Sarmiento et al. (2012)
Doryctobracon trinidadensis Gahan[1]	S, K	En	L, P	Ne	González (1952)
Doryctobracon zeteki (Muesebeck)[1]	–	–	–	Aser, Ast, Alep, Anu	Carrejo y González (1999)
Microcrasis sp. Fischer[1]	K	En	L, P	Af Ast-Af Af Di, Dg	Yepes y Vélez (1989) Núñez et al. (2004) Sarmiento et al. (2012) Santamaría, Ebratt, Castro y Brochero (2016)
Utetes anastrephae (Viereck)[1]	S, K	En	L, P	Ast Af Cc, Af Ast-Af Af, Ao, Ast	Olarte (1980) Yepes y Vélez (1989) Portilla et al. (1994) Núñez et al. (2004) Sarmiento et al. (2012)

(Continúa)

(Continuación tabla 10.4)

Familia y especie de parasitoide	Tipo de parasitoide[4]	Estrategia de ataque[5]	Estado de hospedero atacado[6]	Especie mosca de la fruta hospedera[7]	Referencia
Opius bellus Gahan[1]	K	En	L, P	Ao, Af, Ast	Sarmiento et al. (2012)
Opius sp.[1]	K	En	L, P	Ale Di	Carrejo y González (1999) Armbrecht, Chacón y Rojas (1986)
Phaenocarpa sp.[3]	K	En	L, P	Adi	Carrejo y González (1999)
Paracasma sp.[3]	K	En	L, P	A	León (1987)
Figitidae					
Aganaspis pelleranoi (Brèthes)[1]	S, K	En	L, P	Sin información Ao Ast-Af, Af Ao, Ast Dy, Di	González (1952) Yepes y Vélez (1989) Núñez et al. (2004) Sarmiento et al. (2012) Santamaría et al. (2016)
Aganaspis sp.[1]	K	En	L, P	Ale	Carrejo y González (1999)
Tribliographa sp.[3]	K	En	L, P	Ast	Olarte (1980) Olarte (1991)
Odontosema anastrephae (Borgmeier)[1]	S, K	En	L, P	Af Ast-Af	González (1952) Núñez et al. (2004)
Diapriidae					
Trichopria sp.[3] *Pentapria* sp.[3]	I K	En En	P L, P	Dg, Di Dg, Di, Dc	Santamaría et al. (2016) Olarte (1991) Santamaría et al. (2016)
Proctotrupoidea					
sp. Indeterminada[3]	–	–	–	Ao	Carrejo y González (1999)
Hymenoptera					
sp. Indeterminada[3]	–	–	–	Ast	Carrejo y González (1999)
Eulophidae					
Aceratmeurornyia indicum (Silvestri)[2]	K	En	L, P	Af Ast Ast-Af Ast	Olarte (1980) Yepes y Vélez (1989) Núñez et al. (2004) Sarmiento et al. (2012)

[1] Origen neotropical. [2] Cosmopolita. [3] Desconocido. [4] S = Solitario; K = Koinobionte; I = Idiobionte. [5] En = Endobionte. [6] L = Larva; P = Pupa. [7] A = *Anastrepha*; Ao = *Anastrepha obliqua*; Aor = *Anastrepha ornata*; Af = *Anastrepha fraterculus*; Ast = *Anastrepha striata*; Aser = *Anastrepha serpentina*; Ale = *Anastrepha leptozona*; Anu = *Anastrepha nuneze*; Aco = *Anastrepha coronilli*; Api = *Anastrepha pickeli*; Adi = *Anastrepha distincta*; Dc = *Dasiops caustonae*; Di = *Dasiops inedulis*; Dg = *Dasiops gracilis*; Dy = *Dasiops yepezi*; Ast-Af = complejo *Anastrepha striata – fraterculus*.

Fuente: Elaboración propia

Parasitoides nativos

Diversas zonas de vida ubicadas desde cerca al nivel del mar, zonas cafeteras y localidades del clima frío en departamentos como Antioquia, Boyacá, Cundinamarca, Nariño, Santander y Tolima albergan poblaciones de parasitoides nativos, principalmente asociados a los géneros *Anastrepha* Schiner, *Ceratitis* (Diptera: Tephritidae) y *Dasiops* Rondani (Diptera: Lonchaeidae). El género *Dasiops* fue incluido debido a la importancia que adquiere como plaga, al atacar botones florales o frutos de *Passiflora* spp. silvestres y comerciales (Norrbom & McAlpine, 1996). Como resultado de diferentes estudios enfocados en parasitoides de moscas de las frutas, realizados en los últimos 65 años en diferentes áreas geográficas, se ha registrado un total de 20 especies de avispas parasitoides de larvas y pupas de moscas de las frutas en Colombia, que están asociadas a 15 especies de moscas de las frutas y estos dípteros atacan 15 especies de plantas hospederas (tabla 10.5).

Tabla 10.5. Especies de parasitoides de moscas de la fruta y frutales asociados en Colombia

Especie de parasitoide y familia	Especie mosca de la fruta hospedera1	Fruta hospedera	Familia	Referencia
Braconidae *Alysia* sp.	A	Sin información		León (1987)
Asobora anastrephae (Muesebeck)	A	*Bellucia axinanthera* Triana	Melastomataceae	Yepes y Vélez (1989)
	Ao	*Spondias mombin* L.	Anacardiaceae	Sarmiento et al. (2012)
Doryctobracon areolatus (Szepligeti)	Ale	*Pouteria caimito* (Ruiz & Pav.)	Sapotaceae	Carrejo y González (1999)
	Aco	Radlk.		
	Api	*Bellucia pentamera* Naudin	Melastomataceae	
	Ao	*Manihot esculenta* Crantz	Euphorbiaceae	
	Ao	*Mangifera indica* L.	Anacardiaceae	
		Mangifera indica L.	Anarcadiaceae	Yepes y Vélez (1989)
	Aor	*Spondias mombin* L.	Anacardiaceae	
	Af	*Feijoa sellowiana* (Berg)	Myrtaceae	
	Ast	*Feijoa sellowiana* (Berg)	Myrtaceae	
	Af	*Psidium guajava* L.	Myrtaceae	
	Ao	*Coffea arabica* L.	Rubiaceae	Sarmiento et al. (2012)
		Spondias mombin L.	Anacardiaceae	
Doryctobracon crawfordi (Viereck)	Sin información			González (1952)
		Feijoa sellowiana (Berg)	Myrtaceae	Yepes y Vélez (1989)
	Aor	*Feijoa sellowiana* (Berg)	Myrtaceae	
	Af	*Eriobotrya japonica* Ldl	Rosaceae	
		Sin información		Portilla et al. (1994)
	Af, Cc	*Psidium guajava* L.	Myrtaceae	Núñez et al. (2004)
	Ast-Af	*Coffea arabica* L.	Rubiaceae	Sarmiento et al. (2012)
	Af			
Doryctobracon trinidadensis Gahan	Af	Sin información		González (1952)
Doryctobracon zeteki (Muesebeck)	Aser	*Chrysophyllum cainito* L.	Sapotaceae	Carrejo y Gonzalez (1999)
		Pouteria caimito (Ruiz & Pav.)	Sapotaceae	
	Ast	Radlk.		
	Alep	*Campomanesia lineatifolia* Ruiz & Pav.	Myrtaceae	
	Anu	*Pouteria caimito* (Ruiz & Pav.) Radlk.	Sapotaceae	
		Quararibea cordata (Bonpl.) Vischer	Malvaceae	

(Continúa)

(Continuación tabla 10.5)

Especie de parasitoide y familia	Especie mosca de la fruta hospedera1	Fruta hospedera	Familia	Referencia
Microcrasis sp. Fischer	Af	*Coffea arabica* L.	Rubiaceae	Yepes y Vélez (1989)
	Ast-Af	*Psidium guajava* L.	Myrtaceae	Núñez et al. (2004)
	Af	*Coffea arabica* L.	Rubiaceae	Sarmiento et al. (2012)
	Di	*Passiflora edulis* fo. *flavicarpa* O. Deg.	Passifloraceae	Santamaría et al. (2016)
	Dg	*Passiflora edulis* Sims	Passifloraceae	
Utetes anastrephae (Viereck)	Ast	Sin información		
	Af	*Coffea arabica* L.	Rubiaceae	Olarte (1980)
	Cc, Af	Sin información		Yepes y Vélez (1989)
	Ast-Af	*Psidium guajava* L.	Myrtaceae	Portilla et al. (1994)
	Af	*Coffea arabica* L.	Rubiaceae	Núñez et al. (2004)
	Ao	*Spondias mombin* L.	Anacardiaceae	Sarmiento et al. (2012)
	Ast	*Psidium guajava* L.	Myrtaceae	
Opius bellus Gahan	Ao	*Spondias mombin* L.	Anacardiaceae	Sarmiento et al. (2012)
	Af	*Coffea arabica* L.	Rubiaceae	
	Ast	*Psidium guajava* L.	Myrtaceae	
Opius sp.	Ale	*Pouteria caimito* (Ruiz & Pav.) Radlk.	Sapotaceae	Carrejo y González (1999)
	Di	*Inga edulis* Mart.	Fabaceae	Ambrecht, Chacón y Rojas (1986)
Phaenocarpa sp.	Adi	*Inga edulis* Mart.	Fabaceae	Carrejo y González (1999)
Paracasma sp.	A	Sin información		León (1987)
Figitidae *Aganaspis pelleranoi* (Brelhes)	Sin información	*Psidium guajava* L.	Myrtaceae	González (1952)
		Mangifera indica L.	Anacardiceae	Yepes y Vélez (1989
	Ao	*Psidium guajava* L.	Myrtaceae	
		Coffea arabica L.	Rubiaceae	Núñez et al. (2004)
	Ast-Af	*Spondias mombin* L.	Anacardiceae	
	Af	*Psidium guajava* L.	Myrtaceae	Sarmiento et al. (2012)
	Ao	*Passiflora ligularis* Juss.	Passifloraceae	
	Ast	*Passiflora ligularis* Juss.	Passifloraceae	
	Dy	*Passiflora edulis* fo. *flavicarpa* O. Deg.	Passifloraceae	Santamaría et al. (2016)
	Di			
Aganaspis sp.	Ale	*Passiflora edulis* fo. *flavicarpa* O. Deg.	Sapotaceae	Carrejo y Gonzalez (1999)
Tribliographa sp.	Ast	Sin información		Olarte (1980) Olarte (1991)
Odontosema anastrephae (Borgmeier)	Af	Sin información	Myrtaceae	González (1952)
	Ast-Af	*Psidium guajava* L.		Núñez et al. (2004)
Diapriidae *Trichopria* sp.	Dg	*Passiflora edulis* fo. *flavicarpa* O. Deg.	Passifloraceae	Santamaría et al. (2016)
	Di	*Passiflora edulis* Sims	Passifloraceae	Olarte (1991)

(Continúa)

(Continuación tabla 10.5)

Especie de parasitoide y familia	Especie mosca de la fruta hospedera1	Fruta hospedera	Familia	Referencia
Pentapria sp. Kieffer	Dg	*Passiflora edulis* fo. *flavicarpa* O. Deg.		Santamaría et al. (2016)
		Passiflora edulis Sims	Passifloraceae	
		Passiflora ligularis Juss.	Passifloraceae	
	Di	*Passiflora edulis* Sims	Passifloraceae	
		Passiflora ligularis Juss.	Passifloraceae	
	Dc	*Passiflora tripartita*	Passifloraceae	
		var. *mollissima* Nielsen & Jorgensen	Passifloraceae	
Proctotrupoidea sp. Indeterminada	Ao	*Mangifera indica* L.	Anacardiaceae	Carrejo y Gonzalez (1999)
Hymenoptera sp. Indeterminada	Ast	*Psidium guajava* L.	Myrtaceae	Carrejo y Gonzalez (1999)

[1]A = *Anastrepha*; Ao = *Anastrepha obliqua*; Aor = *Anastrepha ornata*; Af = *Anastrepha fraterculus*; Ast = *Anastrepha striata*; Aser = *Anastrepha serpentina*; Ale = *Anastrepha leptozona*; Anu = *Anastrepha nuneze*; Aco = *Anastrepha coronilli*; Api = *Anastrepha pickeli*; Adi = *Anastrepha distincta*; Dc = *Dasiops caustonae*; Di = *Dasiops inedulis*; Dg = *Dasiops gracilis*; Dy = *Dasiops yepezi*; Ast-Af = complejo *Anastrepha striata – fraterculus*.

Fuente: Elaboración propia

Los parasitoides neotropicales registrados en el país pertenecen a las familias Braconidae y Figitidae; son endoparasitoides koinobiontes, es decir, paralizan temporalmente al hospedero y le permiten continuar viviendo hasta el final de su desarrollo; posteriormente, el adulto del parasitoide emerge de la pupa. No se han registrado hasta el momento en Colombia parasitoides que ovipositen en huevos de moscas de las frutas y que emerjan de la pupa.

Los bracónidos parasitan exclusivamente lepidópteros, coleópteros y dípteros en diferentes estados de desarrollo, y muchas especies tienen hospederos específicos (Campos, 2001), características que los hacen uno de los grupos más empleados para el control biológico de moscas de las frutas en todo el mundo (Zucchi, Araújo, Canal, & Uchoa, 1999).

El bracónido nativo *Doryctobracon areolatus* es una de las especies más ampliamente distribuidas en Colombia. Se la ha encontrado parasitando a siete especies de moscas de la fruta, tales como *Anastrepha coronilli*, *A. leptozona*, *A. obliqua*, *A. pickeli* y *A. striata* (Carrejo & González, 1999) (tabla 10.4). Esta especie habita también en Argentina, Brasil, Costa Rica, México, Panamá, Trinidad y Venezuela (Katiyar, Camacho, Geraud, & Matheus, 1995; Yepes & Vélez, 1989). Fue introducida en Florida y República Dominicana para el control de *Anastrepha suspensa* (Loew) y *A. obliqua* (Macquart) (Baranowski, Glenn, & Sivinski, 1993; Serra et al., 2011).

Otro bracónido de ocurrencia permanente en Colombia es *Doryctobracon crawfordi*, comúnmente asociado a *A. ludens* (López, Aluja, & Sivinski, 1999; Plummer, McPhail, & Monk, 1941), pero en Colombia su hospedero principal es *A. fraterculus* (Núñez et al., 2004; Portilla et al., 1994; Sarmiento et al., 2012; Yepes & Vélez, 1989). De acuerdo con Sivinski, Aluja y López (1997), esta especie tiene un ovipositor más largo que *D. areolatus*, lo que implica que puede ser recuperado de frutas de mayor tamaño, tales como cítricos y mango; además, prefiere climas templados y no existen registros de su presencia en campo en épocas secas (Aluja, López, & Sivinski, 1998).

De igual manera, reviste importancia la familia Figitidae, subfamilia Eucoilinae, a la que pertenece uno de los parasitoides de mayor distribución en el país: *Aganaspis pelleranoi*. Los Eucoilinae se distribuyen en todo el mundo; son endoparasitoides koinobiontes de dípteros ciclorrafos y, según Ovruski, Aluja, Sivinski y

Wharton (2000), algunas especies únicamente parasitan las larvas de moscas de la superfamilia Tephritoidea, lo que las hace candidatas promisorias para el control biológico dentro de programas de manejo integrado de las moscas de las frutas.

La especie *A. pelleranoi* se considera endémica del neotrópico, y se encuentra distribuida desde México hasta Argentina (Ovruski et al., 2000). Este parasitoide ataca diferentes especies de moscas de la fruta como *Ceratitis capitata* y *Anastrepha* spp. (Ovruski et al., 2000); además, se ha encontrado parasitando miembros de la familia Lonchaeidae (Wharton & Sharkey, 1998). En Colombia, se ha identificado como parasitoide de *A. obliqua* en *Psidium guajava* y *M. indica* en Antioquia (Yepes & Vélez, 1989), mientras que en Santander se encontró asociado con el complejo *Anastrepha striata* y *A. fraterculus* en *Psidium guajava*, y con *A. fraterculus* en *Coffea arabica*; en Cundinamarca, parasita *A. obliqua* y *A. striata* en *Spondias mombin* y *P. guajava*, respectivamente. También en Cundinamarca se registró *A. pelleranoi* parasitando pupas de *Dasiops yepezi* y *D. inedulis* en *Passiflora ligularis* y *P. edulis* respectivamente (Santamaría et al., 2016).

Se considera que esta especie es uno de los parasitoides nativos con mayor potencial de uso como controlador biológico, particularmente en el cultivo de guayaba, en el que puede ser colectado de frutas infestadas colgadas del árbol o de frutas caídas (Sivinski et al., 1997). Las hembras usan vibrotaxis para detectar larvas mientras caminan sobre la superficie de la fruta (Guimarães & Zucchi, 2004). Ovruski (1994) reportó que hembras de esta especie son capaces de penetrar la fruta a través de orificios y desplazarse dentro de la pulpa en búsqueda de la larva.

Aunque solo se amplió información de tres de los principales parasitoides nativos de las moscas de las frutas en Colombia, hay que considerar que en el país existe una alta riqueza y diversidad de especies parasitoides, que tienen el potencial para ser empleadas como controladores naturales. A pesar de ello, no se han logrado implementar programas de control integrado para las moscas de las frutas, en los que se usen ampliamente estos enemigos naturales. Uno de los pocos estudios realizados al respecto fue desarrollado a mediados de la década de los años ochenta en el departamento de Santander (Olarte, 1991), en el que se excluyó la aplicación de insecticidas a cambio del uso simultáneo de trampas McPhail, eliminación de frutos infestados e insectos benéficos. En este último aspecto, el autor estableció el parasitismo natural total de la región de estudio, registrando como agentes biológicos nativos con control sobre *Anastrepha* spp. los himenópteros *Trybliographa* spp., *Trichopria* sp, *Aceratoneuromyia indica* y una especie sin identificar de la familia Eucoilidae, todas con una incidencia baja en campo. Posteriormente, el autor realizó once liberaciones de parasitoides de larvas y pupas de *Anastrepha* spp. empleando especies importadas de los Estados Unidos y especies nativas (tabla 10.4). En total se liberaron 40.054 parasitoides, de los cuales los nativos se obtuvieron de guayabas (*P. guajava*), colectadas en las regiones santandereanas de Guepsa, San Benito, Mogotes, Guapota y Chima. De todas las especies, las que se lograron recuperar en mayor abundancia fueron *A. indica* y el Eucoilidae de género y especie no determinadas, ambos nativos según el autor. Este ensayo pionero en Colombia arrojó resultados significativos, por cuanto la población larvaria de *Anastrepha* spp. se redujo en un 74,1 %, y el porcentaje de frutos infestados disminuyó en promedio en un 63 % en las plantaciones sometidas al control integrado.

Parasitoides exóticos

En Colombia se ha realizado una sola introducción de parasitoides exóticos provenientes de los Estados Unidos, entre 1984 y 1985, a través de un proyecto financiado por Colciencias (Olarte, 1991). Las especies introducidas fueron *Diachasmimorpha longicaudata* Ashmead —conocido anteriormente como *Biosteres longicaudatus*—, *Opius concolor* (Silvestri), *Diachasmimorpha tryoni* (Cameron) (Braconidae), *Trybliographa daci* (Welder) (Figitidae), *Pachycrepoideus vindemmiae* (Pteromalidae) y *Dirhinus giffardi* Silvestri (Chalcididae) (tabla 10.6). La mayoría de especies fueron recuperadas según el autor. El caso de *D. longicaudata* es particularmente interesante, pues esta especie es catalogada como una de las más promisorias, aunque el autor no indica porcentajes de parasitismo de la especie y señala que solo después de un par de años se pueden realizar recuperaciones definitivas que permitan evaluar la adaptación y la posible colonización de los insectos benéficos liberados en este ensayo.

Tabla 10.6. Parasitoides exóticos de las moscas de las frutas (Diptera: Tephritidae) liberados en las plantaciones guayaberas de las fincas El Recuerdo, Las Lechuzas y Monterrey (Guavatá, Santander), durante 1984-1985

Especie	Orden/Familia	N.º de parasitoides liberados
Diachasmimorpha longicaudata	Hymenoptera/Braconidae	13.413
Trybliographa daci	Hymenoptera/Cynipidae	6.601
Opius concolor	Hymenoptera/Braconidae	5.519
Pachycrepoideus vindemmiae	Hymenoptera/Pteromalidae	1.859
Dirhinus giffardii	Hymenoptera/Chalcididae	5.914
Diachasmimorpha tryoni	Hymenoptera/Braconidae	1.035
Aceratoneuromyia indicum	Hymenoptera/Eulophidae	2.748

Fuente: Olarte (1991)

Perspectivas de uso de parasitoides de moscas de las frutas en Colombia

El control biológico podría ser una estrategia complementaria al sistema de plan de manejo nacional actualmente implementado en el país. La especie Indo-Pacífica *Diachasmimorpha longicaudata* debe ser considerada como una alternativa para ser introducida nuevamente en Colombia, ya que presenta características biológicas y ecológicas adecuadas para su uso en diferentes ambientes. Además, se ha desarrollado una serie de técnicas eficientes para su cría masiva, lo que ha permitido realizar liberaciones aumentativas de este parasitoide en diferentes lugares como Hawái (Ovruski et al., 2000) y México (Montoya et al., 2000), que han arrojado resultados satisfactorios en el control de moscas de las frutas.

La introducción de un insecto benéfico exótico para control biológico puede generar una serie de interrogantes acerca del impacto que podría tener en las especies nativas. De ahí la importancia de estudiar previamente la diversidad, la biología y la ecología de los parasitoides nativos y así poder diseñar aproximaciones para su uso como controladores biológicos (Ovruski et al., 2000).

En este punto, son valiosas las nuevas técnicas de cría para procesos de domesticación y colonización de especies de parasitoides himenópteros nativos que atacan larvas y pupas de moscas de la fruta (Diptera: Tephritidae), desarrolladas por Aluja et al. (2009).

Las especies de parasitoides neotropicales en esta investigación fueron los siguientes: los bracónidos *Doryctobracon areolatus* (Szepligeti), *Doryctobracon crawfordi* (Viereck), *Opius hirtus* (Fischer) y *Utetes anastrephae* (Viereck); los figitidos *Aganaspis pelleranoi* (Brethes) y *Odontosema anastrephae* Borgmeier, y el diaprido *Coptera haywardi* (Ogloblin). Todas las especies se desarrollaron artificialmente sobre larvas y pupas de *A. ludens* (Loew). Además, los autores proporcionan información útil como el número de huéspedes en cada unidad de parasitación, la edad óptima entre el hospedero y la hembra, las tasas de parasitismo, el tiempo de desarrollo, la esperanza de vida y la variación en las proporciones sexuales en cada especie parasitoide a lo largo de varias generaciones.

En general, el neotrópico alberga una cantidad de especies parasitoides (muchas aún desconocidas), que tienen el potencial de ser empleados para la reducción de poblaciones de tefritidos y loncheidos. Pero es clave estudiar de forma integral las comunidades de parasitoides asociadas con las moscas de las frutas para correlacionar estos aspectos con las consideraciones teóricas en control biológico.

Parasitoides como controladores de *Erinnyis ello*

María Isabel Gómez Jiménez,
Centro Internacional de Agricultura Tropical

La yuca es una planta perenne con numerosas especies de artrópodos asociados, algunos de los cuales pueden ser plagas de gran importancia. *Erinnyis ello* (Lepidoptera: Sphingidae), el gusano cachón de la yuca es una plaga esporádica que se alimenta de las hojas e, incluso, de tallos tiernos y yemas laterales de la planta (Arias & Bellotti, 1993). Esta plaga es muy voraz en sus últimos estados larvales y en plantas jóvenes el daño puede llegar a ser muy importante; de los 1.100 cm^2 de superficie foliar que puede consumir la larva en su vida, el 75 % lo consume el último estado larval (Bellotti, Arias, & Guzman, 1992; Centro Internacional de Agricultura Tropical [CIAT], 1974).

Debido a su rápido desarrollo, con un ciclo de vida promedio de 40 días, una fecundidad de hasta 1.850 huevos, ovipositados en promedio en nueve días, y con un crecimiento larval de cinco instares de 12 a 15 días, sus poblaciones pueden alcanzar las 150 larvas por planta y una defoliación total en pocos días (Bellotti et al., 1983, 1989; Bellotti & Schoonhoven, 1978). Bajo estas condiciones, es imprescindible utilizar medidas que reduzcan las poblaciones, para así minimizar las pérdidas en rendimiento que, en condiciones simuladas de herbivoría, pueden ser del 20 % después de un único ataque y de 64 % con ataques repetidos (Arias & Bellotti, 1984).

Erinnyis ello es un insecto con gran capacidad de vuelo y dispersión, así como de adaptabilidad a diferentes condiciones ambientales, razones que le han permitido distribuirse a lo largo de todo el continente americano en un amplio rango altitudinal que va desde el nivel del mar hasta grandes alturas en los Andes. Además, su alta polifagia, que incluye al menos 35 especies de 10 familias de plantas, le aporta aún más ventajas adaptativas (Bellotti et al., 1989).

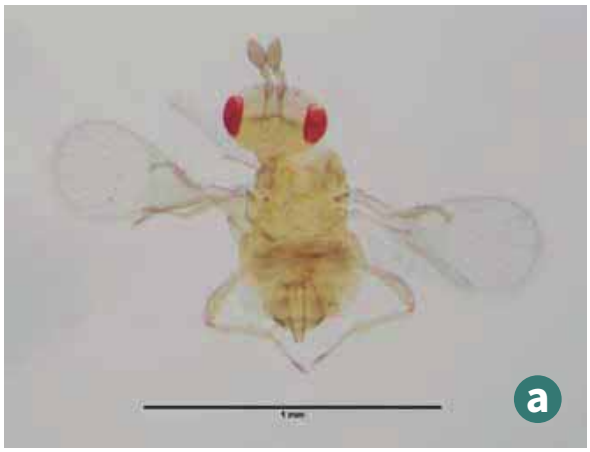
Se han reportado numerosos enemigos naturales del gusano cachón; sin embargo, junto a la aplicación de insecticidas y bioplaguicidas no específicos que afectan su efectividad y desarrollo (Urías, Bellotti, Bravo, & Carrillo, 1987; Vázquez, 2002), los hábitos migratorios de *E. ello* impiden que las poblaciones de enemigos naturales se mantengan y estabilicen, lo que reduce en gran medida sus capacidades de control. De esta forma, cuando una población de gusano cachón invade repentinamente un cultivo, las poblaciones naturales no son suficientes para controlar su crecimiento (Bellotti et al., 1989).

Al ser un insecto tan voraz, el control preferiblemente debe realizarse en los estados de huevo y larva, estados que son atacados naturalmente por diferentes parasitoides y depredadores (Bellotti et al., 1989). Se han reportado más de 30 especies de artrópodos parasitoides y depredadores de los diferentes estados de desarrollo de *E. ello*. Se conocen ocho especies de parasitoides de huevos, diez de larvas (Bellotti et al., 1989) y uno de pupas (Hidalgo et al., 2015).

Dentro de los microhimenópteros que parasitan huevos se encuentran especies de los géneros *Trichogramma* (Trichogrammatidae) (figuras 10.1a y 10.1b), *Telenomus* (Scelionidae) (figura 10.1c) y *Ooencyrtus* (Encyrtidae) (Bellotti et al., 1989).

Las especies del género *Trichogramma* han recibido una especial atención, debido a que se encuentran durante todo el año en los cultivos de yuca y a la facilidad de su cría masiva (Centro Internacional de Agricultura Tropical [CIAT], 1978). Como consecuencia del incremento en la frecuencia de ataques de gran magnitud en diferentes zonas productoras de yuca en Colombia, desde finales de 1970 el CIAT realizó numerosas investigaciones dentro de un programa de control biológico, que incluyeron la búsqueda y reconocimiento de enemigos naturales, así como estudios de la biología de *E. ello* y sus potenciales controladores (Bellotti & Arias, 1977; Bellotti et al., 1983).

En la década de los años ochenta, el CIAT realizó un seguimiento por dos años de las tasas de parasitismo en cultivos de yuca en Armenia (Quindío) y Caicedonia (Valle del Cauca), en donde se encontró un promedio de 57 % de huevos parasitados por avispas del género *Trichogramma* (CIAT, 1978). En estudios de parasitismo realizados en condiciones de laboratorio con avispas colectadas en diferentes zonas yuqueras de los departamentos de Cauca, Valle del Cauca y Quindío, en las que se realizaban programas



Fotos: Rodrigo Zuñiga, CIAT

Figura 10.1. Microhimenópteros parasitarios de huevos de *Erinnyis ello*. a. *Trichogramma exiguum*; b. *Trichogramma demoraesi*; c. *Telenomus sphingis*.

de liberación, se encontró parasitismo de cinco especies de Trichogrammatidae sobre huevos de *E. ello*, siendo la más eficiente una especie nativa de *Trichogramma*, con un 93 % de parasitismo, seguida por *T. australicum*, con un 90 % (Arias & Bellotti, 1993; CIAT, 1978). La importancia de las especies de este género en el parasitismo de *E. ello* ha sido reportada en Brasil, con tasas de parasitismo del 43,5 % (Rodrigues de Souza, Augusta, Barbosa, & Diniz, 2016).

Otro parasitoide de huevos de gran importancia por su especificidad a *E. ello* y *E. alope* (otra especie encontrada en yuca) es *Telenomus sphingis* (Ashmead) (Bellotti et al., 1989), que se encuentra en la mayoría de zonas yuqueras de Colombia (Arias & Bellotti, 1993), alcanzando porcentajes de parasitismo del 78 % (Gold et al., 1989a).

Los parasitoides de larvas pertenecen a las familias Sarcophagidae y Tachinidae (Diptera), Braconidae, Eulophidae e Ichneumonidae (Hymenoptera). Las especies más relevantes son *Cotesia congregata* (anteriormente *Apanteles congregatus*), *C. americana* (anteriormente *A. americanus*) y *Euplectrus* sp. (Bellotti et al., 1989). Cada capullo surgido de una larva parasitada por *Cotesia* puede contener cerca de 257 pupas, con un porcentaje de emergencia del 80 % (Bellotti & Arias, 1977).

En el CIAT en Palmira, se dispusieron 11 larvas parasitadas por *Cotesia* en campos de yuca infestados por *E. ello*, de donde se derivó una evaluación posterior con un parasitismo del 35 %. Sin embargo, se encontró que estos himenópteros fueron parasitados por siete especies con porcentajes de hiperparasitismo del 56 % (Bellotti & Arias, 1977).

Euplectrus sp. es un microhimenóptero que parasita especialmente los primeros dos instares de *E. ello*, lo que ocasiona la muerte de las larvas antes de que estas lleguen al estado más voraz, por lo que tiene un gran potencial. Dentro de los dípteros, *Chetogena* (*Euphorocera*) *scutellaris* y *Thysanomyia* sp. (Tachinidae) son dos especies promisorias que ocasionan la muerte de la larva en corto tiempo (Arias & Bellotti, 1993).

Las condiciones climáticas pueden influir en la efectividad de los parasitoides, pues se ha observado que en la Costa Atlántica colombiana la efectividad de *Cotesia* spp. y *Telenomus sphingis* es mayor que

en el interior del país en los departamentos de Quindío y Valle del Cauca. Por el contrario, la efectividad de *Trichogramma* spp. se reduce en la Costa Atlántica (Bellotti, Arias, & Reyes, 2002). Además del parasitismo sobre huevos y larvas, se ha reportado el parasitismo de pupas de *E. ello* en condiciones de laboratorio por *Tetrastichus howardi* (Eulophidae), con tasas de parasitismo del 64 % (Hidalgo et al., 2015).

Gracias a la existencia de una gran variedad de enemigos naturales, incluidos parasitoides, depredadores y entomopatógenos (Arias & Bellotti, 1977, 1987; Múnera, De los Ríos, & Bellotti, 1999), las poblaciones de *E. ello* pueden ser controladas con un manejo integrado que prevenga sus ataques esporádicos e impredecibles, que debe incluir un adecuado monitoreo de todos los estados de desarrollo, el uso de plaguicidas específicos cuando sea requerido y un incremento de las poblaciones de enemigos naturales nativos mediante su liberación desde estados tempranos de desarrollo de la población del herbívoro.

Fidiobia sp., parasitoide del picudo de los cítricos, *Compsus viridivittatus* (Coleoptera: Curculionidae)

Arturo Carabalí,
Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA)

Los cítricos son los frutales de mayor importancia en el mundo, tanto por el área sembrada como por su producción, y en Colombia la citricultura es una actividad promisoria; no obstante, su producción se ha visto afectada entre un 20 y 30 % por el daño ocasionado por poblaciones del insecto comúnmente conocido como picudo de los cítricos, perteneciente al género *Compsus* (Coleoptera: Curculionidae) (figura 10.2). A finales de 1995 su población comenzó a aumentar,

Fotos: Arturo Carabalí

Figura 10.2. Adultos de *Compsus viridivittatus*. a. Pareja en cópula; b. Hábito de *C. viridivittatus*.

causando daños en algunos huertos de la zona central cafetera (Osorio, 1997). En el 2000, se reportó su presencia en los departamentos de Antioquia, Valle del Cauca, Boyacá, Caldas, Cundinamarca, Meta, Quindío, Risaralda y Tolima (Sánchez, 2000). En 2001, fue detectado en 47 municipios del departamento del Tolima, afectando el 36% del área sembrada (Instituto Colombiano Agropecuario [ICA], 2001); en este mismo año, se reportó por primera vez en Antioquia, en el municipio de Venecia, y en 2007 fue detectado en los municipios de La Pintada, Fredonia y Támesis. El aumento poblacional se registró sobre plantaciones de naranjo, lima ácida Tahití (*Citrus aurantifolia*), mandarina arrayana (*Citrus reticulata*) y onecco (*Citrus nobilis*). En 2015, las poblaciones de *C. viridivittatus* mostraron tasas de crecimiento altas, que ocasionan daños en el sistema radicular de cultivos de municipios del norte de Valle del Cauca (Carabalí, 2015).

Los picudos de los cítricos, *Compsus* spp.

El género *Compsus* incluye 101 especies validadas, en su mayoría de origen Neotropical; una de los Estados Unidos, cuatro de las Indias Occidentales, seis de México y América Central, y 90 de América del Sur (O'Brien & Wibmer, 1982; Wibmer & O'Brien, 1986). O'Brien y Peña (2012) redescriben dos especies de picudos del género *Compsus* Schoenherr (Coleoptera: Curculionidae: Entiminae) colectadas en Colombia: *Compsus obliquatus* y *Compsus viridivittatus* (Coleoptera: Curculionidae).

En general, los individuos de *C. obliquatus* y *C. viridivittatus* se caracterizan por presentar una mayor variación en la escala de colores verde y azul metálico, siendo común la mezcla de verde y azul. La característica de iridiscencia es más frecuente en la escala de verdes y el ancho de las bandas de colores es variable, desde estrechas hasta anchas, cortándose en varias longitudes y en ocasiones formando máculas cortas (O'Brien & Peña, 2012). El rango geográfico conocido de *C. obliquatus* en Colombia se restringe a los departamentos de Cundinamarca y Tolima. Por su parte, *C. viridivittatus* presenta un rango geográfico más amplio, siendo predominante en los departamentos de Antioquia, Santander, Tolima y Valle del Cauca.

Biología

Los adultos *Compsus viridivittatus* son de color blanco hueso y en cada élitro presentan una línea subdorsal y otra lateral verde o azul iridiscente, que se une en el extremo posterior del insecto (figura 10.2); además, es un picudo polífago de la raíz, con un rango amplio de hospederos. Los adultos presentan una mayor preferencia de alimentación sobre naranja valencia *Citrus sinensis* L., pero no para ovipositar. En contraste, en la lima ácida mexicana (limón pajarito) *Citrus aurantifolia* tiene baja preferencia de consumo, pero fue preferido para ovipositar. Cabe destacar que la Naranja Sweety *C. sinensis* fue el material sobre el que el insecto presentó correspondencia entre consumo y oviposición (Gallego, Caicedo, Carabalí, & Muñoz, 2012).

Compsus viridivittatus es considerado un insecto-plaga de doble acción, debido al daño que causan las larvas en las raíces y el adulto en el follaje, en las flores y en los frutos. El ciclo del insecto de huevo hasta adulto es de 105 días: el huevo tiene una duración de nueve días; el período de larvas varía entre 80 y 90 días; la pupa es de 15 días, y el adulto presenta un rango entre 220 y 250 días (Carabalí, 2015). El ciclo se inicia con la emergencia de la hembra del suelo, seguido del período de oviposición, durante el cual coloca entre 200 y 300 huevos, en masas irregulares de una, dos o tres capas, dependiendo del grado de fertilidad y de las condiciones del ambiente.

Se ha encontrado preferencia a ovipositar sobre las arvenses y el comportamiento de pegar dos hojas o unirlas por el envés ha sido poco observado en los cultivos, sugiriendo un cambio en los sitios de oviposición. Las larvas recién emergidas son curculioniformes, con la cabeza endurecida, de color marrón, ápodas, y presentan facilidad para desplazarse. El estado de larva es el más dañino, una vez caen al suelo se entierran rápidamente e inician su alimentación de raicillas y pelos absorbentes; en una etapa más avanzada, se alimentan de raíces secundarias, consumiendo la epidermis y corteza. Las larvas más desarrolladas, de aproximadamente 20 días, seleccionan un sitio e inician la construcción del "cocon" o cápsula envolvente, formada con suelo y sellada con una sustancia adherente producida por el insecto. Los daños causados por las larvas afectan el rendimiento, el tamaño y la calidad del fruto (Cano-Londoño, 2000; Carabalí, 2015; Peñaloza & Díaz, 2004).

Daño y manejo

Los daños causados por *C. viridivittatus* debilitan el sistema de raíces y producen daños en hojas, flores y frutos; en general, estos daños provocan reducción en el vigor de las plantas, en la productividad y en la longevidad de los árboles, y aumentan la susceptibilidad a hongos radiculares y vasculares (Carabalí, 2012; Montoya, 2001; Peñaloza & Díaz, 2004). Los adultos prefieren alimentarse de hojas del tercio medio de la rama, correspondientes a las de desarrollo intermedio y que aún no han alcanzado su madurez. En campo, el daño se reconoce por cortes irregulares en los márgenes de las hojas. Los adultos tienen actividad durante el día, aunque se ha observado una mayor actividad biológica en la noche (Cano, Cardenas, Bustillo, & Orozco, 2002; Carabalí, 2012).

En el caso de *C. viridivittatus*, la reducción de poblaciones de este insecto en Colombia se ha dirigido a la aplicación foliar de insecticidas para el control de adultos. Esta práctica es poco eficiente, porque se controlan los adultos y no se reduce el daño ocasionado por la larva. Entre los enemigos naturales que se han registrado para el control de *C. viridivittatus*, se destacan los hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*, y los nemátodos *Steinernema* sp., y *Heterorhabditis* sp. (Zuluaga, Caicedo, Cardozo, Muñoz, & Carabalí, 2016); por otra parte, sobre *Compsus* sp., se han registrado los parasitoides *Aprostocerus* sp. (Hymenoptera: Eulophidae), *Haeckeliana* sp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae), *Trigonospila* sp. (Diptera: Tachinidae) (Cano et al., 2002; Pérez, 2000; Soto, 2002) y *Hadrotrichodes* sp. (Hymenoptera: Eulophidae) (Cano et al., 2002). Por su alto nivel de parasitismo y frecuentes poblaciones naturales en cultivos de cítricos, *Fidiobia* sp. (Hymenoptera: Platygastridae) (figura 10.3) se considera como un eficiente parasitoide de huevos de *C. viridivittatus* (Carabalí, 2016).

Especies del género *Fidiobia* han sido registradas como parasitoides de insectos de importancia económica. Recientemente, Evans y Peña (2005) sumaron una especie más, *Fidiobia dominica* Evans & Peña, a las 13 descritas (tres de la región Neoártica, cuatro del Neotrópico y dos de África tropical). En cultivos de cítricos en Estados Unidos, se ha identificado la especie *Fidiobia citri*, parasitando huevos de especies del picudo *Diaprepes* spp. (Coleoptera: Curculionidae)

Fotos: Arturo Carabalí

Figura 10.3. *Fidiobia* sp. (Hymenoptera: Platygastridae). a. Adulto de *Fidiobia* sp.; b. Hembra con ovipositor, examinando huevos de picudo; c. Huevos de *C. virivittatus*, parasitados.

y, bajo condiciones de laboratorio, se ha documentado el parasitismo de *Fidiobia dominica*, sobre huevos de *D. abbreviatus* (Duncan, Ulmer, Peña, & Lapointe, 2007).

El género presenta tres características sobresalientes: 1) un notauli (una depresión en forma de canal) que consta de dos amplias cavidades con forma de cuña; 2) cuerpo negro y antenas amarillas con las clavas marrones; y 3) el primer segmento antenal, F1, trapezoidal, más o menos 1,5 veces tan largo como F2.

Biología reproductiva

Bajo condiciones controladas, el porcentaje de parasitismo de *Fidiobia* sp. (figura 10.3a) es del 85 % sobre huevos de *C. viridivittatus*. Una hembra de *Fidiobia* sp. puede permanecer viva en promedio 8 días, durante los cuales puede colocar hasta 80 huevos. El período de mayor parasitación de las hembras sobre huevos de picudo ocurre en las primeras 72 horas, llegando a obtener una tasa de oviposición de 27 huevos por hembra en las primeras 24 horas. El tiempo de desarrollo de huevo a adulto de *Fidiobia* sp. es de 19 días (Carabalí, 2012).

Las hembras del parasitoide de 12 a 24 horas de edad, en momentos previos a la parasitación, examinan varios huevos del hospedero con sus antenas, prefiriendo los de edad inferior a 24 horas (figura 10.3b). En contacto con los huevos, la hembra mueve el ovipositor entre la masa de huevos (promedio 30 huevos/masa) y selecciona varios de ellos; posteriormente, introduce su ovipositor en cada uno, parasitando varios de los huevos examinados. La aceptación del huevo de picudo como sitio de parasitación se reconoce porque la hembra gira alrededor del hospedero. Los huevos parasitados se diferencian entre 24 y 48 horas, por los cambios en los patrones de coloración, de blanco a amarillo claro, hasta alcanzar tonalidades más oscuras en la medida en que avanza el desarrollo del parasitoide, haciéndose visibles sus caracteres morfológicos (figura 10.3c).

Control biológico

En Colombia, el parasitismo de *Fidiobia* sp. ha sido evaluado sobre huevos de *Compsus* sp. por Estrada y Soto (2011), quienes registraron un parasitismo natural de 11 y 19 % en cultivos de cítricos (Chinchiná, Caldas); asimismo, se ha documentado *C. viridivittatus* en cultivos de cítricos del Valle del Cauca, con un parasitismo natural de 12 y 40 % (Carabalí, 2012, 2015). La variabilidad en las poblaciones de *Fidiobia* sp. y su efecto sobre el parasitismo natural e inducido están relacionados con el uso de moléculas de síntesis química en el manejo de las poblaciones de *C. viridivittatus*. La fluctuación de las poblaciones del parasitoide está estrechamente relacionada con los períodos de oviposición de las poblaciones de picudo, registrándose períodos de máxima oviposición, asociados a épocas secas con bajas precipitaciones.

Liberaciones

En Colombia, la actividad benéfica de *Fidiobia* sp. ha sido comprobada y validada en investigaciones realizadas en cultivos comerciales de cítricos, como en el municipio de Caicedonia, Valle del Cauca (Carabalí, 2016). Los programas de manejo propuestos sugieren que se deben liberar 10.000 individuos por hectárea, o en un tamaño de muestra de 20 árboles ubicar muestras de 500 huevos de *Fidiobia* sp., en el estrato medio del árbol, con una frecuencia de liberación entre dos y tres veces por período productivo (Carabalí, 2016). La liberación corresponde a huevos de picudo parasitados con pupas de *Fidiobia* sp., que se encuentran dispuestos en cintas plásticas. Los huevos parasitados en el momento de la liberación deben tener un margen de tiempo de dos días antes de su eclosión.

Uso de parasitoides exóticos para el control de insectos nativos: el caso de la caña de azúcar

La caña de azúcar es el cultivo predominante en el Valle del Cauca, con aproximadamente 270.000 hectáreas. Barrenadores del tallo del género *Diatraea* spp. son las plagas principales del cultivo. Aunque estos tienen sus enemigos naturales nativos, en 1974 se introdujeron moscas tachínidas con la esperanza de aumentar el control de la especie principal, *Diatraea saccharalis* F. (Lepidoptera: Crambidae) (Smith & Bellotti, 1996).

Más recientemente, la invasión del Valle del Cauca por otras especies barrenadores del mismo género, que se mostraron menos susceptibles al control por las moscas, llevó a una nueva introducción de una avispa parasitoide originaria de Pakistán.

Los barrenadores del tallo *Diatraea* y su control biológico mediante parasitoides de huevos y larvas

Germán Vargas,
Centro Nacional de Investigación
de la Caña de Azúcar

Los barrenadores del tallo del género *Diatraea* son reconocidos como las plagas más importantes del cultivo de la caña de azúcar en América (Postali, Machado, & Pinto, 2010; Vargas, Gómez, & Michaud, 2015; White et al., 2008). El complejo está compuesto por especies que hasta el momento se encuentran restringidas al nuevo mundo y están distribuidas desde Estados Unidos hasta Argentina. Se estima que en la actualidad existe un total de 41 especies, en las que *D. saccharalis* es la más extendida, aunque existen especies de índole local, que representan problemas en la producción dependiendo del país (Solis & Metz, 2016; Vargas, Gómez et al., 2015). En Colombia, el manejo de *Diatraea* spp. se hace exclusivamente mediante el control biológico y específicamente por liberación de insectos parasitoides de huevos y larvas.

Entre 1960 y 1982, se hizo un gran esfuerzo en la exploración y búsqueda de enemigos naturales para su importación, principalmente por parte de los ingenios Riopaila y Manuelita. Se tiene registro de al menos 11 introducciones entre avispas y moscas parasitoides de huevos, larvas y pupas de la plaga (Gaviria & Gaviria, 1998). Sin embargo, de las especies importadas solo dos moscas taquínidas parasitoides de larvas: *Lydella minense* (Townsend) (figura 10.4a) y *Billaea claripalpis* (van der Wulp) (figura 10.4b), se mostraron exitosas en su establecimiento bajo las condiciones del Valle del Cauca.

Fotos: Germán Vargas

Figura 10.4. Adultos de moscas taquínidas parasitoides de larvas de *Diatraea saccharalis* (F). a. *Lydella minense* (Townsend); b. *Billaea claripalpis* (van der Wulp).

A pesar de que se conocía que *L. minense* estaba asociada a *Diatraea* en diferentes países del continente, como Brasil y Venezuela, en Colombia no se encontraba establecida, entonces su introducción al país constituyó lo que en control biológico se conoce como una nueva asociación. Por otro lado, ya se tenía registro de una raza de *B. claripalpis* en el país, pero su ciclo de vida era muy largo, lo que la hacía poco eficiente como regulador de la plaga. Esto fue superado por la importación de la raza peruana de *B. claripalpis*, que al cruzarse con la raza colombiana resultó en una reducción ostensible de la duración del ciclo de vida y en el incremento de su eficiencia como regulador biológico (Gaviria & Gaviria, 1998). Asimismo, se cuenta con niveles importantes de parasitismo natural brindado por la mosca taquinida nativa *Genea jaynesi* (Rondani) (figura 10.5), que hasta la actualidad no ha sido posible criar bajo condiciones de cría masiva, pero que puede ser considerada como la más abundante y de mayor impacto sobre la plaga, especialmente en las zonas centro y sur del Valle del Cauca (Vargas, Obando, & Gómez, 2006).

Además, se cuenta con la posibilidad de las liberaciones del parasitoide de huevos *Trichogramma exiguum* Pinto y Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae), cuyos niveles de parasitismo sobre huevos pueden llegar hasta un 90 % en campos donde es liberado con periodicidad (Metcalfe & Brenière, 1969).

Foto: Leonardo Fabio Rivera Pedroza

Figura 10.5. Adulto de la mosca taquinida nativa *Genea jaynesi* (Rondani).

Moscas taquínidas

Lydella minense, *Billaea claripalpis* y *Genea jaynesi* son los principales taquínidos que atacan el estado de larva de los barrenadores del tallo de la caña de azúcar en Colombia. De acuerdo con Bennett (1969), la biología de estos tres parasitoides presenta características en común. Pocas horas después de la emergencia de los adultos, se da la madurez reproductiva y, ante el estímulo de la cópula, los huevos descienden de los ovarios al útero donde son fertilizados y retenidos hasta que ocurre la eclosión, alrededor de 7 a 12 días después. Las hembras larvipositan en las entradas de los huecos dejados por los barrenadores y así la larva de la mosca (cresa) penetra y ubica a su hospedante a lo largo de los túneles. Una vez ubicado su hospedante, la cresa penetra la cutícula de este con un diente cortante. Las cresas de *Lydella* y *Billaea* atraviesan la cutícula del insecto penetrando en el cuerpo del hospedante y, utilizando su parte posterior, se pegan de un conducto respiratorio del hospedante o de una de las ramificaciones de este. Por su parte, *Genea* permanece pegada del sitio de penetración, ubicándose en la hipodermis del hospedante que reacciona produciendo una estructura de embudo en la que permanece el parasitoide. El período larval de la mosca normalmente puede tomar entre 7 y 10 días, tiempo después del cual el hospedante muere y los parasitoides empupan en el túnel creado por el barrenador; el estado de pupa dura entre 9 y 12 días.

Bennet (1969) también sugiere que estos taquinidos, en particular *L. minense*, se guían por el olor de las larvas de *Diatraea*, sin evidenciar preferencia entre diferentes especies. Las hembras larvipositan en cualquier lugar que presente olores de las larvas de *Diatraea*, que son especialmente atraídas por el excremento dejado por los barrenadores en las salidas de los túneles. Luego, la cresa es guiada por fototaxis negativa y ubica a su hospedante mediante la exploración aleatoria de los túneles.

Los adultos son insectos de vuelo muy activo, lo que ha representado dificultades para seguir sus movimientos en el campo y ha hecho que no exista mucha información acerca de su dispersión (Stireman, O'Hara, & Wood, 2006). Sin embargo, Jaynes (1933, citado por Bennett, 1969) señala que los adultos de *Billaea* son difícilmente encontrados en los campos de caña, a pesar de altos niveles de parasitismo, y estos se ubican principalmente en los árboles que rodean los cultivos, siendo en su mayoría machos, mientras que en los cultivos la mayoría de los individuos observados son hembras. Las hembras recolectadas en los árboles circundantes a los cultivos resultaron no apareadas o solo recientemente apareadas, mientras que aquellas recolectadas en los campos de caña resultaron siempre apareadas, aunque no siempre listas para larvipositar.

De acuerdo con el autor, esto sugeriría que luego de la emergencia de los adultos estos se congregan en los arboles circundantes al lote cultivado y retornan al cultivo solo para alimentarse y larvipositar.

Al respecto Vargas et al. (2006) señalan que *G. jaynesi* es observada frecuentemente alimentándose de néctares ofrecidos por plantas acompañantes en los callejones y bordes de los cultivos de caña. Alguna información acerca de la capacidad de dispersión es brindada por Summers, King, Martin y Jackson (1976) en el caso de las liberaciones de la mosca cubana *Lixophaga diatraeae* (Townsend) en la Florida, donde luego de cinco generaciones de la mosca los parasitismos sobre *D. saccharalis* se habían detectado hasta 3,2 kilómetros de los sitios originales de liberación, lo que sugiere que cada generación tuvo una dispersión de 0,6 kilómetros.

Trichogramma exiguum

En Colombia, existen varias referencias que han demostrado el uso exitoso de especies pertenecientes al género *Trichogramma* para controlar plagas en diferentes cultivos tales como algodón, soya, tomate y yuca (Vélez, 1997). Estudios realizados a mediados de la década de los años noventa encontraron que *T. exiguum* era la única especie que se recuperaba de huevos de al menos tres especies de *Diatraea* (*D. saccharalis*, *D. indigenella* y *D. rosa*), mientras que la especie producida en los laboratorios y liberada comercialmente era *Trichogramma pretiosum*, es decir que se había venido liberando la especie equivocada (Gómez, Díaz, & Lastra, 1996).

En la actualidad, se sabe que la cría de *T. exiguum* requiere de condiciones especiales, entre ellas la no cercanía a crías de *T. pretiosum* Riley, que es una especie mucho mejor adaptada a las condiciones de cría masiva y que tiende a desplazar a las poblaciones de *T. exigumm* criadas en laboratorio (Gómez et al., 1996). De acuerdo con lo anterior, *T. exiguum* es el parasitoide que se recomienda utilizar en el combate de *Diatraea* spp. en Colombia, debido a que se encuentra mejor adaptada al agroecosistema de la caña de azúcar y a su hospedante en el campo. La forma más fácil de distinguir *T. exiguum* de su más posible contaminante *T. pretiosum* es mediante la observación de las antenas de los machos, utilizando un microscopio estereoscópico. Las antenas de los machos de *T. exiguum* son cortas, gruesas y solo se hacen más delgadas en la parte distal, mientras que *T. pretiosum* presenta antenas largas y delgadas (Gómez et al., 1996).

Según Metcalfe y Brenière (1969), la actividad de los adultos está asociada con la luz y el parasitismo es más alto en condiciones de alta luminosidad que de sombra, dado que las avispas tienen un marcado fototaxismo positivo y se localizan principalmente en las áreas más expuestas de las plantas. Colazza, Peri, Salerno y Conti (2009) señalan que las hembras de *Trichogramma* permanecen como "flotando" en un radio no muy lejano de su sitio de emergencia hasta detectar una señal química de la presencia del hospedante, lo que las hace aterrizar en las plantas y caminar sobre sus estructuras en la búsqueda de más señales químicas del hospedante que las conduzcan finalmente hasta las posturas. Una vez las posturas de *Diatraea* han sido localizadas, la hembra examina cuidadosamente el huevo caminando sobre él y palpándolo con sus antenas; si el huevo es aceptado, la hembra atraviesa el huevo con su ovipositor para depositar su descendencia. Al final del desarrollo larval de *Trichogramma*, los huevos de *Diatraea* se tornan negros.

Al respecto Geetha y Balakrishnan (2010) han encontrado que la dispersión de *Trichogramma chilonis*, utilizada en contra del barrenador de la caña en la India, *Chilo sacchariphagus* (Bojer) (Lepidoptera: Crambidae), fue más alta a edades tempranas del cultivo (45 días) en comparación con cultivos de siete meses de edad, y que el parasitoide fue capaz de desplazarse hasta 10 m del sitio de liberación hasta una edad de cinco meses del cultivo, tiempo a partir del cual la capacidad de dispersión disminuyó, lo que indica que los sistemas de liberación deben asegurar que las avispas tengan una buena distribución en el cultivo.

Cotesia flavipes

Cotesia flavipes Cameron (Hymenoptera: Braconidae) (figura 10.6) es un parasitoide de larvas que se ha introducido en aproximadamente 40 países desde 1950, con el propósito de controlar plagas barrenadoras del tallo de diferentes cultivos de la familia Poaceae (Muirhead, Murphy, Sallam, Donnellan, & Austin, 2006). Este parasitoide es reconocido por hacer parte de un complejo de cuatro especies conformado por *C. flavipes*, de la región Indo-Asiática; *C. sesamiae* (Cameron), de África; *C. chilonis* (Matsumara), de China y Japón, y *C. nonagriae* (Oliff), de Australia y Papua Nueva Guinea (Muirhead, Murphy, Sallam, Donnellan, & Austin, 2012); de estas especies se puede hacer separación morfológica, principalmente mediante la observación de la genitalia del macho, pero que se hace difícil debido a variación intraespecífica (Muirhead, Austin, & Sallam, 2008).

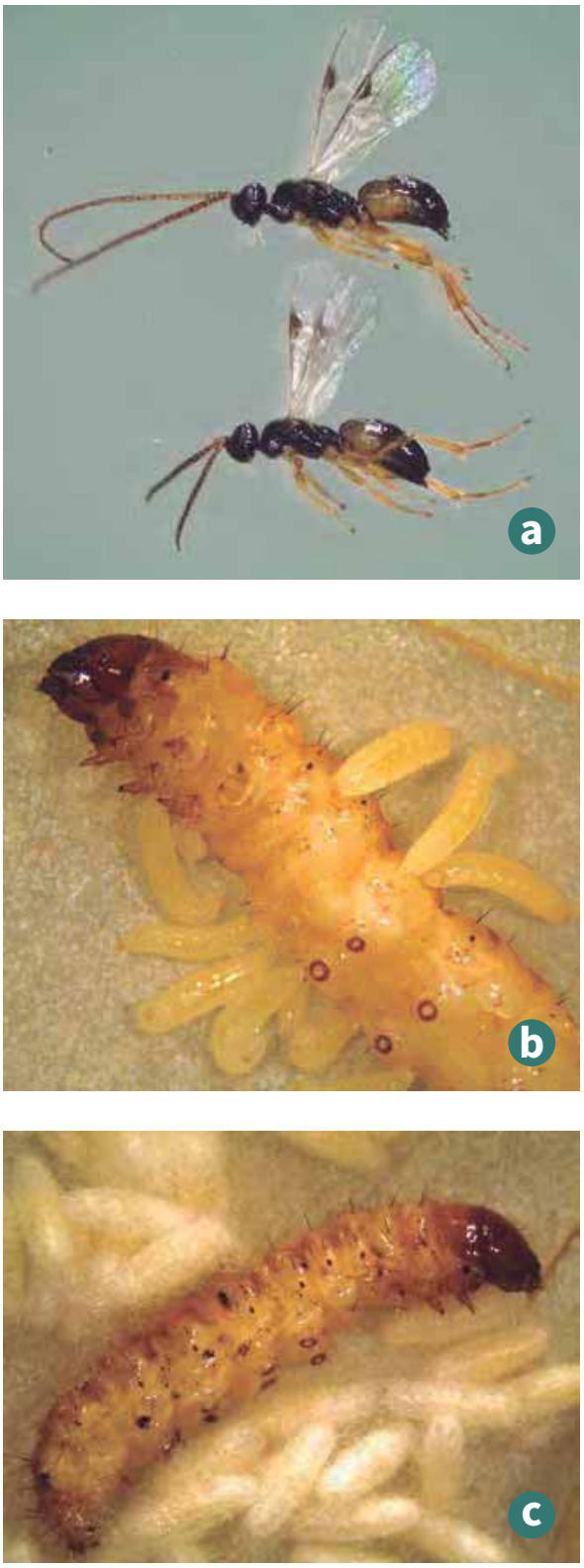
En Asia y África, el principal objetivo de las introducciones de *C. flavipes* fue *Chilo* spp. (Lepidoptera: Crambidae) en sorgo (*Sorghum bicolor*) y maíz (*Zea mays*) (Muirhead et al., 2006); en América, lo fue el control del barrenador *D. saccharalis* (Potting, Vet, & Overholt, 1997) y su introducción resultó en la regulación de la plaga en el Caribe, Centro y Suramérica, y en algunos estados del sur de los Estados Unidos (Badilla, 2002; Badilla, Solís-Soto, & Alfaro-Solís, 1991; Gifford & Mann, 1967), con excepción de Luisiana, donde a pesar de altos niveles de parasitismo en el primer año de las liberaciones no se encontró el establecimiento de su población a la siguiente estación de primavera, indicando que este parasitoide no sobrevivió al invierno (White, Reagan, Mith, & Salazar, 2004).

En Brasil, la introducción de *C. flavipes* en 1978, desde Pakistán e India, resultó en un establecimiento exitoso del benéfico y la mejora en los resultados de manejo de *D. saccharalis*, en comparación con las moscas taquínidas que en ese momento eran utilizadas: *L. minense* y *B. claripalpis* (Botelho, 1992; Postali et

al., 2010). En Colombia, liberaciones masivas del parasitoide fueron llevadas a cabo entre 1975 y 1982 en la región del valle del río Cauca y en los departamentos de Santander y Norte de Santander; sin embargo, su establecimiento no fue posible en el valle del río Cauca, mientras que esto sí ocurrió en los otros dos departamentos, sin tener a la fecha una explicación de esta diferencia (Gaviria, 1990). Al mismo tiempo, en el valle del río Cauca se estaba trabajando en el establecimiento de las mosca *L. minense*, que se adaptó satisfactoriamente sobre *D. saccharalis* y resultó en su principal enemigo natural en el combate de la plaga en la región (Vargas, Villegas et al., 2015), lo que llevó a no insistir en intentos adicionales de establecimiento de *C. flavipes*, y de forma consecuente no se tenía registro de la presencia del parasitoide en el valle del río Cauca hasta comienzos de la década del 2010 (Vargas et al., 2006). Los brotes recientes de la plaga en el valle del río Cauca, debido principalmente a la aparición de dos nuevas especies en la región, como *D. tabernella* y *D. busckella* (Vargas, Villegas et al., 2015), llevaron al estudio de las liberaciones de *C. flavipes* como alternativa de manejo para estas nuevas plagas, lográndose el establecimiento del parasitoide en la zona norte del Valle (Vargas, Villegas et al., 2015), y se espera que continúe su expansión hacia el resto de la región.

Posibles efectos de la introducción de caña genéticamente modificada sobre el control biológico

El Centro de Tecnología Canavieira (CTC) del Brasil tiene previsto realizar el lanzamiento de la primera variedad transgénica comercial de caña de azúcar. La caña CTC 20, conocida por su alta productividad, fue modificada genéticamente con la inclusión del gen Bt, para conferirle a la planta resistencia a los insectos del orden Lepidoptera, en el que se encuentran los barrenadores del tallo *Diatraea* spp., que causan pérdidas anuales estimadas en tres billones de Reales brasileños. El desarrollo de esta nueva variedad de caña podría verse como una amenaza directa para el control biológico de esta plaga; sin embargo, situaciones como la dificultad de una adaptación generalizada de la variedad en diferentes áreas sembradas en el país



Fotos: Luz Adriana Lastra Borja

Figura 10.6. *Cotesia flavipes* Cameron (Hymenoptera: Braconidae). a. Adultos de *C. flavipes* en vista lateral; b. Larvas de *C. flavipes* de último instar abandonando el hospedero *D. saccharalis*; c. Pupas de *C. flavipes*.

y en otros países de la región hacen pensar que otras variedades más productivas y menos resistentes a la plaga seguirán siendo sembradas a expensas de un manejo mediante control biológico, que usualmente resulta en unos costos muy bajos, si se tiene en cuenta que en Colombia el control biológico en el valle del río Cauca usualmente no supera el 2 % de los costos totales de producción.

El éxito en el control de los barrenadores no será el obstáculo más grande que una variedad transgénica podría afrontar en su acogida comercial, sino su capacidad de producción de biomasa, su concentración de azúcar y, asimismo, la estabilidad en su productividad durante al menos cuatro o cinco ciclos consecutivos de cultivo. Por otro lado, el desarrollo de tecnologías que se articulen armónicamente con las herramientas actuales de control biológico tendría una mayor aceptación en el mercado, por el hecho de que los clientes consumidores del azúcar están solicitando cada vez más productos orgánicos o provenientes de procesos que no involucren variedades transformadas genéticamente.

Tamarixia radiata (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae), parasitoide del psílido asiático de los cítricos, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae)

Takumasa Kondo,
Corporación Colombiana
de Investigación Agropecuaria
(AGROSAVIA)

En Colombia, hay 160.408 ha sembradas con cítricos, con un total de 1.681.877 toneladas de fruta fresca cosechada en 2013 (Departamento Administrativo Nacional de Estadística [DANE], 2016). Una especie invasora reciente, el psílido cítrico asiático *D. citri*, se ha convertido en una importante plaga de cítricos en Colombia. En diciembre del 2015, el ICA declaró una emergencia fitosanitaria en territorio colombiano cuando detectó adultos de *D. citri* que dieron positivo para la bacteria *Candidatus* Liberibacter asiaticus, agente causal del Huanglongbing de los Cítricos (HLB, por su sigla en chino) en el departamento de La Guajira (Resolución 2390, 2015). Actualmente, la enfermedad se ha extendido a otros departamentos del norte de Colombia y, desde entonces, el ICA ha llevado a cabo la erradicación de árboles infectados y programas de control químico para el manejo del insecto vector *D. citri*. El control biológico de *D. citri* se realiza mediante liberaciones de su principal parasitoide, *Tamarixia radiata* (figura 10.7), pero también existen enemigos naturales nativos que controlan al psílido.

Diaphorina citri Kuwayama

El psílido asiático de los cítricos *D. citri* es una plaga de importancia económica en muchas regiones citrícolas del mundo (Halbert & Manjunath, 2004). *Diaphorina citri* tiene una amplia distribución, repor-

Foto: Cesar Armando Velasco Mariño

Figura 10.7. Adulto de *Tamarixia radiata*, detectando ninfas de *Diaphorina citri*.

tada en Asia (Afganistán, Bangladesh, Camboya, China, Hong Kong, India, Indonesia, Japón [Islas Ryukyu], Laos, Macao, Malasia, Myanmar, Nepal, Pakistán, Filipinas, Arabia Saudita, Singapur, Sri Lanka, Taiwán, Tailandia, Vietnam), África (Mauricio, Reunión), Caribe (Bahamas, Belice, Islas Caimán, Cuba), América del Sur (Argentina, Brasil, Colombia, Paraguay, Uruguay y Venezuela) y Norteamérica (Estados Unidos) (Augier, Gastaminza, Lizondo, Argañaraz, & Willink, 2006; Cermeli, Morales, Perozo, & Godoy, 2009; European and Mediterranean Plant Protection Organization [EPPO], 2005; Étienne, Quilici, Marival, & Franck, 2001; Halbert & Núñez, 2004; Resolución 2390, 2015; Villalobos, Hollis, Godoy, & Rivera, 2005). *Diaphorina citri* fue reportada en Colombia por primera vez en 2007 y se ha registrado en los departamentos de Antioquía, Atlántico, Bolívar, Caldas, Cauca, Cesar, Córdoba, Cundinamarca, Magdalena, Meta, Norte de Santander, Quindío, Risaralda, Santander, Sucre, Tolima y Valle del Cauca (Resolución 2390, 2015).

Este psílido puede causar daño directo al succionar grandes cantidades de savia, inyectando toxinas que causan la malformación de hojas y brotes, e induciendo el crecimiento de hongos sobre el mielato que excretan (Michaud, 2004). Además, *D. citri* es vector de la bacteria gram-negativa limitada al floema *Candidatus* Liberibacter asiaticus, uno de los patógenos que causan la enfermedad devastadora de los cítricos HLB o la enfermedad del enverdecimiento de los cítricos (Halbert & Manjunath, 2004).

Tamarixia radiata (Waterston) y otros enemigos naturales de *D. citri*

Debido a la importancia de *D. citri* como vector de HLB, el control de este insecto es un componente crítico de prevención, contención y manejo de enfermedades. En la Isla de la Reunión, donde se ha introducido *D. citri*, el psílido ha sido controlado con éxito con el ectoparasitoide *T. radiata*, introducido desde Pakistán (Étienne & Aubert, 1980). *Tamarixia radiata* se ha reportado en Argentina, Brasil, China, Filipinas, India, Indonesia, Isla de Guadalupe, Malasia, Mauricio, México, Nepal, Pakistán, Puerto Rico, Reunión, Taiwán, Tailandia, Estados Unidos (Florida, Texas), Venezuela y Vietnam (Cermeli et al., 2009; Mann & Stelinski, 2010; Zuparko, De Queiroz, & La Salle, 2011). A mediados del 2011, se sospechaba que *T. radiata* parasitaba *D. citri* en huertos de cítricos en el departamento de Cundinamarca, Colombia (Rubio-González, Zambrano-Gómez, Castro-Ávila, Costa, & Ebratt-Ravelo, 2011), y su confirmación taxonómica ocurrió en 2012 (Ebratt-Ravelo et al., 2011a, 2011b; Kondo, Quintero, Campuzano, Wyckhuys, & Heraty, 2012).

Hay 47 especies de *Tamarixia* descritas y solo hay claves para su identificación a nivel regional en América del Norte, Europa e India (Zuparko et al., 2011). Antes de la introducción de *T. radiata*, *Tamarixia* no se había registrado en América del Sur, a excepción de uno que otro registro ocasional a nivel de género (LaSalle, 1994). *Tamarixia radiata* se puede distinguir de otras especies del género por la combinación de los siguientes caracteres morfológicos: i) presencia de un espéculo alar con setas escasas; ii) femora y tibia por lo general completamente amarillos, al menos ligeramente oscurecidos dorsalmente; iii) el disco propodeal liso y sin carina entre el espiráculo y la carina media, y iv) el abdomen oscuro lateralmente y el dorso medialmente amarillo (menos pronunciado y más anterior en el macho). El macho tiene un órgano sensorial ventral característico situado en el tercio basal del escapo en lugar de estar situado en la parte media. Debido a los recientes esfuerzos de control biológico, *T. radiata* se está propagando en las regiones productoras de cítricos en todo el mundo (Michaud, 2004; Noyes, 2011; Zuparko et al., 2011).

Control biológico

Un estudio realizado en el departamento del Valle del Cauca encontró un total de 16 especies de enemigos naturales del psílido asiático de cítricos, distribuidos en seis familias en cinco órdenes: *Azya orbigera* Mulsant, *Cheilomenes sexmaculata* (Fabricius), *Chilocorus* cf. *cacti* (L.), *Curinus colombianus* Chapin, *Cycloneda sanguinea* (L.),

Harmonia axyridis (Pallas), *Hippodamia convergens* Guérin-Méneville, *Olla v-nigrum* (Mulsant), *Scymnus rubicundus* Erichson (Coleoptera: Coccinellidae), *Allograpta* (*Fazia*) CR-2 aff. *hians* (Enderlein), *Leucopodella* sp. (Diptera: Syrphidae), *Zelus* cf. *nugax* Stål (Hemiptera: Reduviidae), *Polybia* sp. (Hymenoptera: Vespidae), *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae), *Ceraeochrysa* sp. y *Ceraeochrysa* cf. *claveri* (Navás) (Neuroptera: Chrysopidae) (Kondo, Tauber, Sarmiento, Mondragón, & Forero, 2015).

La Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA) tiene en marcha un programa de cría masiva y liberación en campo del principal parasitoide de *D. citri*, *T. radiata*, desde 2013, con fines de investigación. El programa de liberación masiva de AGROSAVIA está dirigido a mantener poblaciones de *D. citri* en niveles bajos en áreas urbanas, jardines de casas, setos y arbustos de la familia Rutaceae (por ejemplo, *Citrus* spp., *Swinglea glutinosa* y *Murraya paniculata*). Dado que las poblaciones de *D. citri* pueden actuar como reservorios para la bacteria causante del HLB, es indispensable realizar su control. La producción masiva de *T. radiata* es una operación costosa, que requiere mucha mano de obra, lo que consume el 84,8 % de los costos de producción; por lo tanto, esta producción no es viable comercialmente y generalmente necesita ser subvencionada o financiada por el Estado.

Control biológico clásico

El control biológico clásico se aplica cuando una plaga o planta invasora llega a un área en donde no existen organismos para su control biológico naturales. La introducción deliberada de estos organismos con el fin de reestablecer el equilibrio entre plaga y sus controladores es la esencia de este método. Es un proceso demorado porque una introducción solamente se implementa después del estudio detallado de los benéficos en su lugar de origen, un análisis riguroso del riesgo potencial relacionado con la introducción y un proceso de cuarentena para evitar el traslado de organismos indeseados o nocivos.

Parasitoides de origen africano para el control de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) en Colombia

Alex Enrique Bustillo Pardey,
Centro Nacional de Investigación de Palma de Aceite

La broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari), es la plaga más seria que amenaza la caficultura en el mundo, y para la cual los países cafeteros invierten muchos recursos económicos en su manejo y control. En Colombia, las condiciones climáticas de la zona cafetera y los diferentes ecosistemas en los que prospera la caficultura hacen que este problema sea aún de mayor relevancia que en otras partes del mundo. Por esa razón, la Federación Nacional de Cafeteros, a través de su Centro Nacional de Investigaciones del Café (Cenicafé), puso mucho esfuerzo logístico y económico para desarrollar programas de investigación para su control, así como para la divulgación de esta información a los caficultores a través de su Servicio de Extensión. Estas actividades han permitido la sostenibilidad económica y ecológica de la caficultura colombiana.

Para controlar la broca, es necesario utilizar todas las herramientas que se encuentren disponibles, como las prácticas de control cultural y de manejo agronómico del cultivo del café que reduzcan sus poblaciones; el fomento de la fauna benéfica; la introducción desde su sitio de origen de enemigos biológicos como parasitoides y entomopatógenos, que jueguen un papel importante en la reducción de las poblaciones de *H. hampei*. Entre estos organismos, se demostró que los parasitoides *Cephalonomia stephanoderis* Betrem, *Prorops nasuta* Waterston, *Phymastichus coffea* La Salle y el hongo *Beauveria bassiana* (Bálsamo) Vuillemin son componentes importantes en un programa de control biológico de la broca del café (Bustillo, 1991, 1995; Orozco & Aristizábal, 1996).

Para el caso de *H. hampei*, el manejo integrado de la broca se enfocó dentro de un programa que permitiera en una forma compatible realizar medidas de control cultural, biológicas y de prácticas agronómicas,

tendientes a reducir sus poblaciones a niveles que no causen daño económico y que permitan la producción de café para exportación en forma competitiva (Bustillo et al., 1998).

Este apartado pretende informar sobre los resultados de las investigaciones con la introducción, producción masiva, establecimiento e impacto en la caficultura con los parasitoides de origen africano, introducidos a Colombia.

Parasitoides contra la broca del café

Tan pronto se detectó la presencia de *H. hampei* en Colombia a finales de 1989, se iniciaron actividades para introducir especímenes de *C. stephanoderis* desde Togo, África, a través de cuarentenas establecidas en Inglaterra y supervisión del ICA a su llegada al país (Centro Nacional de Investigaciones del Café [Cenicafé], 1990). Más tarde, se logró la introducción de *P. nasuta*, que junto con *C. stephanoderis* tienen hábitos similares depredando y parasitando estados inmaduros de la broca. Finalmente, se introdujo una tercera especie: *P. coffea*, cuyo hábito es parasitar el adulto de la broca cuando esta inicia la penetración del fruto de café.

Cephalonomia stephanoderis Betrem (Hymenoptera: Bethylidae), conocida como la "avispita de Togo", fue descrita por Betrem (1961); es originaria de África Occidental y su presencia se ha constatado en Costa de Marfil, Camerún, Zaire y Togo (Koch, 1973; Ticheler, 1963). El adulto es una avispita pequeña de color negro, que mide entre 1,6 y 2,0 mm de largo; se caracteriza por atacar todos los estados de la broca del café cuando coloniza los frutos infestados por este insecto (figura 10.8).

Este parasitoide primero mata el adulto de la broca; luego, se alimenta de su hemolinfa y saca su cuerpo fuera del fruto para facilitar su penetración. Una vez adentro del fruto, consume los huevos y las larvas de primer instar. Posteriormente, paraliza las larvas de segundo instar, así como las prepupas y pupas de la broca, y sobre estos estados oviposita; así, sus larvas actúan como ectoparásitos sobre las larvas y pupas de la broca. Cuando completa su desarrollo, forma un

Fotos: Banco de fotos AGROSAVIA

Figura 10.8. Adulto del parasitoide de la broca, *Cephalonomia stephanoderis*.

capullo blanco bajo el cual empupa, para más tarde alcanzar su estado adulto (Bustillo, Orozco-Hoyos, Benavides-Machado, & Portilla-Reina, 1996).

El ciclo de vida de *C. stephanoderis* depende de las condiciones de temperatura; varios autores indican que la duración de huevo a adulto toma entre 23 y 30 días (Abraham, Moore, & Godwin, 1990; Delgado & Sotomayor, 1990; Orozco & Aristizábal, 1996; Ticheler, 1963). Este parasitoide fue inicialmente encontrado en Costa de Marfil, aunque las colonias de *C. stephanoderis* que sirvieron para su introducción en México y Ecuador en 1988 fueron colectadas en Kenya por el IIBC de Inglaterra (Moore & Prior, 1988), e introducidas posteriormente también a Indonesia, Jamaica y Nueva Caledonia en 1989. Especímenes de *C. stephanoderis* se introdujeron a Colombia en 1990 desde Togo, a través de una cuarentena en Inglaterra, en colaboración con CAB Bioscience, Ascot, en donde dicho parasitoide se reprodujo usando material de broca procedente de Colombia. Esto decidió hacerse de acuerdo con el ICA, para evitar el transporte de patógenos del fruto de café desde África a la caficultura colombiana, tales como otras razas de la roya, *Hemileia vastatrix*, y la enfermedad de la cereza del café, producida por *Colletotrichum coffeanum*.

Prorops nasuta Waterston (Hymenoptera: Bethylidae) es un parasitoide conocido como la "avispita de Uganda", que fue descrito por Waterston en 1923. Sin embargo, fue Hargreaves (1926, 1935) quien informó sobre la importancia que tenía como controlador biológico de la broca en Uganda. Se encuentra distribuido en zonas cafeteras de Uganda, Tanzania y el Congo y está bastante generalizado en África Occidental (Le Pelley, 1968). Los adultos de esta avispita son negros, miden entre 2 y 2,3 mm de largo. La biología y los hábitos de *P. nasuta* son muy similares a los de *C. stephanoderis*; ponen sus huevos en las larvas de la broca y de ahí emergen las larvas que realizan la parasitación (figura 10.9). Sin embargo, prefieren reproducirse en las pupas de *H. hampei*. A Colombia se introdujeron individuos de *P. nasuta* en 1989 provenientes de Togo a través de cuarentena en Inglaterra (Cenicafé, 1990). Luego se logró la colaboración del Servicio de Sanidad Agropecuaria de Ecuador para la introducción de unos 200 ejemplares, en 1991.

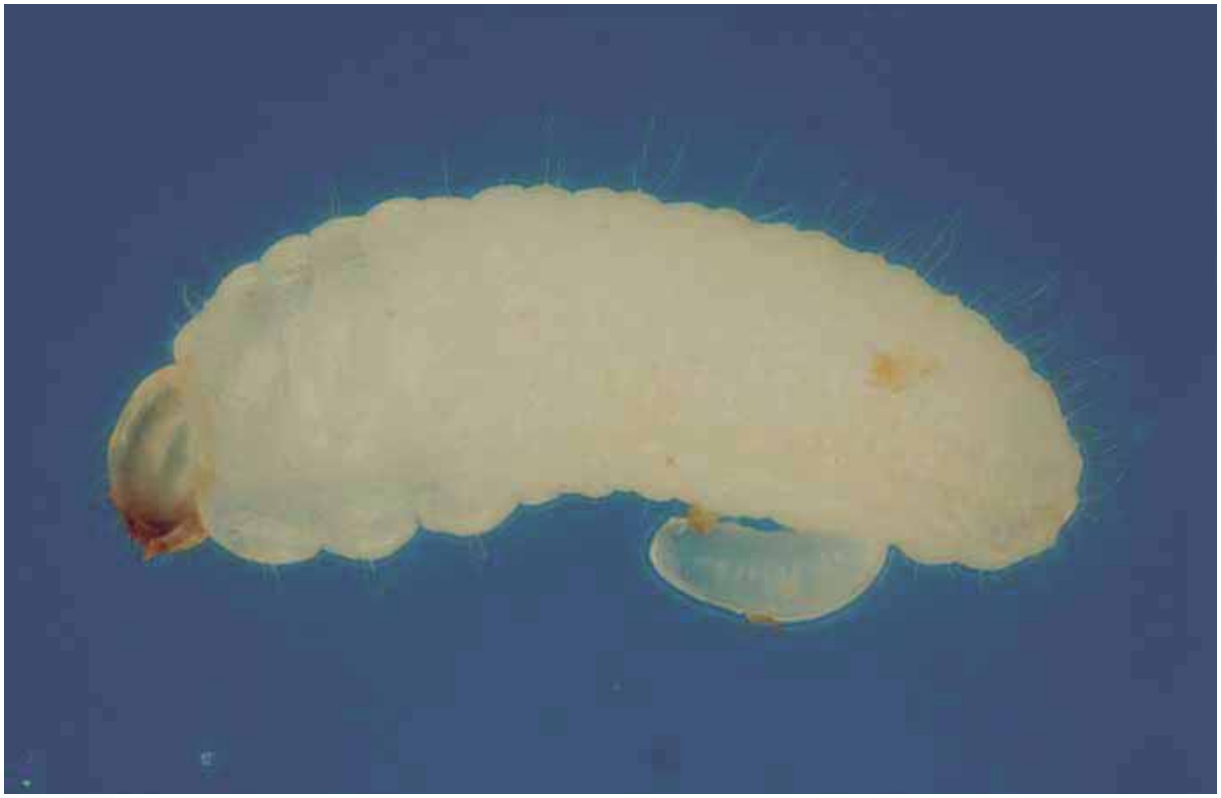


Foto: Juan Carlos Ortiz, Cenicafé

Figura 10.9. Larva de II instar de *Hypothenemus hampei*, parasitada por una larva del ectoparasitoide, *Prorops nasuta*.

Foto: Alex Bustillo, Cenicafé

Figura 10.10. Brocas perforando fruto de café.

Prorops nasuta se ha distribuido desde África a muchas zonas cafeteras del mundo. Se introdujo desde Uganda a Brasil en 1929, a Indonesia en 1923, a Sri. Lanka en 1938 y a México e Indonesia en 1989. La introducción de *P. nasuta* a Brasil en 1929 en zonas cafeteras infestadas por broca fue exitosa y se logró su establecimiento; sin embargo, el uso intensivo de insecticidas químicos después de la década de los años cuarenta afectó el interés por el uso de enemigos naturales para el control de la broca en Brasil (Toledo, Duval, & Sauer, 1947). A pesar del uso continuado de productos químicos durante varias décadas y la presencia de heladas en el estado de Sao Paulo, Brasil, Yokoyama, Nakano, Rigitano y Nakayama (1977) registraron el establecimiento de *P. nasuta*, demostrándose la gran capacidad de adaptación de este parasitoide. Ejemplares de *P. nasuta* en Brasil fueron introducidos a Ecuador en la década de los años ochenta. La introducción de esta raza de *P. nasuta* a Colombia, desde Ecuador, obedeció a que, al comparar su comportamiento en campo con la recibida en Colombia desde Togo, mostró mayor capacidad de establecimiento y supervivencia, probablemente debido a que la raza ecuatoriana provenía de Brasil y después de 50 años de estar en el continente americano desarrolló una mayor adaptación a los ecosistemas cafeteros americanos (Benavides, Bustillo, & Montoya, 1994; Bustillo et al., 1996).

Tanto para *C. stephanoderis* como para *P. nasuta* se ha encontrado una importante depredación sobre los adultos que se encuentran colonizando los frutos. Evaluaciones de esta acción indican que está entre un 48 % y hasta un 65 % para *C. stephanoderis* (Aristizábal, Bustillo, Baker, Orozco, & Chaves, 1998), mientras que para el caso de *P. nasuta* estos niveles se han registrado entre el 60 y el 70 % de depredación (Bacca-Ibarra, 1999).

Debido al comportamiento de *C. stephanoderis* y de *P. nasuta*, se recomienda la liberación en los cafetales

dirigidas a los frutos maduros, sobre maduros y secos que no fueron recolectados y se quedaron en el árbol (figura 10.10). Por tanto, las épocas más oportunas para liberarlos son al terminar la cosecha principal y después de la mitaca. Los parasitoides se liberan en los "focos" de la finca donde los niveles de infestación son más altos (Aristizábal, Bustillo, Orozco, & Chaves, 1998). En cambio, *P. coffea*, que parasita los adultos de la broca al momento de su penetración en los frutos, debe liberarse cuando los frutos están en crecimiento y son susceptibles de ser atacados por los adultos de la broca.

Phymastichus coffea La Salle (Hymenoptera: Eulophidae) es otro parasitoide que fue originalmente descubierto en África centro-occidental, en Togo en 1987, y posteriormente en Kenya (Borbon, 1989). Fue descrita como nueva especie por LaSalle (1990) y se encuentra distribuida desde África occidental (Benín, Camerún, Costa de Marfil y Togo), hasta África oriental (Burundi, Uganda y Kenia). Esta especie fue introducida a Colombia en 1997, bajo el mismo convenio con el CAB Bioscience, Ascot, de Inglaterra, traídos desde Togo, con una cuarentena en Inglaterra.

Phymastichus coffea es un endoparasitoide de adultos de la broca cuando esta inicia su penetración en los frutos de café, siendo un complemento ideal con las otras dos especies de parasitoides para el control de *H. hampei*. El ataque en el campo ocurre cuando los adultos de broca inician su colonización en la cereza y su abdomen está aún expuesto (figura 10.11).

Recién emergidos los parasitoides, reposan sobre el fruto para luego iniciar la búsqueda de su huésped. Una vez encontrado, la hembra se coloca encima del cuerpo de la broca y con su ovipositor penetra los élitros de la broca y coloca dos huevos de los que casi siempre uno genera un macho y el otro, una hembra. Aunque se ha observado superparasitismo, debido a que el insecto no detecta las brocas ya parasitadas,

Foto: Juan Carlos Ortiz, Cenicafé

Figura 10.11. Adulto de *Phymastichus coffea*, parasitando una broca del café, al momento de penetrar en un fruto.

Foto: Pablo Benavides

Figura 10.12. Larva de *Phymastichus coffea* dentro del tórax de un adulto de la broca.

normalmente no se desarrollan más de dos avispitas por adulto de broca (Echeverry, 1999). En el interior de la broca, las larvas de *P. coffea* consumen su contenido interno. Antes de empupar, la larva del macho se mueve hacia el pronoto y la larva de la hembra se desplaza internamente hacia el abdomen. Al terminar su período pupal, la hembra hace un orificio circular y, por allí, emergen los adultos (figura 10.12). El ciclo de vida tiene una duración de 38 días desde el estado de huevo hasta el de adulto; la longevidad del adulto hembra es de tres días. La duración de sus estados es como sigue: huevo, 2,5 días; larva, 10 días; prepupa, 1,5 días; pupa 18 días (Vergara, Orozco, Bustillo, & Chaves, 2001a). En cuanto al parasitismo, Borbon (1989) registró porcentajes de parasitismo en campo en Togo, entre el 12 y el 30 %; sin embargo, en Colombia se encontraron parasitismos entre 41,2 y 66,5 % (Vergara, Orozco, Bustillo, & Chaves, 2001b).

En condiciones de campo, se ha comprobado una alta capacidad de búsqueda y adaptación de *P. coffea* sobre poblaciones de la broca (Vergara et al., 2001a). Los estudios sobre dispersión mostraron una buena capacidad para establecerse en el campo, aún en presencia de poblaciones de broca inferiores al 5 % de infestación (Vergara et al., 2001b). Después de comprobar su selectividad a especies de Scolytinae (López, Baker, Cock, & Orozco, 1997), se autorizó por parte del ICA su liberación en los cafetales colombianos.

Jaramillo, Bustillo, Montoya y Borgemeister (2005) determinaron la capacidad de parasitismo de *P. coffea* sobre poblaciones de *H. hampei* en frutos de café de diferentes edades, encontrando que es mayor cuando la broca está en posiciones de penetración en el fruto y la edad de desarrollo del fruto está entre 70 y 170 días después de la floración. Por otra parte, Aristizábal, Salazar, Mejía y Bustillo (2004), a través de una investigación participativa con caficultores, demostraron que estos parasitoides se pueden recuperar de las áreas en donde fueron liberados.

Producción masiva de los parasitoides de la broca del café

La producción masiva de *P. nasuta* y *C. stephanoderis* ha sido bien documentada (Bustillo et al., 1998, 1996; Orozco & Aristizábal, 1996; Portilla et al., 1994), y se basó en el desarrollo de una metodología para reproducir la broca en condiciones asépticas, utilizando café pergamino "seco de agua" que tiene una humedad aproximada del 40%. Estos se depositan en bandejas de aluminio con orificios laterales para la ventilación (figura 10.13).

Estos granos de café, con los estados de broca apropiados en su interior, se colocan en contacto con los parasitoides para su reproducción. Cuando el parasitoide realiza su parasitación se pueden observar muchos estados de la avispita al abrir los granos. Esta metodología permitió la producción de millones de avispitas mensuales en los laboratorios de Cenicafé de las especies *C. stephanoderis* y *P. nasuta*. Esta información se transfirió a 11 laboratorios particulares, con los que la Federación de Cafeteros contrató la producción masiva, para iniciar liberaciones de los parasitoides en fincas cafeteras infestadas con la broca.

Durante este proyecto, entre 1993 y 1998 se liberaron, a través de actividades conjuntas con el servicio de Extensión de la Federación Nacional de Cafeteros, cerca de 1.600 millones de parasitoides en los departamentos cafeteros infestados con la broca del café en Colombia. El objetivo final de este programa se cumplió con el establecimiento de estos parasitoides en la zona cafetera infestada con broca, incrementando así sus enemigos en los cafetales colombianos (Bustillo et al., 1998).

En relación con *P. coffea*, se desarrolló un proceso de producción masiva diferente, debido a que el sustrato de los insectos que requiere para su reproducción son los adultos de la broca (Orozco, 2002; Orozco & Aristizábal, 1996).

Foto: Alex Bustillo, Cenicafé

Figura 10.13. Bandejas con café pergamino seco de agua, utilizado para la cría masiva de broca del café y de sus parasitoides.

Establecimiento de los parasitoides en Colombia

El establecimiento de estas dos especies de parasitoides fue evidente en todas las zonas donde se liberaron. El parasitismo ocasionado por *C. stephanoderis* es dependiente de las densidades de *H. hampei* y aumenta cuando las poblaciones de la broca son mayores (Benavides et al., 1994). En estudios de campo se determinó que *C. stephanoderis* redujo significativamente el número de estados biológicos de la broca, tanto en frutos recolectados en árboles como en frutos del suelo (Aristizábal, Orozco, & Baker, 1996).

Después de realizar liberaciones de *P. nasuta* y *C. stephanoderis*, en el departamento de Nariño, en los municipios de Sandoná, Consacá y Ancuya, ubicados entre 1.380 y 1.750 m. s. n. m., se encontró el establecimiento de ambas especies en los sitios de liberación (Benavides et al., 1994; Portilla & Bustillo, 1995). Unos años más tarde, Quintero, Bustillo, Benavides y Cháves (1998), al evaluar el establecimiento de estas avispitas en Nariño, encontraron que *P. nasuta* estaba presente en el 73 % de los sitios de liberación y en el 52 % de los sitios aledaños a las liberaciones, mientras que *C. stephanoderis* se recuperó solo en el 18 % de los sitios muestreados.

Estos resultados indican que seis años después de las liberaciones, *P. nasuta* se ha adaptado y establecido en cafetales del sur de Colombia, pero que la recuperación de *C. stephanoderis* es más escasa.

En otras regiones de Colombia, se demostró que liberaciones masivas de *C. stephanoderis* y *P. nasuta*, utilizados con otras alternativas de manejo integrado de la broca, fueron capaces de establecerse y reducir el nivel de infestación de los frutos de café en las plantaciones por debajo del 5 %. Durante el 2000, después de cinco años de liberaciones masivas, se llevó a cabo una evaluación en 124 fincas, en 49 municipios correspondientes a 16 departamentos del país. Se liberaron 10.213.000 avispitas de *C. stephanoderis* y 9.618.000 de *P. nasuta*. Las evaluaciones se hicieron colectando y seccionando los frutos para observar estados de los parasitoides. En todos los casos se recuperaron ambas especies; sin embargo, se encontró una mayor proporción de estados biológicos de *P. nasuta* que de *C. stephanoderis*, lo que indica un mayor establecimiento de la avispita de Uganda en los ecosistemas cafeteros colombianos.

Para el caso de *P. coffea*, después de las liberaciones, en diversos sitios se hicieron evaluaciones sobre su establecimiento; no obstante, debido al requerimiento que tiene esta avispita de parasitar adultos de la broca en posición de penetración en el fruto y dada su corta longevidad en el estado adulto, se hace difícil detectar sus poblaciones para evaluar su establecimiento. Sin embargo, a través de actividades de investigación participativa, se constató su recuperación después de períodos cortos. Queda por conocer si después de varios años de realizadas las liberaciones se puede demostrar su establecimiento.

Compatibilidad de los parasitoides con otros métodos de control

Cuando adultos de *C. stephanoderis* y *P. nasuta* se expusieron en el campo a las aspersiones en cafetales del hongo *B. bassiana*, este causó mortalidades muy bajas. Se pudo establecer, además, que se pueden emplear en un programa de manejo integrado de la broca del café, en el que el intervalo de tiempo entre la aplicación de los hongos y la liberación de los parasitoides sea de ocho días, para disminuir los riesgos de infección en el parasitoide (menores al 7 %). El riesgo de la infección en los parasitoides se reduce, si estos se liberan antes de asperjar los hongos (Mejía, Bustillo, Orozco, & Cháves, 2000; Reyes, Bustillo, & Cháves, 1995). Para el caso de liberaciones de *P. coffea*, esta consideración es más importante, ya que el adulto de la broca permanece afuera y se recomienda liberarlo en áreas donde no se aplique el hongo, para tener más éxito en su establecimiento.

En relación con los insecticidas usados para el control de la broca, se demostró que todos los productos evaluados causan mortalidades a los parasitoides. Solo se recomienda la aspersión cuando han transcurrido como mínimo 30 días después de la liberación de los parasitoides. Si los insecticidas se asperjan primero, se debe esperar 21 días para liberar los parasitoides (Bustillo et al., 1998; Guzmán, 1996).

Conclusiones

El programa de introducción, desarrollo de métodos de producción masiva y evaluación de la eficacia en el uso de los parasitoides *C. stephanoderis*, *P. coffea* y *P. nasuta* ha sido exitoso para el control de la broca del café.

La fase inicial de este programa tuvo como objetivo el establecimiento de los parasitoides introducidos en los cafetales con broca, por lo que se les recomendó a los cafeteros evitar el uso de insecticidas y así favorecer su recuperación y distribución en las fincas cafeteras. Estos parasitoides no fueron compatibles con insecticidas químicos en un programa de manejo integrado de la broca, pero sí fueron compatibles con aplicaciones del hongo *B. bassiana*, como se indicó anteriormente.

Se logró demostrar cómo se puede desarrollar un agente de control biológico para ser utilizado en un programa de manejo integrado. En un período de cinco años se liberaron más de 1.700 millones de avispitas en cafetales infestados con broca, con el concurso de la industria privada, mostrándose así las bondades de estas asociaciones para poner en práctica los desarrollos de la investigación. Estos parasitoides se lograron establecer en los sitios donde se liberaron y aún juegan un papel importante en la regulación de las poblaciones de broca, especialmente en aquellos sitios donde sus poblaciones se presentaron con altas infestaciones.

Uso de parasitoides colombianos en otros países

Control biológico de *Phenacoccus herreni* en Brasil

Bernhard Löhr,
Corporación Colombiana
de Investigación Agropecuaria
(AGROSAVIA)

En Sudamérica existen dos especies de piojo harinoso que causan una deformación idéntica del cogollo en yuca. Las dos especies, *Phenacoccus herreni* Cox & Williams y *Phenacoccus manihoti* Matile-Ferrero (Hemiptera: Pseudococcidae), tienen una distribución muy diferente: la primera es endémica de Brasil, al norte del Amazonas y en Pará, en las Guayanas, así como de Venezuela y de Colombia; en contraste, la distribución natural de *P. manihoti* está limitada a la cuenca del Río Paraguay, la región de Santa Cruz de la Sierra en Bolivia, y el estado de Mato Grosso do Sul en Brasil (Löhr, Varela, & Santos, 1990). Ninguna de estas especies se puede considerar plaga importante en su área de origen, debido al gran número y a la eficiencia de sus enemigos naturales. Sin embargo, ambas han sido introducidas accidentalmente fuera de su área endémica con consecuencias desastrosas: *P. herreni*, en el Nordeste del Brasil (Bahía, Pernambuco, Sergipe) (De Brito, 1975; Löhr et al., 1990; Lopes, 1982), y *P. manihoti*, en África (Löhr et al., 1990; Neuenschwander, Herren, Harpaz, Badulescu, & Akingbohungbe, 1988).

Phenacoccus herreni fue encontrado por primera vez durante la exploración por enemigos naturales de *P. manihoti*. Inicialmente, las dos se consideraron la misma especie, un error que originó el envío de parasitoides de *P. herreni* a África; la falta de parasitismo de estos en *P. manihoti* llevó a estudios detallados de taxonomía de las dos especies y, como resultado, *P. herreni* fue descrita como nueva especie (Cox & Williams, 1981).

Estudios con *P. herreni* en Colombia (Varela & Bellotti, 1981) y exploraciones de enemigos naturales de *P. manihoti* resultaron en un número considerable de insectos benéficos (Löhr et al. 1990; Bennett y Yaseen, informes de exploración sin publicar), en particular parasitoides con un alto nivel de parasitismo (Löhr et al., 1990; Varela & Bellotti, 1981). Por la abundancia y eficacia de los parasitoides en las áreas de endemicidad de *P. herreni*, Löhr et al. (1990) propusieron la introducción de estos enemigos naturales en las áreas de invasión en el nordeste brasileño.

Tres especies de parasitoides de *P. herreni*, todas Hymenoptera: Encyrtidae, fueron identificadas como las más importantes: *Acerophagus coccois* Smith *Aenasius vexans* (Kerrich) y *Epidinocarsis* (*Apoanagyrus*) *diversicornis* (Howard) por científicos del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) en

Palmira, Valle del Cauca, bajo la dirección de Bellotti et al. (2005) quienes estuvieron al frente de los estudios de las tres especies y su posterior introducción en el Brasil. Este equipo de científicos investigó la biología y ecología de los parasitoides y su relación con una gama de especies de piojos harinosos en preparación para su uso en un programa de control biológico clásico.

Herrera y Bellotti (1986) registraron la preferencia de *A. diversicornis* por hembras de tercer estado y adultas, mientras que en los estados menores observaron encapsulación de la larva del parasitoide y mortalidad del huésped. Estas observaciones fueron confirmadas por Van Driesche, Bellotti, Herrera y Castillo (1987), quienes además encontraron una pronunciada preferencia de *E. diversicornis* por *P. herreni*, mientras que *A. coccois* prefería a *Phenacoccus gossypii* Townsend y Cockerell (Hemiptera: Pseudococcidae). *Phenacoccus herreni* logró encapsular entre 3 y 15 % de larvas de *E. diversicornis* con tasas de encapsulación más altas en ninfas de segundo estado que en hembras adultas y más elevada a 25 °C que a 30 °C (Van Driesche, Bellotti, Herrera, & Castillo, 1986). Este fenómeno de encapsulación no se pudo observar en *A. coccois*, ni en *P. herreni*, ni en *Phenacoccus gossypii*. La mortalidad total debido a estos dos parasitoides fue determinada en 54,9 % en un experimento abarcando seis generaciones de piojos (Van Driesche, Bellotti, Castillo, & Herrera, 1990) con mortalidades generalmente más altas durante la época seca. Dorn, Mattiacci, Bellotti y Dorn (2003) encontraron, en experimentos con ocho especies de piojos harinosos, que *A. vexans* es un parasitoide monófago, mientras que *A. coccois* aceptó tres de las especies ofrecidas a parasitar.

Después de estudios de distribución y severidad del daño de *P. herreni* en Brasil, las tres especies de parasitoides fueron introducidas a este país: *A. diversicornis* de Colombia, y *A. coccois* y *A. vexans* de Venezuela (Bento et al., 1999). Estudios después de la introducción, entre 1994 y 1997, confirmaron la presencia de *A. diversicornis* en todos los campos revisados y una expansión del área de hasta 550 km desde el punto de liberación en Bahía en un solo año. *Acerophagus coccois* también fue encontrado en varios campos de yuca a una distancia considerable (hasta 180 km) del lugar de su primera liberación, mientras que *A. vexans* no logró expandir su área de ocurrencia. Las poblaciones de *P. herreni* se redujeron en los tres años consecutivos a la liberación a un nivel bajo, y el control de la plaga se consideró exitoso (Bento, De Moraes, De Matos, & Bellotti, 2000).

Referencias

Abraham, Y., Moore, D., & Godwin, G. (1990). Rearing and aspects of biology of *Cephalonomia stephanoderis* and *Prorops nasuta* (Hymenoptera: Bethylidae) parasitoids of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). *Bulletin of Entomological Research, 80*(2), 121-128. doi:10.1017/S000748530001333X.

Aluja, M. (1994). Bionomics and management of *Anastrepha. Annual Review of Entomology, 39*, 155-178. doi:10.1146/annurev.en.39.010194.001103.

Aluja, M. (1999). Fruit fly (Diptera: Tephritidae) research in Latin America: myths, realities and dreams. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil, 28*(4), 565-594. doi:10.1590/S0301-80591999000400001.

Aluja, M., López, M., & Sivinski, J. (1998). Ecological evidence for Diapause in four native and one exotic species of larval-pupal fruit fly (Diptera: Tephritidae) parasitoids tropical environments. *Annals of the Entomological Society of America, 91*(6), 821-833. doi:10.1093/aesa/91.6.821.

Aluja, M., Sivinski, J., Ovruski, S., Guillen, L., Lopez, M., Cancino, J., … Ruíz, L.(2009). Colonization and domestication of seven species of native New World hymenopterous larval-prepupal and pupal fruit fly (Diptera: Tephritidae) parasitoids. *Biocontrol Science and Technology, 19*(Supl. 1), 49-79. doi:10.1080/09583150802377373.

Amaya-Navarro, M. (1977). El *Trichogramma* spp en el control integrado de plagas. En ICA (Ed.), *Manual de control integrado de plagas* (pp. 76-89). Ibagué, Colombia: ICA .

Amaya, N., & Zenner de Polania, M. (1976). Estudios básicos tendientes a mejorar el uso del *Trichogramma* spp. en el control integrado de plagas en Colombia. *Revista Colombiana de Entomología, 2*(1), 13-25.

Aragón, S., Rodríguez, D., & Cantor, F. (2008). Release criteria of *Encarsia formosa* Gahan (Hymenoptera: Aphelinidae) for the control of *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood)(Hemiptera: Aleyrodidae) on tomato. *Agronomía Colombiana, 26*(2), 277-284.

Arias, B., & Bellotti, A. (1977). Eficiencia del *Bacillus thuringiensis*, sobre el gusano cachon de la yuca *Erinnyis ello*, en un programa de control biologico. *Revista Colombiana de Entomología, 3*(3-4), 93-97.

Arias, B., & Bellotti, A. (1984). Pérdidas en rendimiento (daño simulado) causadas por *Erinnyis ello* (L.) y niveles críticos de población en diferentes etapas de desarrollo en tres clones de yuca. *Revista Colombiana de Entomología, 10*(3-4), 28-35.

Arias, B., & Bellotti, A. (1987). Control de *Erinnyis ello* (L) (Lep: Sphingidae) gusano cachón de la yuca *Manihot esculenta* (Crantz) con *Baculovirus erinnyis* NGV. *Revista Colombiana de Entomología, 13*, 29-35.

Arias, B., & Bellotti, A. (1993). Manejo integrado de *Erinnyis ello* (L) gusano cachón de la yuca con énfasis en sus enemigos naturales y agentes de control microbial. En F. Palacios, I. Arciniegas, & A. Astudillo (Eds.), *Control Biológico en Colombia, historia, avances, proyecciones* (pp. 132-146). Palmira, Colombia: Universidad Nacional de Colombia.

Aristizábal, A., Bustillo, L., Baker, A., Orozco, P., & Chaves, B. (1998). Efecto depredador del parasitoide *Cephalonomia stephanoderis* (Hymenoptera: Bethylidae) sobre los estados inmaduros de *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) en condiciones de campo. *Revista Colombiana de Entomología, 24*(1-2), 35-41.

Aristizábal, A., Bustillo, L., Orozco, A., & Chaves, B., (1998). Efecto del parasitoide *Cephalonomia stephanoderis* (Hymenoptera: Bethylidae) sobre las poblaciones de *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) durante y después de la cosecha. *Revista Colombiana de Entomología, 24*(3-4), 149-155.

Aristizábal, L., Orozco, J., & Baker, P. (1996). *Liberación, dispersión y parasitismo de Cephalonomia stephanoderis en condiciones de campo.* Chinchiná, Colombia: Centro Nacional de Investigaciones del Café (Cenicafé).

Aristizábal, L., Salazar, H. M., Mejía, C. G., & Bustillo, A. E. (2004). Introducción y evaluación de *Phymastichus coffea* (Hymenoptera: Eulophidae) en fincas de pequeños caficultores, a través de investigación participativa. *Revista Colombiana de Entomología, 30*(2), 219-224.

Armbrecht, I., Chacón, P., & Rojas, M. (1986). Biología de la mosca de los botones florales del maracuyá *Dasiops inedulis* (Diptera: Lonchaeidae) en el Valle del Cauca. *Revista Colombiana de Entomología, 12*(1), 16-22.

Por otra parte, este cambio no solo debe hacerse por parte del agricultor. El consumidor también debe entender que los frutos perfectos al que están acostumbrados son, por lo general, el resultado del uso intensivo de plaguicidas. Es hora de que el consumidor acepte frutos y verduras que tengan algún daño por insectos, pues estos son más saludables, con menos trazas de productos nocivos para la salud y han sido producidos de forma amigable con el medio ambiente.

Agradecimientos

T. Kondo agradece a AGROSAVIA y al Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural por la financiación del proyecto "Evaluación de entomopatógenos y productos químicos para el control de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) y estudios biológicos de *D. citri* y su enemigo natural principal *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae)", del convenio tv15 de la agenda quinquenal de AGROSAVIA. Maria R. Manzano agradece al Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) por proporcionar las fotos de los parasitoides de mosca blanca. A. Carabalí agradece al Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (MADR) por la financiación de la investigación en *Compsus viridivittatus*. A Estudiantes de la Universidades del Quindío y Nacional de Colombia-Palmira; en especial, a productores de cítricos de los municipios de Caicedonia y Sevilla (Valle del Cauca, Colombia). El grupo de contribuyentes a este capítulo agradece al comité editorial por la invitación a participar en el libro y a los revisores y editores de este capítulo por sus esfuerzos.

Conclusiones y perspectivas

Demostramos con ejemplos de control biológico con parasitoides nativos y exóticos que Colombia cuenta con una gran diversidad de parasitoides y con una larga historia de su uso e investigación para el control de plagas. Existe una diversidad de especies de parasitoides con potencialidad de ser incluidas en programas de manejo integrado de plagas en Colombia, por lo que se requiere seguir investigando en el tema. La importancia de controladores biológicos para el país también se ve reflejada en una industria vibrante de producción de depredadores y parasitoides para el control inoculativo e inundativo de plagas en varios cultivos, incluyendo las flores y verduras cultivadas en invernaderos, caña de azúcar, café, palma de aceite, y frutales como los cítricos, entre otros. Es necesario publicar sobre el desempeño y área bajo control de estas especies pues es una información difícil de conseguir.

A pesar de la enorme oferta de controladores biológicos en Colombia, al parecer todavía persiste la mentalidad de la era de la revolución verde que estuvo en su fervor hasta la década de los años sesenta, que tenía como objetivo aumentar la producción de los cultivos a toda costa, entre otros, con el uso de pesticidas tóxicos de amplia gama. Hoy en día se siguen muchas de estas prácticas que han contribuido enormemente a la seguridad alimentaria. Sin embargo, la revolución verde también ocasionó daños colaterales que apenas ahora se sienten. Dentro de las prácticas de esta revolución de tecnología agronómica se pretendía solucionar el problema de las plagas mediante el uso de pesticidas tóxicos de amplia gama, ignorando sus efectos perjudiciales al agroecosistema y al medio ambiente. Ya es tiempo de "cambiar el chip" y hacer la transición a una agricultura limpia y amigable con el medio ambiente.

Dentro de las nuevas líneas de investigación, está el control biológico de conservación. Esta estrategia de conservación de enemigos naturales es la menos estudiada y la más compleja de las estrategias de control biológico. Su aplicación se lleva a cabo a través del manejo de las interacciones del agroecosistema para potenciar la eficacia de los enemigos naturales autóctonos y, de esta forma, prevenir el ataque a niveles de daño económico. Para poder llevar a cabo esta estrategia, es fundamental la existencia de enemigos naturales que controlen la población que produce el daño.

Existen dos estrategias principales: la primera consiste en modificar el uso de plaguicidas para reducir la exposición de los enemigos naturales a estos; la segunda consiste en modificar el hábitat para mejorar la supervivencia, longevidad y reproducción de los enemigos naturales que mantienen el agroecosistema en un balance. La lógica es atraer y mantener los enemigos naturales (depredadores y parasitoides) que ocurren de forma natural en los cultivos para que el control de plagas se haga de forma natural, reduciendo el uso de plaguicidas (Barbosa, 1998). Se debe lograr que el control biológico con parasitoides sea adoptado por los agricultores e incluido en las estrategias de manejo integrado de plagas.

Augier, L., Gastaminza, G., Lizondo, M., Argañaraz, M., & Willink, E. (2006). Presencia de *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) en el Noroeste Argentino (NOA). *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, *65*(3-4), 67-68.

Bacca-Ibarra, R. T. (1999). *Efecto del parasitoide Prorops nasuta Waterston (Hymenoptera: Bethylidae) sobre poblaciones de broca del café Hypothenemus hampei (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae)* (tesis de maestría). Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.

Badilla, F. (2002). Un programa exitoso de control biológico de insectos plaga de la caña de azúcar en Costa Rica. *Manejo Integrado de Plagas*, (64), 77-87.

Badilla, F., Solís-Soto, A., & Alfaro-Solís, D. (1991). Control biológico del taladrador de la caña de azúcar *Diatraea* sp. (Lepidoptera: Pyralidae) en Costa Rica. *Manejo Integrado de Plagas*, (20-21), 39-44.

Bakthavatsalam, N., Tandon, P., & Bhagat, D. (2013). Trichogrammatids: Behavioural Ecology. En: S. Sithanantham, C. R. Ballal, S. K. Jalali, & N. Bakthavatsalam (Eds.), *Biological Control of Insect Pests Using Egg Parasitoids* (pp. 77-104). Nueva Delhi, India: Springer. doi:10.1007/978-81-322-1181-5.

Baranowski, R., Glenn, H., & Sivinski, J. (1993). Biological control of the Caribbean fruit fly (Diptera: Tephritidae). *Florida Entomologist*, *76*(2) 245-251. doi:10.2307/3495721

Barbosa, P. (1998). Agroecosystems and conservation biological control. En *Conservation biological control*. San Diego, EE. UU.: Academic Presss. doi:10.1016/B978-012078147-8/50049-9.

Basso, C., & Pintureau, B. (2004). Las especies de *Trichogramma* de Uruguay (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Revista de la Sociedad Entomológica de Argentina*, *63*(1-2), 71-80.

Bellotti, A., & Arias, B. (1977). Biology, ecology and biological control of the cassava hornworm (*Erinnyis ello*). En T. Brekelbaum, A. Bellotti, & J. C. Lozano (Eds.), *Cassava Protection Workshop* (*1977, Cali, Colombia*), *Proceedings* (pp. 227-232). Cali, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT).

Bellotti, A., Reyes, J., Arias, B., Segura, P., Urias, M., & Schmitt, A. (1983). Manejo de una explosión del gusano cachón *Erinnyis ello* (L) (Lepidoptera: Sphingidae). En J. Reyes, (Ed.), *Yuca: Control integrado de las plagas* (pp. 305-312). Cali, Colombia: Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD) y Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT).

Bellotti, A. C., Arias, B., & Guzmán, O. (1992). Biological control of the cassava hornworm *Erinnyis ello* (Lepidoptera: Sphingidae). *Florida Entomologist*, *75*(4), 506-515. doi:10.2307/3496132.

Bellotti, A. C., Arias, B., & Reyes, J. A. (2002). Manejo de plagas de la yuca. La yuca en el tercer milenio. En B. Ospina (Ed.), *Sistemas Modernos de Producción, Procesamiento, Utilización y Comercialización* (pp. 220-233). Cali, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT).

Bellotti, A. C., Arias, B., Reyes, J. A., Fernández, F. O., Ceballos, L. F., & Medina, L. M., (1989). *Manejo integrado de Erinnyis ello (L.)* (*gusano cachón de la yuca*), *guía de estudio para ser usada como complemento de la Unidad Audiotutorial sobre el mismo tema*. Cali, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT).

Bellotti, A. C., Arias, B., Herrera, C. J., & Holguín, C. M. (2007). *Manejo integrado de moscas blancas asociadas al cultivo de la yuca*. Cali, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT).

Bellotti, A. C., Melo-Molina, E. L., Arias, V., Herrera-Fernández, C., Hernández, M., Holguín, A., … Trujillo-García, H. (2005). Biological control in the neotropics: a selective review with emphasis on cassava. En M. S. Hoddle (Ed.), *Proceedings of International Symposium on Biological Control of Arthropods (2, 2005, Davos, Switzerland)* (pp. 206-227). Riverside, EE. UU.: University of California.

Bellotti, A. C., & Schoonhoven, A. V. (1978). *Plagas de la yuca y su control*. Cali, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT).

Benavides, P., Bustillo, A., & Montoya, E. (1994). Avances sobre el uso del parasitoide *Cephalonomia stephanoderis* para el control de la broca del café, *Hypothenemus hampei*. *Revista Colombiana de Entomología*, *20*(4), 247-253.

Bennett, F. (1969). Tachinid flies as biological control agents for sugarcane moth borers. En J. Williams, J. Metcalfe, R. Mungomery & R. Mathes (Eds.), *Pests of Sugar Cane* (pp. 117-148). Amsterdam, Holanda: Elsevier.

Bento, J. M. S., De Moraes, G., Bellotti, A. C., Castillo, J., Warumby, J. F., & Lapointe, S. L. (1999). Introduction of parasitoids for the control of the cassava mealybug *Phenacoccus herreni* (Hemiptera: Pseudococcidae) in north-eastern Brazil. *Bulletin of Entomological Research*, *89*(5), 403-410. doi:10.1017/S000748539900053X.

Bento, J. M. S., De Moraes, G., De Matos, A., & Bellotti, A. C. (2000). Classical biological control of the mealybug *Phenacoccus herreni* (Hemiptera: Pseudococcidae) in northeastern Brazil. *Environmental Entomology*, *29*(2), 355-359. doi:10.1603/0046-225X(2000)029[0355:CBCOTM]2.0.CO;2.

Beserra, E. B., Querino, R. B., & Parra, J. R. (2003). Occurrence of gynandromorphism in *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Neotropical Entomology*, *32*(2), 507-509. doi:10.1590/S1519-566X2003000300021.

Betrem, J. (1961). *Cephalonomia stephanoderis* nov. spec. (Hym., Bethylidae). *Entomologie Bergculturer*, *21*(10), 183-184.

Boivin, G. (2009). Reproduction and immature development of egg parasitoids. En F. L. Consoli, J. R. Parra, & R.

A. Zucchi (Eds.), *Egg parasitoids in agroecosystems with emphasis on Trichogramma* (pp. 1-23). Berlín, Alemania: Springer.

Borbon, M. O. (1989). *Bioécologie d'un ravageur des baies de caféier, Hypothenemus hampei Ferr.(Coleoptera; Scolytidae) et de ses parasitoides au Togo* [tesis de doctorado]. Université Paul Sabatier, Toulouse, Francia

Botelho, P. S. M. (1992). Quinze anos de controle biológico da *Diatraea saccharalis* utilizando parasitóides. *Pesquisa Agropecuária Brasileira, 27*, 255-262.

Bueno, R. C. O. F., Bueno, A. F., Parra, J. R. P., Vieira, S. S., & Oliveira, L. J. (2010). Biological characteristics and parasitism capacity of *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera, Trichogrammatidae) on eggs of *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera, Noctuidae). *Revista Brasileira de Entomologia, 54*(2), 322-327. doi:10.1590/S0085-56262010000200016.

Bustillo, A. (1991). Perspectivas de un manejo integrado de la broca del Café, *Hypothenemus hampei*, en Colombia. *Agricultura Tropical (Colombia), 28*(1), 83-93.

Bustillo, A. (1995). *Utilización del control biológico clásico en un programa de manejo integrado: el caso de la broca del café, Hypothenemus hampei, en Colombia*. Documento presentado en Curso Internacional de Manejo Integrado de Plagas. Pasto, Colombia.

Bustillo, A., Cárdenas, A., Villalba, R., Benavides, D., Orozco, P., & Posada, F. (1998). *Manejo integrado de la broca del café Hypothenemus hampei (Ferrari) en Colombia.* Chinchiná, Colombia: Federación Nacional de Cafeteros de Colombia y Centro Nacional de Investigaciones de Café Pedro Uribe Mejía.

Bustillo, A., Orozco-Hoyos, J., Benavides-Machado, P., & Portilla-Reina, M. (1996). Producción masiva y uso de parasitoides para el control de la broca del café en Colombia. *Cenicafé, 47*(4), 215-230.

Byrne, D., Bellows, T., & Parrella, M. (1990). Whitheflies in agricultural systems. En D. Gerling (Ed.), *Whiteflies: Their bionomis, pest status and management* (pp. 227-261). Andover, EE. UU.: Intercept.

Campos, M. (2001). Lista de los géneros de avispas parasitoides Braconidae (Hymenoptera: Ichneumonoidea) de la Región Neotropical. *Biota Colombiana, 2*(3), 193-232.

Cano-Londoño, D. (2000). Biología, comportamiento y enemigos nativos del picudo de los cítricos *Compsus* n. sp coleoptera: curculionidae en la zona central cafetera. En Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. *Memorias del Seminario Nacional sobre el Picudo de los Cítricos* (pp. 1-7). Pereira, Colombia: Federación Nacional de Cafeteros de Colombia.

Cano, D., Cardenas, R., Bustillo, A., & Orozco, G. (2002). Biología y enemigos nativos del picudo de los cítricos *Compsus* n. sp. (Coleoptera: Curculionidae). *Revista Colombiana de Entomología, 28*(1), 43-52.

Cantor, F., Rodríguez, D., & Cure, J. (2011). Dispersion of *Encarsia formosa* (Hymenoptera: Aphelinidae) parasitizing *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae) on greenhouse tomato crops. *Revista Colombiana de Entomología, 37*(2), 210-216.

Carabalí, A. (2012). *Alternativas sostenibles para el manejo del picudo de los cítricos Compsus sp en Antioquia y Valle del Cauca* [Informe final de proyecto]. Palmira, Colombia: Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica).

Carabalí, A. (2015). *Validación de estrategias de manejo de poblaciones de Compsus viridivittatus y ácaros como aporte del componente entomológico a la construcción del modelo productivo en cítricos* [Informe final de proyecto]. Palmira, Colombia: Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica).

Carabalí, A. (2016). *Recomendaciones de manejo Compsus viridivittatus y ácaros (Polyphagotarsonemus latus y Phyllocoptruta oleivora) en cultivos de naranja y lima ácida Tahiti* [Informe final]. Palmira, Colombia: Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica).

Carballo, M. & Guaharay, F. (2004). *Control biológico de plagas agrícolas*. Managua, Nicaragua: Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE).

Carrejo, N. S., & González, R. (1999). Parasitoids reared from species of *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae) in Valle del Cauca, Colombia. *Florida Entomologist, 82*(1), 113-118. doi:10.2307/3495842.

Carvajal-Yepes, M., Olaya, C., Lozano, I., Cuervo, M., Castano, M., & Cuellar, W. J. (2014). Unraveling complex viral infections in cassava (*Manihot esculenta* Crantz) from Colombia. *Virus Research, 186*, 76-86. doi:10.1016/j.virusres.2013.12.011.

Centro Nacional de Investigaciones del Café (Cenicafé). (1990). Manual de capacitación en control biológico. Chinchiná, Colombia: Cenicafé.

Cermeli, M., Morales, P., Perozo, J., & Godoy, F. (2009). Distribución del psílido asiático de los cítricos (*Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera, Psyllidae) y presencia de *Tamarixia radiata* (Waterston)(Hymenoptera, Eulophidae) en Venezuela. *Entomotropica, 22*(3), 181-184.

Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). (1974). *Informe Anual.* Cali, Colombia: CIAT.

Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). (1978). *Informe Anual. Programa de Entomología de Yuca.* Cali, Colombia: CIAT.

Colazza, S., Peri, E., Salerno, G., & Conti, E. (2009). Host searching by egg parasitoids: exploitation of host chemical cues. En F. Consoli, J. Parra & R. Zucchi (Eds.), *Egg Parasitoids in Agroecosystems with Emphasis on Trichogramma* (pp. 97-147). Dordrecht, Holanda: Springer.

Cox, J. M., & Williams, D. (1981). An account of Cassava mealybugs (Hemiptera: Pseudococcidae) with a description of a new species. *Bulletin of Entomological Research, 71*(2), 247-258. doi:10.1017/S0007485300008270.

Cuellar, M. E., & Morales, F. J. (2006). La mosca blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius) como plaga y vectora de virus en fríjol común (*Phaseolus vulgaris* L.). *Revista Colombiana de Entomología, 32*(1), 1-9.

Departamento Administrativo Nacional de Estadística (DANE). (2016). *Resultados Encuesta Nacional Agropecuaria* (ENA). Bogotá, Colombia: DANE.

De Brito, S. A. (1975). *Phenacoccus sp.: a nova praga que ataca as ponteiras da mandioca no Estado do Para*. Belém, Brasil: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa).

De Vis, R., Fuentes, L., & van Lenteren, J. (2002). Life history of *Amitus fuscipennis* (Hym., Platygastridae) as parasitoid of the greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum* (Hom., Aleyrodidae) on tomato as function of temperature. *Journal of Applied Entomology, 126*(1), 24-33. doi:10.1046/j.1439-0418.2002.00591.x.

De Vis, R. M., & Van Lenteren, J. C. (2008). Biological control of *Trialeurodes vaporariorum* by *Encarsia formosa* on tomato in unheated greenhouses in the high altitude tropics. *Bulletin Insectology, 61*(1), 43-57.

Delgado, D., & Sotomayor, I. (1990). Algunos resultados sobre la cría, adaptación y colonización de los entomógenos *Prorops nasuta* Waters. y *Cephalonomia stephanoderis* Betrem, en la regulación de poblaciones de *H. hampei* en el Ecuador. *Miscelánea, 18*, 58-95.

Díaz, F., Endersby, N. M., & Hoffmann, A. A. (2015). Genetic structure of the whitefly *Bemisia tabaci* populations in Colombia following a recent invasion. *Insect Science, 22*(4), 483-494. doi:10.1111/1744-7917.12129.

Díaz, M. F., Ramírez, A., & Poveda, K. (2012). Efficiency of different egg parasitoids and increased floral diversity for the biological control of noctuid pests. *Biological Control, 60*(2), 182-191. doi:10.1016/j.biocontrol.2011.11.001.

Dorn, B., Mattiacci, L., Bellotti, A. C., & Dorn, S. (2003). Host specificity and daytime activity of parasitoids of the Latin American cassava mealybug, *Phenacoccus herreni* (Sternorrhyncha: Pseudococcidae). *Bulletin de la Societé Entomologique Suisse, 76*, 293-300.

Duncan, R. E., Ulmer, B. J., Peña, J. E., & Lapointe, S. L. (2007). Reproductive biology of *Fidiobia dominica* (Hymenoptera: Platygastridae), an egg parasitoid of *Diaprepes abbreviatus* (Coleoptera: Curculionidae). *Environmental Entomology, 36*(2), 376-382.

Ebratt-Ravelo, E. E., Rubio-González, L. T., Costa, V. A., Castro-Ávila, Á. P., Zambrano-Gómez, E. M., & Ángel-Díaz, J. E. (2011a). *Diaphorina citri* (Kuwayama, 1907) and *Tamarixia radiata* (Waterson, 1922) in citrus crops of Cundinamarca, Colombia. *Agronomía Colombiana, 29*(3), 487-493.

Ebratt-Ravelo, E. E., Rubio-González, L. T., Costa, V. A., Zambrano-Gómez, E. M., Castro-Ávila, Á. P., & Santamaría-Galindo, M. Y. (2011b). Record of *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae) in Colombia. *Revista Facultad Nacional de Agronomía, 64*(2), 6141-6146.

Echeverry, O. (1999). *Determinación del impacto de Phymastichus coffea La Salle (Hymenoptera: Eulophidae) sobre poblaciones de broca del café Hypothenemus hampei (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae), en la zona cafetera*. Palmira, Colombia: Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira.

European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO). (2005). *Data Sheets on Quarantine Pests: Diaphorina citri*. Recuperado de http://www.eppo.org/QUARANTINE/insects/Diaphorina_citri/DIAACI_ds.pdf .

Estrada, G. D., & Soto, A. (2011). *Fidiobia* sp. (Hymenoptera: Platygastridae) parasitism on *Compsus* sp. (Coleoptera: Curculionidae). *Boletín Científico. Centro de Museos. Museo de Historia Natural, 15*(2), 201-205.

Étienne, J., & Aubert, B. (1980). Biological control of psyllid vectors of greening disease on Reunion Island. En E. C. Calavan, S. M. Garnsey & L. W. Timmer (Eds.) *Proceedings of the 8th Conference International Organization of Citrus Virologists* (pp. 118-121). Riverside, EE. UU.: International Organization of Citrus Virologists.

Étienne, J., Quilici, S., Marival, D., & Franck, A. (2001). Biological control of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in Guadeloupe by imported *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae). *Fruits, 56*(5), 307-315. doi:10.1051/fruits:2001131.

Evans, G. A., & Castillo, J. A. (1998). Parasites of *Aleurotrachelus socialis* (Homoptera: Aleyrodidae) from Colombia including descriptions of two new species (Hymenoptera: Aphelinidae: Platygastridae). *The Florida Entomologist, 81*(2), 171-178. doi:10.2307/3496083.

Evans, G. A., & Peña, J. E. (2005). A new *Fidiobia* species (Hymenoptera: Platygastridae) reared from eggs of *Diaprepes doublierii* (Coleoptera: Curculionidae) from Dominica. *Florida Entomologist, 88*(1), 61-66.

Ferreira, D. (2010). *Coleta, identificação e seleção de Trichogramma spp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae) visando ao manejo de Grapholita molesta (Busck, 1916) (Lepidoptera: Tortricidae)* [tesis de maestría]. Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, Brasil.

Gallego, J. S. C., Caicedo, A. M., Carabalí, A., & Muñoz, J. E. (2012). Comportamiento alimenticio y de oviposición de *Compsus viridivittatus* (Coleoptera: Curculionidae) en especies de cítricos. *Revista Colombiana de Entomología, 38*(2), 191.

García, R., & Jiménez, F. (1992). Producción y manejo de *Trichogramma* spp. en Colombia. *ICA-Informa, 26*, 3-8.

Gaviria, M. (1990). El control biológico de los insectos plaga de la caña de azúcar en Colombia. En Grupo de Países Latinoamericanos y del Caribe Exportadores de Azúcar (Geplacea), *Memorias del III congreso de la Sociedad Colombiana de Técnicos de la Caña de Azúcar* (pp. 201-227). Cali, Colombia: Geplacea.

Gaviria, M., Belloti, J. D., & Gaviria, A. C. J. D. (1986). Manejo del *Trichogramma* spp. en cultivos agrícolas y de flores en Colombia. En R. Millan (Ed.), *Producción y manejo de Trichogramma* (pp. 30-36). Palmira, Colombia: Instituto Colombiano Agropecuario (ICA).

Gaviria, M., & Gaviria, J. D. (1998). Problemas entomológicos en caña azúcar en Colombia. En Centro de Investigación de la Caña de Azúcar de Colombia (Cenicaña) (Ed.), *Caña: azúcar y panela con el mejor entorno ambiental. Homenaje 21 años de Centro de Investigación de la Caña de Azúcar de Colombia - Cenicaña (1997-1998)* (pp. 43-64). Cali, Colombia: Cenicaña.

Geetha, N., & Balakrishnan, R. (2010). Dispersal pattern of *Trichogramma chilonis* Ishii in sugarcane field. *Biological Control, 24*(1), 1-7.

Gerding, M., & Torres, C. (2001). Parasitoide de huevos de polillas *Trichogramma*: Insecto benéfico para el control de plagas. *Boletín Informativo del Instituto de Investigaciones Agropecuarias, 55*, 1-2.

Gifford, J., & Mann, G. (1967). Biology, Rearing, and A Trial Release of *Apanteles flavipes* in the Florida Everglades to Control the Sugarcane Borer. *Journal of Economic Entomology, 60*(1), 44-47. doi:10.1093/jee/60.1.44.

Godfray, H. C. J. (1994). *Parasitoids: behavioral and evolutionary ecology*. Princeton, EE. UU.: Princeton University Press.

Gold, C., Altieri, M., & Bellotti, A. (1989a). Relative oviposition rates of the cassava hornworm, *Erinnyis ello* [lep.: Sphingidae], and accompanying parasitism by *Telenomus sphingis* [Hym.: Scelionidae], on upper and lower leaf surfaces of cassava. *Biological Control, 34*(1), 73-76. doi:10.1007/BF02372589.

Gold, C. S., Altieri, M. A., & Bellotti, A. C. (1989b). The effects of intercropping and mixed varieties of predators and parasitoids of cassava whiteflies (Hemiptera: Aleyrodidae) in Colombia. *Bulletin of Entomological Research, 79*(1), 115-121. doi:10.1017/S0007485300018629.

Gómez, L. A., Díaz, A. E., & Lastra, L. A. (1996). Reconocimiento de las especies de *Trichogramma* asociadas con la caña de azúcar en Colombia. *Revista Colombiana de Entomología, 22*(1), 1-5.

González, R. (1952). Contribución al estudio de moscas *Anastrepha* en Colombia. *Revista Facultad Nacional de Agronomía, 12*, 423-549.

Granadillo-Cuello, J. A., Villalobos-Moreno, A., & Villamizar-Cobos, J. (2014). Parasitoides de *Trialeurodes vaporariorum* Westwood, 1856 (Hemiptera: Aleyrodidae) en cultivos de fríjol en García Rovira, Santander. *Respuestas, 19*(2), 15-24.

Guimarães, J. A., & Zucchi, R. A. (2004). Parasitism behavior of three species of Eucoilinae (Hymenoptera: Cynipoidea: Figitidae) fruit fly parasitoids (Diptera) in Brazil. *Neotropical Entomology, 33*(2), 217-224. doi:10.1590/S1519-566X2004000200012.

Guzmán, D. (1996). *Efecto de varios insecticidas sobre el parasitoide de la broca del café Cephalonomia stephanoderis Betrem (Hymenoptera: Bethylidae)*. Manizales, Colombia: Universidad de Caldas.

Guzmán, R. (1984). Algunos aspectos relacionados con el manejo del *Trichogramma* sp. En ICA (Ed.), *Manual de control integrado de plagas* (pp. 199-207). Ibagué, Colombia: Instituto Colombiano Agropecuario (ICA).

Hagen, K. S., & Franz, J. M. (1973). A history of biological control. En: R. F. Smith, T. E. Mittler, C. N. Smith (Eds.), A *History of Entomology* (pp. 433-477). Palo Alto, EE. UU.: Annual Reviews.

Halbert, S. E., & Manjunath, K. L. (2004). Asian citrus psyllids (Sternorrhyncha: Psyllidae) and greening disease of citrus: a literature review and assessment of risk in Florida. *Florida Entomologist, 87*(3), 330-353. doi:10.1653/0015-4040(2004)087[0330:ACPSPA]2.0.CO;2.

Halbert, S. E., & Núñez, C. A. (2004). Distribution of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Rhynchota: Psyllidae) in the Caribbean basin. *Florida Entomologist, 87*(3), 401-402. doi:10.1653/0015-4040(2004)087[0401:DOTACP]2.0.CO;2.

Hargreaves, H. (1926). Notes on the coffee berry-borer (*Stephanoderes hampei*, Ferr.) in Uganda. *Bulletin of Entomological Research, 16*(4), 347-354. doi:10.1017/S0007485300028637.

Hargreaves, H. (1935). *Stephanoderes hampei* Ferr., coffee berry-borer, in Uganda. *The East African Agricultural Journal, 1*(3), 218-224. doi:10.1080/03670074.1935.11663651.

Hernández, L. M., & Manzano, M. R. (2016). Efecto del viento en la dispersión a corta distancia del parasitoide *Amitus fuscipennis* MacGown y Nebeker (Hymenoptera: Platygastridae) en cultivos de fríjol y habichuela. *Acta Agronómica, 65*(1), 80-86. doi:10.15446/acag.v65n1.48816.

Hernández, L. M., Otero, J. T., & Manzano, M. R. (2013). Biological control of the greenhouse whitefly by *Amitus fuscipennis*: Understanding the role of extrafloral nectaries from crop and non-crop vegetation. *Biological Control, 67*(2), 227-234. doi:10.1016/j.biocontrol.2013.08.003.

Herrera, F., & Bellotti, A. (1986). Desarrollo y comportamiento de *Epidinocarsis* (= *Apoanagyrus*) diversicornis Howard

(Encyrtidae) enemigo natural de *Phenacoccus herreni* Cox y Williams (Pseudococcidae). *Acta Agronómica*, *36*(4), 47-58.

Hidalgo, R., Oliveira, S., Fagundes, F., Rossoni, C., Perassa, D., & Avalo, M. (2015). Parasitism and biological aspects of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) on *Erinnyis ello* (Lepidoptera: Sphingidae) pupae. *Ciência Rural*, *45*(2), 185-188. doi: 10.1590/0103-8478cr20130896.

Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). (1975). Cría masiva de la avispita Trichogramma sp. En *Curso Instituto Colombiano Agropecuario* (pp. 78-81). Bogotá, Colombia: ICA.

Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). (2001). *Municipios del Departamento del Tolima reportados con presencia del Picudo de los cítricos (Compsus sp.)* [Boletín de Epidemiología N.° 38]. Ibagué, Colombia: ICA.

Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). (11 de diciembre de 2015). Por medio de la cual se declara el estado de emergencia fitosanitaria en el territorio nacional por la presencia de adultos de *Diaphorina citri* infectados con la bacteria de la enfermedad del HLB de los cítricos [Resolución 2390 de 2015]. DO [49.723]. Bogotá: ICA.

Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). (2016). *Productos registrados bioinsumos*. Recuperado de https://www.ica.gov.co/getdoc/2ad9e987-8f69-4358-b8a9-e6ee6dcc8132/PRODUCTOSBIOINSUMOS-MAYO-13-DE-2008.aspx.

Jalali, S. (2013). Natural Occurrence, Host Range and Distribution of *Trichogrammatid* Egg Parasitoids. En S. Sithanantham, C. Ballal, S. Jalali & N. Bakthavatsalam (Eds.) *Biological Control of Insect Pests Using Egg Parasitoids* (pp.67-76). Nueva Delhi, India: Springer. doi:10.1007/978-81-322-1181-5_4.

Jaramillo, J., Bustillo, A., Montoya, E., & Borgemeister, C. (2005). Biological control of the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae) by *Phymastichus coffea* (Hymenoptera: Eulophidae) in Colombia. *Bulletin of Entomological Research*, *95*(5), 467-472. doi:10.1079/BER2005378.

Jarjees, E. A., & Merritt, D. J. (2002). Development of *Trichogramma australicum* Girault (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in *Helicoverpa* (Lepidoptera: Noctuidae) host eggs. *Austral Entomology*, *41*(4), 310-315. doi:10.1046/j.1440-6055.2002.00319.x.

Kalyebi, A., Overholt, W., Schulthess, F., Mueke, J., Hassan, S., & Sithanantham, S. (2005). Functional response of six indigenous trichogrammatid egg parasitoids (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in Kenya: influence of temperature and relative humidity. *Biological Control*, *32*(1), 164-171. doi:10.1016/j.biocontrol.2004.09.006.

Katiyar, K., Camacho, J., Geraud, F., & Matheus, R. (1995). Parasitoides hymenópteros de moscas de las frutas (Diptera: Tephritidae) en la región occidental de Venezuela. *Revista de la Facultad de Agronomía*, *12*(3), 303-312.

Koch, V. J. M. (1973). *Abondance de Hypothenemus hampei Ferr., scolyte des graines de cafe, en fonction de sa plante-hote et de son parasite Cephalonomia stephanoderis Betrem, en Cote d'Ivoire*. Wageningen, Holanda: Mededelingen Landbouwhogeschool.

Kondo, T., Quintero, Q., Campuzano, M., Wyckhuys, K., & Heraty, J. (2012). First report of *Tamarixia radiata* (Waterston)(Hymenoptera: Eulophidae), a parasitoid of the Asian citrus psyllid *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) in the Department of Valle Del Cauca, Colombia. Boletín del Museo de Entomología de la Universidad del Valle, 13(1), 48-51.

Kondo, T., Tauber, C., Sarmiento, Y. C. G., Mondragón, A. F. V., & Forero, D. (2015). A checklist of natural enemies of *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) in the department of Valle Del Cauca, Colombia and the world. *Insecta Mundi*, *0457*, 1-14.

LaSalle, J. (1990). A new genus and species of *Tetrastichinae* (Hymenoptera: Eulophidae) parasitic on the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). *Bulletin of Entomological Research*, *80*(1), 7-10. doi:10.1017/S0007485300045843.

LaSalle, J. (1994). North American genera of Tetrastichinae (Hymenoptera: Eulophidae). *Journal of Natural History*, *28*(1), 109-236. doi:10.1080/00222939400770091.

Le Pelley, R. H. (1968). *Pests of coffee*. Londres, Inglaterra: Longmans, Green and Co.

León, G. (1987). Fluctuación poblacional y manejo de *Anastrepha* spp. en mango y guayaba. *Revista Colombiana de Entomología*, *5*, 42-55.

León, G., Evans, G. A., & Campos, J. C. (2001). Parasitoides de plagas (Homoptera) de los cítricos en el departamento del Meta, Colombia. *Revista Colombiana de Entomología*, *27*, 143-146.

Löhr, B., Varela, A., & Santos, B. (1990). Exploration for natural enemies of the cassava mealybug, *Phenacoccus manihoti* (Homoptera: Pseudococcidae), in South America for the biological control of this introduced pest in Africa. *Bulletin Entomological Research*, *80*(4), 417-425. doi:10.1017/S0007485300050677.

Lopes, E. (1982). *Ocorrência da cochonilha dos brotos da mandioca (Phenacoccus herreni) no Estado da Paraíba*. João Pessoa, Brasil: EMEPA.

López, M., Aluja, M., & Sivinski, J. (1999). Hymenopterous larval–pupal and pupal parasitoids of *Anastrepha* flies (Diptera: Tephritidae) in Mexico. *Biological Control*, *15*(2), 119-129. doi:10.1006/bcon.1999.0711.

López, V., Baker, P., Cock, J., & Orozco, J. (1997). *Dossier on Phymastichus coffea (Hymenoptera: Eulophidae*

Tetrastichinae) a potential biological control agent for Hypothenemus hampei (Ferrari)(Coleoptera: Scolytidae) in Colombia. Chinchiná, Colombia: Cenicafé, CABI, IIBC.

López-Ávila, A., Cardona, C., García, J., Rendón, F., & Hernández, P. (2001). Reconocimiento e identificación de enemigos naturales de moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) en Colombia y Ecuador. *Revista Colombiana de Entomología, 27*(3-4), 137-141.

López-Ávila, A., Rubio, C., Vargas, A., & Castro, S. (2004). Evaluation of the efficiency of *Thrichogramma lopezandinensis* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) to control *Tecia solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae) in storage potato. *Revista Colombiana de Entomología, 30*(1), 107-112.

Ma, C. S., & Chen, Y. W. (2006). Effects of constant temperature, exposure period, and age on diapause induction in *Trichogramma dendrolimi*. *Biological Control, 36*(3), 267-273. doi:10.1016/j.biocontrol.2005.11.013.

Mann, R., & Stelinski, L. (2010). *An Asian citrus psyllid parasitoid, Tamarixia radiata (Waterston) (Insecta: Hymenoptera: Eulophidae)*. Recuperado de https://edis.ifas.ufl.edu/pdffiles/IN/IN85800.pdf.

Manzano, M. R., Martínez, M., Andrés, W., & Vélez-Mera, C.A. (2009). *Bemisia tabaci* biotype B in bean. *Acta Agronómica, 58*(4), 251-259.

Manzano, M., Van Lenteren, J., & Cardona, C. (2002a). Intrinsic rate of population increase of *Amitus fuscipennis* MacGown and Nebeker (Hym., Platygastridae) according to climatic conditions and bean cultivar. *Journal of Applied Entomology, 126*(1), 34-39. doi:10.1046/j.1439-0418.2002.00602.x.

Manzano, M., Van Lenteren, J., & Cardona, C. (2002b). Searching and oviposition behaviour of *Amitus fuscipennis*, a parasitoid of the greenhouse whitefly. *Journal of Applied Entomology, 126*(10), 528-533. doi:10.1046/j.1439-0418.2002.00710.x.

Manzano, M. R., Van Lenteren, J., & Cardona, C. (2003a). Comportamiento de búsqueda de *Amitus fuscipennis* (Hymenoptera: Platygastridae): Tiempo de permanencia en la planta hospedera y actividad de búsqueda. *Revista Colombiana de Entomología, 29*, 221-226.

Manzano, M. R., Van Lenteren, J., & Cardona, C. (2003b). Influence of pesticide treatments on the dynamics of whiteflies and associated parasitoids in snap bean fields. *Biological Control, 48*(6), 685-693. doi:10.1023/A:1026350120466.

Manzano, M. R., Van Lenteren, J. C., Cardona, C., & Drost, Y. C. (2000). Developmental time, sex ratio, and longevity of *Amitus fuscipennis* MacGown & Nebeker (Hymenoptera: Platygastridae) on the greenhouse whitefly. *Biological Control, 18*(2), 94-100. doi:10.1006/bcon.2000.0826.

Márquez, M., & Valencia, S. (1991). Evaluación de *Encarsia formosa* Gahan y *Amitus fuscipennis* MacGown and Nebeker, en el control de *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) en crisantemo (*Chrysanthemum morifolium* Rainat.) (tesis de grado). Universidad Nacional de Colombia, Medellín, Colombia.

Medina, P., Saldarriaga, V., & Pérez, G. (1994). Biología del *Amitus fuscipennis* MacGown & Nebeker, bajo tres condiciones ecológicas en Rionegro (Antioquia). *Revista Colombiana de Entomología, 20*, 143-148.

Mejía, M., Bustillo, P., Orozco, H., & Cháves, C. (2000). Effect of four insecticides and *Beauveria bassiana* on *Prorops nasuta* (Hymenoptera: Bethylidae) parasitoid of the coffee berry borer. *Revista Colombiana de Entomología, 26*, 117-123.

Melo, E. L. (2002). Potencial del control biológico en el manejo de las plagas de la yuca. En B. Ospina, H. Ceballos, E. Alvarez, A. Bellotti, L. Calvert, B. Arias, L. Cadavid … M. Cuervo (Eds.), *La yuca en el Tercer Milenio: Sistemas modernos de producción, procesamiento, utilización y comercialización* (pp. 234-249). Cali, Colombia: CIAT.

Metcalfe, J., & Brenière, J. (1969). Egg parasites (*Trichogramma* spp.) for control of sugar cane moth borers. En J. Williams, J. Metcalfe, R. Mungomery, & R. Mathes (Eds.), *Pests of Sugar Cane* (pp. 81-115). Amsterdam, Holanda: Elsevier.

Michaud, J. (2004). Natural mortality of Asian citrus psyllid (Homoptera: Psyllidae) in central Florida. *Biological Control, 29*(2), 260-269. doi:10.1016/S1049-9644(03)00161-0.

Montoya, C. (2001). Epidemiología del picudo de los cítricos, *Compsus* sp. (Coleoptera: Curculionidae). En Sociedad Colombiana de Entomología (Socolen), *Memorias del XXVII Congreso Socolen* (p. 12). Pereira, Colombia: Socolen.

Montoya, P., Liedo, P., Benrey, B., Cancino, J., Barrera, J. F., Sivinski, J., & Aluja, M. (2000). Biological control of *Anastrepha* spp.(Diptera: Tephritidae) in mango orchards through augmentative releases of *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead)(Hymenoptera: Braconidae). *Biological Control, 18*(3), 216-224. doi:10.1006/bcon.2000.0819.

Moore, D., & Prior, C. (1988). Present status of biological control of the coffee berry borer *Hypothenemus hampei*. En *Proceedings of Brighton Crop Protection Conference Pests and Diseases* (pp. 1119-1124). Brighton, Inglaterra: British Crop Protection Council.

Morales, J., Vásquez, C., Pérez, N. L., Valera, N., Ríos, Y., Arrieche, N., & Querino, R. B. (2007). Especies de *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) parasitoides de huevos de lepidópteros en el Estado Lara, Venezuela. *Neotropical Entomology, 36*(4), 542-546. doi:10.1590/S1519-566X2007000400011.

Muirhead, K., Austin, A., & Sallam, M. (2008). The systematics and biology of *Cotesia nonagriae* (Olliff)

stat. rev. (Hymenoptera: Braconidae: Microgastrinae), a newly recognized member of the *Cotesia flavipes* species complex. *Zootaxa, 1846*, 35-46.

Muirhead, K. A., Murphy, N. P., Sallam, M. N., Donnellan, S. C., & Austin, A. D. (2006). Mitochondrial DNA phylogeography of the *Cotesia flavipes* complex of parasitic wasps (Hymenoptera: Braconidae). *Annales de la Société entomologique de France, 42*(3-4), 309-318. doi:10.1080/00379271.2006.10697462.

Muirhead, K. A., Murphy, N. P., Sallam, N., Donnellan, S. C., & Austin, A. D. (2012). Phylogenetics and genetic diversity of the *Cotesia flavipes* complex of parasitoid wasps (Hymenoptera: Braconidae), biological control agents of lepidopteran stemborers. *Molecular Phylogenetics and Evolution, 63*(3), 904-914. doi:10.1016/j.ympev.2012.03.003.

Múnera, D., De los Ríos, J., & Bellotti, A. (1999). Patogenicidad sobre *Erinnyis ello* (Lepidoptera: Sphingidae) en condiciones de laboratorio por hongos entomopatógenos recolectados en cultivos comerciales de yuca, *Manihot esculenta* en el Valle del Cauca, Colombia. *Revista Colombiana de Entomología, 25*, 161-167.

Navas-Castillo, J., López-Moya, J. J., & Aranda, M. A. (2014). Whitefly-transmitted RNA viruses that affect intensive vegetable production. Annals of Applied Biology, *165*,(2), 155-171. doi:10.1111/aab.12147.

Neuenschwander, P., Herren, H., Harpaz, I., Badulescu, D., & Akingbohungbe, A. (1988). Biological control of the cassava mealybug, *Phenacoccus manihoti*, by the exotic parasitoid *Epidinocarsis lopezi* in Africa. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences, 318*(1189), 319-333. doi:10.1098/rstb.1988.0012.

Nicholls, C. I., Parrella, M. P., & Altieri, M. A. (1998). Advances and perspectives in the biological control of greenhouse pests with special reference to Colombia. *Integrated Pest Management Reviews, 3*(2), 99-109. doi:10.1023/A:1009695730407.

Norrbom, A. L., & McAlpine, J. F. (1996). A revision of the Neotropical species of *Dasiops Rondani* (Diptera: Lonchaeidae) attacking Passiflora (Passifloraceae). *Memoirs of the Entomological Society of Washington, 18*, 189-211.

Noyes, J. (2011). *Universal Chalcidoidea*. Recuperado de http://www.nhm.ac.uk/our-science/data/chalcidoids/database/.

Núñez, L., Santos, R., Guarín, G., & León, G. (2004). Moscas de las frutas (Díptera: Tephritidae) y parasitoides asociados con *Psidium guajava* L. y *Coffea arabica* L. en tres municipios de la Provincia de Vélez (Santander, Colombia). Parte 2: Identificación y evaluación de parasitoides del Orden Hymenoptera. *Revista Corpoica, 5*(1), 13-21. doi:10.21930/rcta.vol5_num1_art:17.

O'Brien, C., & Wibmer, G. (1982). Annotated checklist of the weevils (Curculionidae sensu lato) of North America, Central America, and the West Indies (Coleoptera: Curculionoidea). *Memoirs of the American Entomological Institute, 34*(i-ix), 1-382.

O'Brien, C. W., & Peña, J. (2012). Two species of *Compsus* Schoenherr, new citrus pests from Colombia (Coleoptera: Curculionidae: Entiminae). *Insecta Mundi, 0227*, 1-13.

Olarte, W. (1980). *Dinámica poblacional del complejo constituido por las moscas de las frutas. Anastrepha striata Schiner y A. fraterculus (Wied) en el medio ecológico del Sur de Santander*. Bucaramanga, Colombia: Universidad Industrial de Santander (UIS).

Olarte, W. (1991). Control integrado de las moscas de la fruta Anastrepha spp. (Diptera: Tephritidae). *Revista de la Universidad Industrial de Santander, 20*, 45-49.

Orozco, J. (2002). *Guía para la producción del parasitoide Phymastichus coffea para el control de la broca del café*. Chinchiná, Colombia: Cenicafé, CABI Commodities e ICO.

Orozco, J., & Aristizábal, L. (1996). *Parasitoides de origen africano para el control de la broca del café*. Chinchiná, Colombia: Centro Nacional de Investigaciones de Café (Cenicafé).

Orr, D., & Such, C. (1998). Parasitoids and Predators. En J. Rechcigl & N. Rechcigl (Eds.), *Biological and Biotechnological control of insects* (pp. 46-72). New York, EE. UU.: Lewis Publishers.

Osorio, J. (1997). Los picudos de los cítricos. *Actualidad Cafetera, enero, 8*.

Ovruski, S. (1994). Comportamiento en la detección del huésped de *Aganaspis pelleranoi* (Hymenoptera: Eucoilidae) parasitoide de larvas de *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Revista de la Sociedad Entomológica de Argentina, 53*, 121-127.

Ovruski, S., Aluja, M., Sivinski, J., & Wharton, R. (2000). Hymenopteran parasitoids on fruit-infesting Tephritidae (Diptera) in Latin America and the southern United States: diversity, distribution, taxonomic status and their use in fruit fly biological control. *Integrated Pest Management Reviews, 5*(2), 81-107. doi:10.1023/A:1009652431251.

Peñaloza, M., & Díaz, G. (2004). *Así se maneja y controla el picudo de los cítricos Compsus sp.* Recuperado de http://www.cadenahortofruticola.org/admin/bibli/825picudo_de_los_citricos.pdf.

Pérez, M. (2000). Evaluación preliminar de parasitoides nativos de huevos del picudo de los cítricos *Compsus* sp. En: Federación Nacional de Cafeteros de Colombia (Ed.), *Memorias I Seminario Nacional sobre el Picudo de los Cítricos Compsus* sp. (pp. 19-22). Pereira, Colombia: Federación Nacional de Cafeteros de Colombia.

Pinto, J. D. (1999). *Systematic of the North American species of Trichogramma Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae)*. Washington, D.C., EE. UU.: Entomological Society of Washington.

Pizzol, J., Pintureau, B., Khoualdia, O., & Desneux, N. (2010). Temperature-dependent differences in biological traits between two strains of *Trichogramma cacoeciae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Journal of Pest Science, 83*(4), 447-452. doi:10.1007/s10340-010-0327-0.

Plummer, C. C., McPhail, M., & Monk, J. W., (1941). *The yellow chapote, a native host of the Mexican fruitfly* [Technical Bulletins 169021]. Washington, D.C., EE. UU.: United States Department of Agriculture, Economic Research Service.

Portilla, R., & Bustillo, A. (1995). Nuevas investigaciones en la cría masiva de *Hypothenemus hampei* y de sus parasitoides *Cephalonomia stephanoderis* y *Prorops nasuta*. *Revista Colombiana de Entomología, 21*, 25-33.

Portilla, R., González, G., & Núñez, L. (1994). Infestación, reconocimiento e identificación de moscas de las frutas y sus enemigos naturales en café. *Revista Colombiana de Entomología, 20*, 261-266.

Postali, J. R., Machado, P. S., & Pinto, A. (2010). Biological control of pests as a key component for sustainable sugarcane production. En L. A. Barbosa (Coord.), *Sugarcane bioethanol: R&D for productivity and sustainability* (pp. 441-450). São Paulo, Brasil: Blücher. doi:10.5151/BlucherOA-Sugarcane-SUGARCANEBIOETHANOL_41.

Potting, R., Vet, L., & Overholt, W. (1997). Geographic variation in host selection behaviour and reproductive success in the stemborer parasitoid *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae). *Bulletin of Entomology Research, 87*(5), 515-524. doi:10.1017/S0007485300041389.

Querino, R., & Zucchi, R. (2005). An illustrated key to the species of *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) of Brazil. *Zootaxa, 1073*, 37-60.

Quintero, C., Rendón, F., García-González, J., Cardona-Mejía, C., López-ÁÁvila, A., & Hernández, M. P. (2001). Especies y biotipos de moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) en cultivos semestrales de Colombia y Ecuador. *Revista Colombiana de Entomología, 27*, 27-31.

Quintero, H., Bustillo, C., Benavides, A., & Cháves, B. (1998). Evidencias del establecimiento de *Cephalonomia stephanoderis* y *Prorops nasuta* (Hymenoptera: Bethylidae) en cafetales del departamento de Nariño, Colombia. *Revista Colombiana de Entomología, 24*, 141-147.

Resende, K. N. C. & Penteado-Dias, A. M. (2003). Fenologia dos Braconidae (Hymenoptera, Ichneumonoidea) da área de proteção ambiental (APA) de Descalvado, SP. *Revista Brasilera de Entomología, 47*(1), 99-105. doi:10.1590/S0085-56262003000100015.

Reyes, A., Bustillo, P., & Cháves, B. (1995). Efecto de Beauveria bassiana y *Metarhizium anisopliae* sobre el parasitoide de la broca del café *Cephalonomia stephanoderis*. *Revista Colombiana de Entomología, 21*, 199-204.

Reuter, O. M., Buch, A., & Buch, M. (1913). *Lebensgewohnheiten und Instinkte der Insekten bis zum Erwachen der sozialen Instinkte*. Berlín, Alemania: Friedländer & Sohn.

Rincón, L. (1999). *Estudios biológicos del parasitoide Trichogramma lopezandinensis Sarmiento (Hymenoptera: Trichogrammatidae) orientados al control de la polilla guatemalteca de la papa Tecia solanivora (Povolny) (Lepidoptera: Gelechiidae)* (tesis de grado). Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.

Ríos, M. V., & Terán, J. (2003). Los *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) de la región noroccidental del estado Guárico, Venezuela. *Entomotropica, 18*(2), 127-145.

Rodrigues de Souza, A., Augusta, T., Barbosa, R., & Diniz, C. (2016). Natural parasitism of lepidopteran eggs by *Trichogramma species* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in Agricultural Crops in Minas Gerais, Brazil. *Florida Entomologist, 99*(2), 221-225. doi:10.1653/024.099.0210.

Rubio-González, L., Zambrano-Gómez, E., Castro-Ávila, A., Costa, V., & Ebratt-Ravelo, E. (2011). *Diaphorina citri* Kuwayama y *Tamarixia radiata* (Waterson) en cultivos de cítricos de Cundinamarca, Colombia. En Sociedad Colombiana de Entomología (Socolen) (Ed.), *Memorias del XXXVIII Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología* (p. 105). Manizales, Colombia: Socolen.

Salazar, L., Müller, G., Querci, M., Zapata, J., & Owens, R. (2000). Potato yellow vein virus: its host range, distribution in South America and identification as a crinivirus transmitted by *Trialeurodes vaporariorum*. *Annals of Applied Biology, 137*(1), 7-19. doi:10.1111/j.1744-7348.2000.tb00052.x.

Sánchez, G. (2000). Manejo del picudo de los cítricos *Compsus* sp. (Coleoptera: Curculionidae). En Federación Nacional de Cafeteros de Colombia (Ed.), *Memorias I Seminario Nacional sobre el Picudo de los Cítricos Compsus sp.* (p. 23-26). Pereira, Colombia: Federación Nacional de Cafeteros de Colombia.

Santamaría, M., Ebratt, E., Castro, A., & Brochero, H. L. (2016). Hymenopterous parasitoids of *Dasiops* (Diptera: Lonchaeidae) infesting cultivated *Passiflora* spp. (Passifloraceae) in Cundinamarca and Boyaca, Colombia. *Agronomía Colombiana, 34*(2), 200-208. doi:10.15446/agron.colomb.v34n2.55616.

Sarmiento, C., Aguirre, H., & Martínez, J. (2012). Anastrepha (Diptera: Tephritidae) y sus asociados: dinámica de emergencia de sus parasitoides en frutos de tres especies de plantas. *Boletín del Museo de Entomología de la Universidad del Valle, 13*(1), 25-32.

Sarmiento, M. (1993). A new species of *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) of the Colombian Andes. *Revista Colombiana Entomología*, *19*(1), 3-5.

Schuster, D., Evans, G. A., Bennett, F., Stansly, P. A., Jansson, R., Leibee, G., & Webb, S. (1998). A survey of parasitoids of *Bemisia* spp. whiteflies in Florida, the Caribbean, and Central and South America. *International Journal of Pest Management*, *44*(4), 255-260. doi:10.1080/096708798228194.

Serra, C. A., Ferreira, M., García, S., Santana, L., Castillo, M., Nolasco, C., … Sivinski J. (2011). Establishment of the West Indian Fruit Fly (Diptera: Tephritidae) Parasitoid *Doryctobracon areolatus* (Hymenoptera: Braconidae) in the Dominican Republic. *Florida Entomolist*, *94*(4), 809-816.

Siqueira, J. R., Bueno, R. C. O. F., Bueno, A. F., & Vieira, S. S. (2012). Host preference of the egg parasitoid *Trichogramma pretiosum*. *Ciência Rural*, *42*(1), 1-5. doi:10.1590/S0103-84782011005000156.

Sivinski, J., Aluja, M., & López, M. (1997). Spatial and temporal distributions of parasitoids of Mexican *Anastrepha* species (Diptera: Tephritidae) within the canopies of fruit trees. *Annals of the Entomological Society of America*, *90*(5), 604-618. doi:10.1093/aesa/90.5.604.

Smith, L., & Belloti, A. C. (1996). *Successful biocontrol projects with emphasis on the Neotropics*. Recuperado de http://web.entomol¬ogy.cornell.edu/shelton/cornell-biocontrol-conf/talks/bellotti.html.

Smith, S. M. (1996). Biological control with *Trichogramma*: advances, successes, and potential of their use. *Annual Review of Entomology*, *41*, 375-406. doi:10.1146/annurev.en.41.010196.002111.

Solis, M. A., & Metz, M. A. (2016). An illustrated guide to the identification of the known species of *Diatraea* Guilding (Lepidoptera, Crambidae, Crambinae) based on genitalia. *ZooKeys*, *565*, 73-121. doi:10.3897/zookeys.565.6797.

Soto, A. (2002). *Nuevo registro de parasitoide del picudo de los cítricos (Compsus n. sp) en Colombia* [Boletín fitotecnia]. Manizales, Colombia: Universidad de Caldas.

Stireman, J. O., O'Hara, J. E., & Wood, D. M. (2006). Tachinidae: evolution, behavior and ecology. *Annual Review of Entomology*, *51*, 525-555. doi:10.1146/annurev.ento.51.110104.151133.

Summers, T., King, E., Martin, D., & Jackson, R. (1976). Biological control of *Diatraea saccharalis* [Lep.: Pyralidae] in Florida by periodic releases of *Lixophaga diatraeae* [Dipt.: Tachinidae]. *Biological Control*, *21*(4), 359-366. doi:10.1007/BF02371634.

Tello, P., Cantor, F., Rodríguez, D., & Cure, J. R. (2007). Release densities and frequencies of *Encarsia formosa* (Hymenoptera: Aphelinidae) on *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae) in tomato. *Agronomía Colombiana*, *25*(2), 314-319.

Ticheler, J. (1963). Estudio analítico de la epidemiología del escolitido de los granos de café *Stephanoderes hampei* Ferr. en Costa de Marfil. *Cenicafé*, *14*(4), 223-294.

Toledo, A., Duval, G., & Sauer, H. (1947). A broca do café. *O Biológico*, *13*, 113-118.

Torrado, E. (2016). *Development of greenhouse biological control in Colombia*. Ponencia presentada en XXV Congreso Internacional de Entomología, Orlando, Estados Unidos.

Trujillo, H. E., Arias, B., Guerrero, J. M., Hernández, P., Bellotti, A., & Peña, J. E. (2004). Survey of parasitoids of whiteflies (Homoptera: Aleyrodidae) in cassava growing regions of Colombia and Ecuador. *Florida Entomologist*, *87*(3), 268-273. doi:10.1653/0015-4040(2004)087[0268:SOPOWH]2.0.CO;2.

Universidad Jorge Tadeo Lozano (2017). *Laboratorio de Entomología 2017*. Recuperado de http://www.utadeo.edu.co/files/collections/documents/field_attached_file/precios_entomologia_2017.pdf.

Urías, L., Bellotti, A., Bravo, M., & Carrillo, S. (1987). Impacto de insecticidas sobre tres parasitoides de *Erinnyis ello* (L.), gusano de cuerno de la yuca. *Agrociencia*, *67*, 137-146.

Valcárcel-Calderón, F. (2013). El control biológico de plagas en la floricultura colombiana. En Sociedad Colombiana de Entomología (Socolen), *Memorias del 40º Congreso de Socolen*. Bogotá, Colombia: Socolen

Valderrama, K., Granobles, J., Valencia, E., & Sánchez, M. (2007). *Nesidiocoris tenuis* (Hemiptera: Miridae) depredador en el cultivo de tabaco (*Nicotiana tabacum*). *Revista Colombiana de Entomología*, *33*, 141-145.

Valenzuela, G. (1993). Aspectos históricos del control biológico. En: F. Palacios (Ed.), *Control biológico en Colombia: historia, avances y proyecciones* (pp. 1-8). Palmira, Colombia: Universidad Nacional de Colombia.

Valenzuela, G. (1965). *Programa de Control Supervisado, informe de labores durante la campaña algodonera de 1965 en la zona norte del Tolima*. Armero, Colombia: Federalgodón.

Van Driesche, R., Bellotti, A., Castillo, J., & Herrera, C. (1990). Estimating total losses from parasitoids for a field population of a continuously breeding insect, cassava mealybug, *Phenacoccus herreni* (Homoptera: Pseudococcidae) in Colombia, SA. *Florida Entomologist*, *73*(1), 133-143. doi:10.2307/3495337.

Van Driesche, R., Bellotti, A., Herrera, C., & Castillo, J. (1986). Encapsulation rates of two encyrtid parasitoids by two *Phenacoccus* spp. of cassava mealybugs in Colombia. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, *42*(1), 79-82. doi:10.1111/j.1570-7458.1986.tb02190.x.

Van Driesche, R., Bellotti, A., Herrera, C., & Castillo, J. (1987). Host preferences of two encyrtid parasitoids for the Columbian *Phenacoccus* spp. of cassava mealybugs.

Entomologia Experimentalis et Applicata, *43*(3), 261-266. doi:10.1111/j.1570-7458.1987.tb02219.x.

Van Lenteren, J. C., & Manzaroli, G. (1999). Evaluation and use of predators and parasitoids for biological control of pests in greenhouses. En R. Albajes, M. Lodovica-Gullino, J. C. Van Lenteren, & Y. Elad (Eds.), *Integrated pest and disease management in greenhouse crops* (pp. 183-201). Dordrecht, Holanda: Springer.

Varela, A., & Bellotti, A. (1981). Algunos aspectos biológicos y observaciones de un nuevo piojo harinoso de la yuca *Phenacoccus herreni* (Homoptera: Pseudococcidae) en Colombia. *Revista Colombiana de Entomolpogía*, *7*, 21-26.

Vargas, G., Gómez, L. A., & Michaud, J. P. (2015). Sugarcane stem borers of the Colombian Cauca River Valley: current pest status, biology, and control. *Florida Entomologist*, *98*(2), 728-735. doi:10.1653/024.098.0249.

Vargas, G., Villegas, A., Ramírez, D., Barco, L. E., Gutiérrez, Y., Herrera, D., & Valencia, I. C. (2015). Eficacia de las liberaciones de enemigos naturales para el manejo de *Diatraea tabernella* y *D. busckella* en la zona norte del valle del río Cauca. En Asociación Colombiana de Técnicos de la Caña de Azúcar (Tecnicaña) (Ed.), *Memorias X Congreso de la Asociación Colombiana de Técnicos de la Caña de Azúcar* (pp. 411-422).Cali, Colombia: Tecnicaña.

Vargas, G. A., Obando, V., & Gómez, L. A. (2006). *Jaynesleskia jaynesi*: otra alternativa para el manejo de *Diatraea* spp. *Carta Trimestral del Cenicaña, 28*(2), 3-5.

Vásquez-Ordóñez, A. A., Hazzi, N. A., Escobar-Prieto, D., Paz-Jojoa, D., & Parsa, S. (2015). A geographic distribution database of the Neotropical cassava whitefly complex (Hemiptera, Aleyrodidae) and their associated parasitoids and hyperparasitoids (Hymenoptera). *ZooKeys*, *545*, 75-87. doi:10.3897/zookeys.545.6193.

Vázquez, L. L. (2002). Efecto de *Verticillium lecanii* y *Beauveria bassiana* sobre *Cotesia americanus* (Lepeletier) (Hymenoptera: Braconidae), parasitoide de larvas de la primavera de la yuca (Erinnyis ello L.). *Fitosanidad*, *6*(1), 25-27.

Vélez, R. (1997). *Plagas agrícolas de impacto económico en Colombia: bionomía y manejo integrado*. Medellín, Colombia: Universidad de Antioquia.

Vergara, J., Orozco, J., Bustillo, A., & Cháves, B. (2001a). Dispersión de *Phymastichus coffea* en un lote de café infestado de *Hypothenemus hampei*. *Cenicafé*, *52*(2), 104-110.

Vergara, J., Orozco, J., Bustillo, A., & Cháves, B. (2001b). Biología de *Phymastichus coffea* en condiciones de campo. *Cenicafé*, *52*(2), 97-103.

Viggiani, G. (1991). Ridescrizione di *Amitus fuscipennis* Macg. & Neb.(Hym.: Platygastridae), parassitoide esotico di *Trialeurodes vaporariorum* (Westw.), con notizie preliminari sulla sua introduzione in Italia. *Redia*, *74*(1), 177-183.

Villalobos, W., Hollis, D., Godoy, C., & Rivera, C. (2005). First report of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in Costa Rica. *Insecta Mundi 19*(3), 151-152.

Vinson, S. B. (2010). Nutritional ecology of insect egg parasitoids. En F. L. Cônsoli, J. R. P. Parra, & R. A. Zucchi

(Eds.), *Egg parasitoids in agroecosystems with emphasis on Trichogramma* (pp. 25-55). Londres, Reino Unido: Springer Science & Business Media.

Waterston, J. (1923). Notes on parasitic Hymenoptera. *Bulletin of Entomological Research, 14*(1), 103-118. doi:10.1017/S0007485300028248.

Wharton, R., & Sharkey, M. (1998). *Manual para los géneros de la familia Braconidae (Hymenoptera) del Nuevo Mundo*. Washington, EE, UU.: International Society of Hymenopterists.

White, W., Viator, R., Dufrene, E., Dalley, C., Richard, E., & Tew, T. (2008). Re-evaluation of sugarcane borer (Lepidoptera: Crambidae) bioeconomics in Louisiana. *Crop Protecticon, 27*(9), 1256-1261. doi:10.1016/j.cropro.2008.03.011.

White, W. H., Reagan, T. E., Mith, J. W., & Salazar, J. A. (2004). Refuge releases of *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) into the Louisiana sugarcane ecosystem. *Environmental Entomology, 33*(3), 627-632. doi:10.1603/0046-225X-33.3.627.

Wibmer, G., & O'Brien, C. (1986). Annotated checklist of the weevils (Curculionidae *sensu lato*) of South America (Coleoptera: Curculionoidea). *Memoirs of the American Entomological Institute, 39*(i-xvi), 1-563.

Winkler, K., Wäckers, F., Bukovinszkine-Kiss, G., & Van Lenteren, J. (2006). Sugar resources are vital for *Diadegma semiclausum* fecundity under field conditions. *Basic and Applied Ecology, 7*(2), 133-140. doi:10.1016/j.baae.2005.06.001.

Wu, Z., Cohen, A., & Nordlund, D. A. (2000). The feeding behavior of *Trichogramma brassicae:* new evidence for selective ingestion of solid food. *Entomology Experimentalis and Applicata, 96*(1), 1-8. doi:10.1046/j.1570-7458.2000.00673.x.

Yepes, F., & Vélez, R. (1989). Contribución al conocimiento de las moscas de las frutas (Tephritidae) y sus parasitoides en el departamento de Antioquia. *Revista Facultad Nacional de Agronomía, 42*(2), 73-98.

Yokoyama, M., Nakano, O., Rigitano, R., & Nakayama, L. (1977). Situação atual da vespa de Uganda, *Prorops nasuta* Waterston, 1923 (Hymenoptera: Bethylidae) no Brasil. *Cientifica, 5*, 394.

Zucchi, R., Araújo, E., Canal, N., & Uchoa, M. (1999). La Mosca Sudamericana de las frutas *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann) en el Brasil. En *The South American Fruit ßy, Anastrepha fraterculus (Wied.); advances in artificial rearing, taxonomic status and biological studies* (pp. 5-12). Viña del Mar, Chile: International Atomic Energy Agency.

Zuluaga, P. A., Caicedo, A. M., Cardozo, N., Muñoz, J. E., & Carabalí, A. (2016). Entomopatógenos asociados a cítricos y su patogenicidad sobre *Compsus viridivittatus* Guérin-Méneville (Coleoptera: Curculionidae). *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria, 16*(2), 293-305.

Zuparko, R. L., De Queiroz, D. L., & La Salle, J. (2011). Two new species of *Tamarixia* (Hymenoptera: Eulophidae) from Chile and Australia, established as biological control agents of invasive psyllids (Hemiptera: Calophyidae, Triozidae) in California. *Zootaxa, 2921*, 13-27.

Índice temático

A

Ácaros, control biológico de, 720, 733

Aceratoneuromyia indica, 505

A. indica, 505

Acerophagus coccois, 528, 529

A. coccois, 529

Ácido

Ácido jasmónico, 163, 174, 199, 200

Ácido salicílico, 100, 102, 103, 155, 805, 904, 1001

Acuerdo de París, 1028

Adalia bipunctata, 776

Adaptación

Adaptación ecológica, 95

Adaptación, capacidad de, 523

Adaptación, proceso de, 187

Adopción

Adopción de tecnologías, 106, 787

Adopción de la tecnología, limitantes de la, 726

Adopción del control biológico, 220

Adopción de los biofungicidas, 244

Adopción de nuevas tecnologías, 442, 619, 783

Adopción de métodos, 442

Aenasius vexans, 528,

A. vexans, 529

Aflatoxinas, 224, 228, 1028

African cassava mosaic virus, 87

Aganaspis pelleranoi, 500, 501, 503, 504,506

A. pelleranoi, 505

Aganaspis sp., 501, 503

Agentes antivirales, 88, 92, 93

Agentes de control biológico, 42, 44, 49, 50, 51, 60, 72, 78, 85, 86, 95, 99, 101, 102, 104, 105, 112, 117, 118, 146, 148, 149, 151, 155, 156, 161, 162, 164, 169, 170, 183, 189, 190, 200, 201, 230, 232, 235, 237, 240, 246, 276, 280, 298, 300, 324, 336, 341, 361, 370, 397, 399, 464, 471, 477, 489, 493, 498, 596, 598, 600, 608, 609, 611, 613, 647, 655, 694, 695, 698, 705, 709, 710, 720, 726, 731, 734, 736, 738, 766, 769, 771, 777, 779, 780, 782, 783, 784, 801, 803, 804, 806, 811, 826, 855, 856, 869, 872, 880, 882, 886, 887, 889, 891, 898, 926, 932, 933, 936, 952, 963, 971, 972, 974, 975, 976, 977, 978, 980, 1003, 1038, 1051

ACB, 44, 47, 146, 148, 149, 150, 170, 202, 203, 600, 655, 694, 695, 701, 702, 708, 731, 932, 980

Agregación, de feromonas, 412, 414, 421, 423, 436, 437

Agricultura de precisión, 148, 787, 788

Agrobacterium radiobacter, 150, 774

Agrobacterium tumefaciens, 151, 889, 893, 894

A. tumefaciens, 890

Agrosistemas, 381, 1019, 1020

Aislamiento

Aislamiento Bb9114, 347

Aislamiento Bb9218, 359

Aislamiento CHA0, 321

Aislamiento de AgMNPV, 388

Aislamiento de *B. bassiana*, 937, 938

Aislamiento de *B. thuringiensis* ssp. *morrisoni* var. *thuringiensis*, 938

Aislamiento de bacterias, 74, 110

Aislamiento de CpGV, 387

Aislamiento de feromonas, 744, 748, 749

Aislamiento de hongos endófitos, 864

Aislamiento de *L. lecanii*, 360

Aislamiento de la cepa Vl026, 349, 360, 613, 704

Aislamiento de *M. anisopliae*, 360, 938

Aislamiento de *M. brunneum*, 928

Aislamiento de microorganismos, 864, 887, 890

Aislamiento de proteínas, 960, 975

Aislamiento de *T. harzianum*, 100, 105

Aislamiento de *T. koningiopsis*, 611, 612
Aislamiento de *T. reesei*, 100
Aislamiento de *T. saturnisporum*, 100
Aislamiento de *T. virens*, 100
Aislamiento de *T. viride*, 100
Aislamiento nativo de SfNPV, 385, 386
Aislamiento nativo Th003, 197, 611
Aislamiento NPV003, 386
Aislamiento T39, 104, 105
Aislamiento Th003, 184, 612
Aislamiento Th034, 184
Aislamiento VG003, 615
Aislamiento Vl026, 349, 360, 613
Aislamientos atoxigénicos, 1028
Aislamientos Bv056, 613
Aislamientos de *Azospirillum* spp., 153
Aislamientos de *B. bassiana*, 646, 937
Aislamientos de bacterias, 110
Aislamientos de C. *minitans*, 163
Aislamientos de *Fusarium solani*, 151
Aislamientos de levaduras, 84, 242, 610
Aislamientos de *M. anisopliae*, 353
Aislamientos de NPV, 390
Aislamientos de *Pichia onychis*, 236
Aislamientos de *Pseudomonas fluorescens*, 891
Aislamientos de *R. solani*, 184
Aislamientos de SfNPV, 386
Aislamientos de *Trichoderma harzianum*, 863
Aislamientos de *T. harzianum*, 100, 105, 863
Aislamientos de *Trichoderma*, 863
Aislamientos de *Trichoderma asperellum*, 863
Aislamientos de *Trichoderma hamatum*, 863
Aislamientos de *Trichoderma spirale*, 863
Aislamientos de *Trichoderma* spp., 100, 197, 611
Aislamientos de *Trichoderma stromaticum*, 863
Aislamientos de *Yersinia*, 319
Aislamientos donantes, 87
Aislamientos endófitos, 864
Aislamientos hipovirulentos, 87
Aislamientos microbianos, 887
Aislamientos nativos de *L. lecanii*, 349
Aislamientos nativos de *Metarhizium* spp., 353
Aislamientos nativos de SfNPV, 386
Aislamientos nativos de *Trichoderma* spp., 184
Aislamientos patogénicos, 318
Aislamientos virulentos, 87
Alabama argillacea, 323, 493
Alabama sp., 490
Alarma, feromonas de, 414
Aleurocanthus woglumi, 499
Aleuroctonus vittatus, 496, 499
Aleurodicus sp., 496, 499
Aleurothrixus floccosus, 496, 499
A. floccosus, 496
Aleurotrachelus socialis, 495, 496, 498
A. socialis, 496-499
Alfalfa mosaic virus, 93
AMV, 93, 94
Alfamovirus, 94
Allograpta (*Fazia*) CR-2 aff. *Hians*, 462, 520
Alomonas, 414
Alpha flexiviridae, 87
Alternaria, 78, 95, 99, 231, 238, 658, 995
A. alternata, 232-234, 997
Alternaria brassicae, 966
Alternaria destruens, 767
Alternaria solani, 81, 857, 906
Alternaria sp., 70, 85, 114, 115, 997
Alysia sp., 500, 502
Amblydromalus manihoti, 469, 470
A. manihoti, 469
Amblydromalus rapax, 469
Amblyseius aerialis, 470
Amblyseius herbicolus, 461
Amblyseius sp., 729
Ambracius daufouri, 461
Aminopeptidasas, 308
Amitus fuscipennis, 490, 495, 496, 613
A. fuscipennis, 495, 497-499
Amitus spiniferus, 496
Amitus macgowni, 496, 498
A. macgowni, 499
Ampelomyces quisqualis, 71, 81, 98, 114, 115
A. quisqualis, 81, 98

Anagyrus kamali, 464
Análisis de prefactibilidad, 632
Anastrepha coronilli, 501, 504
Anastrepha distincta, 501, 504
Anastrepha fraterculus, 501, 504
A. fraterculus, 504, 505
Anastrepha leptozona, 501, 504
A. leptozona, 504
Anastrepha ludens, 424
A. ludens, 504, 506
Anastrepha nuneze, 501, 504
Anastrepha obliqua, 501, 504
A. obliqua, 504, 505
Anastrepha ornata, 501, 504
Anastrepha pickeli, 501, 504
A. pickeli, 504
Anastrepha, 501, 504
Anastrepha spp., 490, 505
Anastrepha striata, 501, 504, 505, 999
A. striata, 504, 505
Androctonus australis, 400, 935
Annona muricata, 464
Anomala cuprea, 307, 391
Anovia punica, 458, 460, 466, 468, 1043
A. punica, 460, 466-468, 1043
Anthonomus grandis, 306, 307, 344, 417, 424-426, 428, 430, 434, 867
A. grandis, 430, 434
Antibiosis, 72, 94, 96, 98, 104, 150, 159, 160-162, 170, 238, 267, 268, 603, 856, 863, 870, 882, 901, 902
Anticarsia sp., 490
Antósfera, 73, 261
Antracnosis, 65, 66, 79, 84, 86, 99, 110, 112, 224, 226, 232-234, 808
Apanteles congregatus, 508
Aphelinus mali, 489
Aphidius colemani, 737
Aphidius ervi, 861
Aphidoletes aphidimyza, 460
A. aphidimyza, 460
Aphis gossypii, 459, 460
Apis mellifera, 416
Apresorio, 62, 64, 97, 163, 173, 341, 342, 638, 866, 937, 973
Aproaerema modicella, 884
Aprostocerus sp., 511
Arabidopsis thaliana, 85, 101, 195, 265, 268, 805, 902, 955, 977, 994, 1003
A. thaliana, 967, 995, 997
Arawana sp., 463
Argonauta, 906, 907
ARN interferente, 709, 906, 907, 929, 930
ARNi, 880, 905, 906, 908, 929-932, 943
ARN satélite, 90
Arthrobotrys irregularis, 768
Aschersonia spp., 859
Ascoviridae, 374, 376, 938
Asobora anastrephae, 502
Aspergillus citricus, 163
Aspidiotus destructor, 467
A. destructor, 467
Athelia bombacina, 82
ATP binding cassette, 308
ABC, 308
Atrazina, 885
Attract and kill, 1002
Attracticide, 991, 1002
Aureobasidium pullulans, 75, 115, 116, 232, 240, 243, 274
A. pullulans, 240, 241
Aureobasidium sp., 71, 75
Auricílicas, sensilias, 418
Autographa californica, 389, 931, 935, 939
Autographa nigrisigna, 391
Autolisis, 153, 305
Autoridades regulatorias, 679, 699, 703, 704
Axion sp., 463
Axonopus sp., 1043
Azospirillum spp., 153
Azotobacter chroococcum, 786
Azya orbigera, 462, 463, 519

B

β-aminobutírico, 804, 805
β-antiparalelas, 305,
β-cariofileno, 436, 437

Bacillus amyloliquefaciens, 86, 99, 112, 116, 179, 181, 183, 189, 190, 233, 640, 647, 668, 777

B. amyloliquefaciens, 99, 101, 160, 164, 166-169, 171, 240, 640, 674, 675, 904, 994

Bacillus brevis, 78, 100, 101

Bacillus cereus, 85, 767, 996

B. cereus, 101, 164, 310

Bacillus firmus, 189, 768

Bacillus licheniformis, 85, 179, 182, 189, 232, 884, 934

B. licheniformis, 99, 164, 884

Bacillus pumilus, 85, 113, 116, 179, 181, 182, 189, 190, 191, 768, 774, 884

B. pumilus, 86, 99, 164, 996

Bacillus sotto, 301

Bacillus sp., 74, 110, 161, 314, 884, 889, 891

Bacillus sphaericus 300, 315, 660, 700, 768, 776

Bacillus subtilis, 78, 85, 110, 112, 116, 166, 179, 181-183, 189, 191, 230, 232, 238, 635, 647, 658, 668, 671, 700, 710, 768, 774, 775, 883, 884, 889, 994

B. subtilis, 85, 86, 99, 110, 164, 181, 238, 240, 241, 300, 883, 994, 996, 997

Bacillus thuringiensis 48, 89, 298, 299, 300-305, 309, 312, 313, 323, 355, 602, 635, 638, 639, 653, 668, 700, 708, 767, 768, 771, 772, 774, 776, 777, 802, 933, 934, 937

B. thuringiensis, 301, 302, 307, 308, 310, 315, 322, 639, 640, 655, 660, 934, 937, 938

Bacillus thuringiensis subespecie *kurstaki*, 777

B. thuringiensis ssp. *morrisoni* var. *Thuringiensis*, 938

Bacterias entomopatogénicas, 302

Bacteriófagos, 151, 398, 880, 891, 892, 893

Bactrocera dorsalis, 424, 426, 969, 1002

B. dorsalis, 930

Bactrocera spp., 442

Bactrocera tryoni, 909

Baculoviridae, 374, 377, 378, 385, 938, 964

Baculovirus erinnyis, 1047

Banana Bunchy Top Virus, 891

BBTV, 891

Basicónicas, sensilias, 418

Beauveria bassiana, 48, 89, 340, 345, 354, 355, 358, 373, 511, 520, 603, 638, 639, 641, 646, 647, 650, 652-654, 668, 700, 702, 768, 772, 775, 841, 842, 858, 859, 861, 867, 933, 936, 1000, 1043

B. bassiana, 343, 344, 346-349, 354, 359, 360, 527, 528, 613, 655, 710, 858, 859, 861, 862, 867, 868, 884, 936-938, 975

Beauveria brongniartii, 345, 355, 938

B. brongniartii, 346, 354

Beauveria pseudobassiana, 928

Beauveria sp., 635

Begomovirus, 348, 495, 1020

Bellucia axinanthera, 502

Bellucia pentamera, 502

Bemisia argentifolii, 472

Bemisia tabaci, 344, 348, 472, 495-497, 610, 612, 639, 641, 648, 649, 704, 705, 859, 1020

B. tabaci, 348-352, 360, 472-474, 495, 497, 499, 610, 612, 613, 930

Bemisia tuberculata, 498

B. tuberculata, 498, 499

Billaea claripalpis, 490, 513, 515

B. claripalpis, 514, 516

Biocontrol

Biocontrol de enfermedades, 263

Biocontrol, actividad de, 101

Biocontrol, agente de, 50, 82, 104-106, 150, 156, 159, 162, 202, 203, 277-279, 598, 603, 640, 658, 710, 767-769, 778, 781, 782, 963, 974, 975, 980

Biocontrol, agentes de 49, 51, 82, 158, 177, 191, 246, 277-279, 284, 394, 600, 671, 707, 764, 766, 769, 770, 772, 777, 779, 780-782, 790, 880, 882, 896, 974, 975, 980

Biocontrol, cadena de, 106

Biocontrol, mecanismos de, 175

Biocontrol, organismos de, 50, 354

Biocontrolador

Biocontrolador, agente, 84, 163, 339, 639, 655-658, 723, 970

Biocontrolador, efecto, 79, 100, 171, 187, 274, 598, 640, 883, 996

Biocontrolador, hongo, 48, 200, 274, 354, 355, 356, 603, 606, 671, 860, 928

Biocontrolador, inóculo, 82

Biocontrolador, microorganismo, 50, 117, 118, 183, 600, 602, 603, 609, 641, 647, 652, 654, 656-658, 681, 696

Biocontroladora, actividad, 49, 79, 82, 84, 94, 104, 105, 107, 108, 117, 118, 156, 162, 176, 189, 197, 200, 202, 224, 236, 240, 245, 278, 349, 353, 383, 390

Biocontroladoras, bacterias, 101, 162, 175, 238, 279

Biocontroladoras, cepas, 276

Biocontroladoras, levaduras, 237, 244

Biocontroladores bacterianos, 112

Biocontroladores registrados en Colombia, 185

Biocontroladores, agentes, 51, 52, 61, 71, 72, 78, 244, 267, 268, 273, 276, 603, 660, 734, 806, 889, 901, 902, 975

Biocontroladores, hongos, 84, 85, 99, 162, 635, 643, 671, 705, 927, 928

Biocontroladores, hongos filamentosos, 114

Biocontroladores, microorganismos, 61, 118, 148, 183, 190, 235, 277, 284, 600, 608, 609, 617, 638, 640, 645, 647, 654, 658, 669, 672, 681, 767, 802, 880, 884, 886, 889, 896, 899, 909, 977, 978

Bioensayo, 105, 110, 151, 242, 347, 601-608, 611, 613, 614, 618, 632, 634, 641, 656, 657, 671, 703, 744, 746-750, 752, 753, 894, 934, 995, 996

Bioinformática, 872, 955, 960-963, 965, 966, 968-970, 974, 979, 980

Bioinsecticida, 301, 302, 325, 343, 347, 361, 370, 376, 381, 383, 388, 395, 397, 400, 638, 645, 665, 704, 767, 783, 785, 866-868, 924

Bioinsumo, 284, 352, 384, 386, 387, 399, 431, 634, 655, 659, 662, 679, 694, 695, 702, 703, 704, 705, 735, 739, 773, 780, 882, 927

Bioinsumo de uso agrícola, 431

Biomasa

Biomasa de la levadura, 667

Biomasa de microorganismos biocontroladores, 638

Biomasa de plantas, 79

Biomasa fúngica, 637, 888

Biomasa hifal, 673

Biomasa microbiana, 642, 897

Biomasa microbiana total, 801

Biomasa seca, 107, 674

Biomasa terrestre total, 800

Biomasa total de microorganismos, 268, 901

Biomasa, producción de, 107, 110, 518, 637, 667, 674, 857, 858, 994

Bioplaguicida, 50, 60, 61, 79, 82, 84, 97, 98, 104-106, 108, 110-115, 117, 118, 146, 148, 149, 162, 165, 175, 178, 180-183, 186, 187, 189, 192, 197, 200-202, 229, 230, 243-245, 247, 274-276, 298, 300, 301, 319, 321, 322, 324, 325, 336, 341, 343, 345, 346, 349, 350, 351, 353, 354, 356, 358, 370, 381, 383, 384, 386, 387, 389-392, 400, 427, 507, 596, 598-602, 604, 608, 609-613, 615, 617, 619-630, 632-637, 639-648, 654, 655-662, 665, 667-669, 676-681, 694-701, 703-711, 764, 766-774, 778, 780-788, 790, 802, 804, 806, 812, 836, 866, 867, 880, 882, 884, 885, 887, 893, 904, 924, 932-934, 936, 943, 969

Biopolímeros, 754, 898

Biosteres longicaudatu, 505

Biótrofo, 62-65, 72, 94-96, 99, 195, 617

Basic Local Alignment Search Tool (BLAST), 311

Blasticidin, 93

Blumeria graminis, 62, 117, 617, 857

B. graminis, 64, 617, 618

Boerhavia diffusa, 92, 93

B. diffusa, 93

Bombyx mori, 301, 307, 390, 415, 416, 746, 748, 930, 939

B. mori, 391, 939

Botryocidas, 61

Botryotinia fuckeliana, 62

Botrytis fabae, 71, 100

Botrytis sp., 103, 114

Bougainvillea spectabilis, 92

Brachiacantha decora, 463

Bradyrhizobium japonicum, 181, 786

Brevibacillus laterosporus, 85

Burkholderia sp., 321

Bursaphelenchus cocophilus, 431, 785

C

Cacao swollen-shoot virus, 90

Caderinas, 308

Caenorhabditis elegans, 906, 929, 955

C. elegans, 955, 967

Cairomonas, 414, 422, 423, 427, 437

Cambio climático, 45, 264, 779, 802, 812, 926, 1016, 1019-1021, 1023-1029, 1036, 1038-1041, 1044-1047, 1049-1051

Campomanesia lineatifolia, 502

Camponotus, 464

Candida guilliermondii, 84, 233

Candida oleophila, 84, 114, 116, 230, 233, 241, 243, 244, 245, 769

C. oleophila, 236, 245

Candida spp., 71, 75

Candidatus Liberibacter asiaticus, 69, 518, 519

Capnodium sp., 348, 461, 495
Capsicum sp., 460, 463
Carpósfera, 73, 230, 231, 261, 265, 267, 899, 901
Cationic cell-penetrating peptide, 932
Caulimovirus, 94
Caulósfera, 73
Celocónicas, sensilias, 418
Cephalonomia stephanoderis, 490, 520, 521
C. stephanoderis, 521-523, 526-528
Ceraeochrysa cincta, 737
Ceraeochrysa claveri, 737
Ceraeochrysa sp., 461, 463, 520
Ceratitis, 1002
Ceratitis capitata, 424, 426, 435, 440, 505, 999
C. capitata, 435, 1002
Ceratocystis ulmi, 862
Cercospora arachidicola, 71
Cercospora beticola, 85
Cereus, 311
Chaetomium globosum, 82
Cheilomenes sexmaculata, 462, 519
C. sexmaculata, 462, 463
Chenopodium ambrosioides, 774
Chetogena scutellaris, 508
Chilo sacchariphagus, 516
Chilo suppressalis, 394, 426
C. suppressalis, 426
Chilocorus cf. *cacti*, 462
Chondrostereum purpureum, 113, 767
Choristoneura fumiferana, 939, 941
C. fumiferana, 426, 941
Chromobacterium spp., 75, 320
Chromobacterium subtsugae, 320, 775
C. subtsugae, 320
Chrysomphalus aonidum, 467
Chrysomphalus ficus, 467
Chrysopa sp., 460, 461
Chrysoperla carnea, 460, 461, 737
C. carnea, 461
Chrysoperla externa, 1050
Chrysoperla rufilabris, 461
C. rufilabris, 461
Chrysophyllum cainito, 502
Ciclo adaptativo, 824, 834, 835
Citocromo, 173, 930
Citrus aurantifolia, 510
Citrus limon, 466
Citrus nobilis, 510
Citrus reticulata, 510
Citrus spp., 465, 520
Citrus tristeza virus, 90, 91
Cladosporium cladosporioides, 78, 82
Cladosporium herbarum, 78
Cladosporium spp., 75, 231
Clavibacter michiganensis, 69
Clerodendrum aculeatum, 92
Clonostachys rosea, 82, 85, 179, 180, 858
C. rosea, 82
Coccinella septempunctata, 1000, 1001
Cochinilla acanalada de Colombia, 456, 458-460, 463, 464, 466, 1036, 1041
CAC, 464, 1041
Cochliobolus heterostrophus, 45, 997
Cochliobolus miyabeanus, 45
Cochliobolus sativus, 857, 995, 996
C. sativus, 857
Coffea arabica, 502, 503, 505
Colletotrichum sp., 857, 863
Colletotrichum capsici, 72, 100, 234
Colletotrichum gloeosporioides, 65, 84, 86, 110, 767
C. gloeosporioides, 66, 82, 100, 112, 228, 232, 233, 234, 236, 240, 997
Colletotrichum sp., 857, 863
Colletotrichum tropicale, 863, 864
Competencia, 95, 104, 112, 264, 265, 268, 324, 677, 856, 882
Competencia contra hongos fitopatógenos, 163
Competencia de agentes microbianos, 94
Competencia por espacio, 73, 94, 98, 114, 150, 161, 162, 170, 199, 238, 242, 246, 267, 608, 658, 901
Competencia por nichos, 113, 857
Competencia por nutrientes, 71, 94-96, 98, 102, 114, 150, 161, 162, 170, 199, 238, 242, 246, 267, 658, 857, 901, 975
Competencia por sustrato, 95, 863
Competencia rizosférica, 156, 172

Complejo
Complejo de silenciamiento, 906
Complejo macroglomerular, 419, 420
Compsus obliquatus, 510
Compsus viridivittatus, 509, 510, 531
C. viridivittatus, 509-512
Compuestos volátiles orgánicos, 990, 992
voc, 74, 161, 436, 856, 857, 860, 885, 992, 997, 998, 1004
mVOC, 74, 990-1005
Coniothyrium minitans, 161, 162, 193, 637, 668
C. minitans, 162, 163
Conotrachelus psidii, 436
C. psidii, 436, 437
Contacto, feromonas de, 418
Control
Control de calidad, 347, 396, 397, 499, 630, 634, 648, 649, 650, 651, 655, 656, 657, 671, 677, 696, 698, 703, 709, 735, 962
Control natural, 348, 460, 461, 500, 769, 828, 832, 833
Control químico, 46, 50, 71, 78, 106, 110, 184, 200, 201, 424, 426, 433, 461, 465, 518, 730, 732, 737, 738, 739, 788, 799, 811, 832, 839, 841, 863, 891, 894, 932
Control sostenible, 474, 824, 826, 841, 1003, 1004
Control biológico
Control biológico aumentativo, 49, 456, 474-477, 734
Control biológico clásico, 49, 50, 456, 458-460, 463, 465, 468, 469, 471, 475, 477, 488, 489, 491, 520, 529
Control biológico de ácaros, 720, 733
Control biológico de conservación, 49, 456, 530, 812
Control biológico de fitopatógenos, 47, 61, 74, 78, 85, 86, 118, 146, 148, 149, 151, 152, 161, 162, 164, 175, 176, 200, 258, 611, 803, 856, 882, 889, 896, 902, 971, 974, 975
Control biológico de inoculación, 49, 50
Control biológico de insectos, 89, 338, 357, 376, 456, 701, 858, 926, 977
Control biológico de plagas, 47, 458, 459, 471, 474, 477, 488, 493-495, 680, 718, 720, 734, 737, 933, 943, 1047
Control biológico inundativo, 50, 488, 490, 493
Control biológico por conservación, 456, 474, 475
Coptera haywardi, 506
Corynespora cassiicola, 70
Cosmopolites sordidus, 345, 423, 426, 438, 440, 858
Costos
Costos fijos, 677, 783
Costos variables, 677
Cotesia congregata, 508, 941
Cotesia flavipes, 490, 516, 517
C. flavipes, 516, 517
Cotesia sp. 771
Crematogaster, 460, 464
Crinivirus, 495
Cristal parasporal, 304, 305, 308, 311, 315
Cristales proteicos, 301, 302
Cryphonectria parasitica, 79
C. parasitica, 86
Cryphonectria, 79, 86
Crypticerya brasiliensis, 463
Crypticerya genistae, 463
C. genistae, 463, 466
Crypticerya montserratensis, 468
C. montserratensis, 465, 466
Crypticerya multicicatrices, 456, 457, 460, 463, 464, 1041
C. multicicatrices, 460, 464-468
Crypticerya sp., 464
Cryptococcus albidus, 84, 101, 233, 243
Cryptococcus sp., 71
Cryptognatha auriculata, 466, 467
C. auriculata, 467, 468
Cryptognatha spp., 462
Cryptolaemus sp., 462
Cryptophlebia leucotreta, 379
Cucumber mosaic virus, 90, 91, 890
cmv, 87, 90, 93, 94, 890
Cucumis melo, 499
Cuernos laterales, 415, 419, 420
Cuerpo de inclusión, 372, 374-377, 391, 934
Cuerpos fungiformes, 415, 419, 420
Curinus colombianus, 462, 519
Curvularia eragrostidis, 70
Cycloneda sanguinea, 462, 519
C. sanguinea, 463

Cydia pomonella, 387, 389, 397, 423, 424, 426-428, 440, 660, 769, 783, 866, 1001
C. pomonella, 395, 426
Cydia sp., 490
Cypovirus, 372, 375, 382, 393

D

Dacnusa sibirica, 776
Damping off, 805, 928
Daño
Daño, intensidad de, 829, 830
Daño económico, umbral de, 433, 826, 828
Dasiops caustonae, 501, 504
Dasiops gracilis, 501, 504
Dasiops inedulis, 501, 504
D. inedulis, 505
Dasiops spp., 490
Dasiops yepezi, 501, 504, 505
Delphastus catalinae, 471, 472, 776
D. catalinae, 472-474
Delphastus pusillus, 613
Delphastus quinculus, 465
D. quinculus, 465
D-endotoxina, 709
Dendroctonus spp., 1041
Diabrotica virgifera virgifera, 440, 930
D. virgifera virgifera, 930
Diacetilfloroglucinol, 2,4-, 99, 175, 176
DAPG, 175-177
Diachasmimorpha longicaudata, 505, 506
D. longicaudata, 505
Diachasmimorpha tryoni, 505, 506
Dialeurodes citri, 496, 499
D. citri, 462, 463, 518-520, 531
Diaphorencyrtus sp., 462
Diaphorina citri, 462, 518, 519, 531, 649
D. citri, 462, 463, 518-520, 531
Diaprepes spp., 511
D. busckella, 490, 517
D. indigenella, 490, 515
Diatraea saccharalis, 438, 493, 512, 513, 771, 938
D. saccharalis, 490, 513, 515-517
Diatraea sp., spp., 490, 512, 513, 516, 517, 736
D. tabernella, 490, 517
Dicer, 906, 907, 929
Dickeya dianthicola, 1039
dideoxiNTPs, 961
Diomus seminulus, 465
D. seminulus, 465
Diomus sp., 462
Dióxido de carbono, 153, 1038
Dirhinus giffardi, 505, 506
Diseño
Diseño central compuesto, 665, 667
Diseño de experimentos, 636, 637
DOE, 636, 665
Diseño de medios de cultivo, 635, 639
Diseño de Plackett Burman, 636, 637, 644
Diseño factorial, 637, 640, 643, 665, 667
Diseños Box-Behnken, 637, 665, 667
Diseños de cribado, 636
Diseños de Taguchi, 636, 666, 668
Dispersantes, 643
Diversidad
Biodiversidad, 46, 75, 76, 260, 718, 734, 796, 800, 801, 824, 836, 837, 840, 841, 843, 852, 855, 863, 885, 926, 1003, 1050, 1051
Diversidad bacteriana, 279, 280
Diversidad biológica, 152, 475, 734, 836, 838, 890, 895
Diversidad botánica, 796, 799, 806
Diversidad de especies, 72, 77, 505, 530, 807
Diversidad de hongos, 273
Diversidad de microorganismos, 70, 76, 77, 260, 268, 1003
Diversidad de parasitoides, 477, 530
Diversidad fúngica, 267, 901
Diversidad genética, 201, 265, 276, 398, 400, 806, 807
Diversidad microbiana, 75, 266, 273, 274, 279, 298, 796, 882, 900
Diversidad molecular, 265, 899
Doryctobracon areolatus, 500, 502, 504, 506
D. areolatus, 504
Doryctobracon crawfordi, 500, 502, 504, 506
Doryctobracon trinidadensis, 500, 502

Doryctobracon zeteki, 500, 502
Dosis
Dosis de aplicación, 50, 79, 383, 705, 708
Dosis letal media, 318, 319, 320
Dosis mínima efectiva, 660, 661
Drosophila melanogaster, 321, 415, 906, 930, 955, 1000
D. melanogaster, 321
Drosophila spp., 859
Drosophila suzukii, 440, 1002
Duración del registro, 699, 703
Dynamis borassi, 431, 435
D. borassi, 431

E

Earias vittella, 938
Eficacia
Eficacia biológica, 377, 398, 660, 662, 942
El niño, fenómeno de, 1023, 1039, 1045
Elaeis guineensis, 430, 436
E. guineensis, 436
Elasmopalpus sp., 490
Elicitor, 174, 177, 805, 806, 880, 881, 899, 902-904, 909
Embedded viruses, 939
Encarsia aleurothrixi, 496
Encarsia bascinta, 496
Encarsia bellotti, 496
E. bellotti, 498, 499
Encarsia citrella, 496
Encarsia formosa, 490, 496, 498, 737, 776, 837
E. formosa, 498, 499
Encarsia grupo *luteola*, 496, 498
Encarsia hispida, 496
E. hispida, 498, 499
Encarsia luteola, 496
Encarsia mineoi, 497
Encarsia nigricephala, 497
Encarsia pergandiella, 497, 498
Encarsia sophia, 497
E. sophia, 498, 499
Encarsia sp., spp., 497, 498, 499
Encarsia strenua, 497
Endófitos
Endófitos clavicipitáceos, 854, 862
Endófitos no clavicipitáceos, 854, 855
Endófitos, hongos, 271, 852, 854-856, 858, 860, 862-866, 871, 872, 896
Endófitos, microorganismos, 709, 710, 852, 855, 856, 858, 860, 862-865, 869-872
Endósfera, 70, 73, 260, 265, 899
Enemigos naturales, 42, 47, 49, 72, 105, 376, 388, 424, 458, 461-463, 465, 466, 469, 471, 474-477, 489, 500, 505, 507, 509, 511-513, 518, 519, 523, 528, 530, 613, 659, 660, 700, 709, 710, 718, 720, 727, 734-739, 778, 779, 783, 812, 827, 828, 839, 841, 860, 861, 935, 968, 1038, 1041, 1042, 1045, 1047, 1048, 1050
Enhancina, 391, 934, 940, 942
Entomófagos, 1039
Entomógeno, 338
Entomopatógenos
Entomopatógeno, hongo, 48, 89, 98, 336, 338, 340-346, 348, 356-362, 388, 458, 511, 606, 635, 637-639, 647, 652, 654, 704, 710, 786, 858, 859, 862, 867, 870, 927, 933, 936, 937, 1000, 1039, 1043
Entomopatógeno, microorganismo, 458, 603, 609, 655, 924, 934, 936
Entomopatógeno, virus, 373, 374, 390, 392, 395, 396, 400, 607, 617, 647, 652, 933, 938, 941, 942
Enzimas degradadoras
Enzimas degradadoras de feromonas, 418
PDE, 418
Enzimas degradadoras de odorantes, 418
ODE, 418
Epicloë festucae, 859
Epicloë spp., 858
Epidemiología, 61, 319, 435, 799, 809, 1016, 1025, 1026, 1027
Epidinocarsis (Apoanagyrus) diversicornis, 528
E. diversicornis, 529
Epinotia aporema, 392
Epitelio, 302, 308, 315, 317, 377, 379, 419
Epizootia, 319, 339, 340, 341, 343, 347, 373, 399
Era posgenómica, 961, 962, 968, 978
Eretmocerus eremicus, 737, 776
Eretmocerus sp., spp., 497, 498, 499
Erinnyis ello, 380, 386, 507, 508, 651, 1047
E. ello, 386, 507-509, 1048

Erinnyis sp., 490
Eriobotrya japonica, 502
Eriosoma lanigerum, 489
Erwinia amylovora, 69, 72, 113, 115, 117, 894
E. amylovora, 70, 113
Erwinia spp., 75
Erysiphe cichoracearum, 66, 70, 112
Erysiphe necator, 66, 81
Erysiphe orontii, 85
Erysiphe spp., 66, 112
Escalamiento
Escalamiento piloto, 599, 630, 633, 665
Escape de enfermedades, 1027
Esclerocio, 63, 97, 98, 160, 162, 163, 184-186, 188-191, 193, 194, 600, 604, 611, 612, 615, 809, 924, 927, 974
Estabilidad
Estabilidad de bioplaguicidas, 657
Estabilidad electrostática, 643
Estudio
Estudio de prefactibilidad, 364
Estudios de eficacia, 657, 658, 659
Estudios toxicológicos, 105, 230, 607
Euderomphale sp., 497, 498
Eulophus pennicornis, 935
Euphorocera scutellaris, 508
Euseius concordis, 470
Excipientes, 324, 353, 641, 643-646, 676
Exochomus marginipennis, 463
Exosporium, 304
Extremo
Extremo C-terminal, 308
Extremo N-terminal, 308

F

Factor sinérgico de la infección viral, 391
Factoriales
Factoriales fraccionados, 636, 666
Factoriales irregulares, 636
Factoriales irregulares mixtos, 636
Feijoa sellowiana, 502
Fenazinas, 99, 176
Fengicinas, 99, 114, 165, 166, 168, 169, 171, 903
Fermentación
Fermentación bifásica, 356, 640, 926
Fermentacion líquida, 111, 347, 357, 637, 638, 639, 640, 649, 671, 929, 928
Fermentación sólida, 357, 637, 638, 640, 648-650, 672, 674, 926
Feromonas
Feromonas de contacto, 418
Feromonas de reclutamiento, 414
Feromonas de territorialidad, 414
Feromonas de trilla, 414
Feromonas sexuales, 412, 414, 421, 423, 424, 435, 492, 769
Feromonas volátiles, 418, 748
Feromona de agregación, 412, 414, 421, 423, 431, 434-437
Feromonas de alarma, 414, 756
Feromonas, enzimas degradadoras de, 418
Feromonas, proteínas ligadoras de, 418
Feromonas, receptores de, 418
Fidiobia citri, 511
Fidiobia dominica, 511, 512
Fidiobia sp., 509, 511, 512
Filoplano, 73, 77, 84
Filósfera, 61, 62, 70-78, 82-85, 95, 100, 108, 110, 114, 159, 175, 231, 261, 265-267, 611, 870, 893, 899-901, 1004
Firmicutes, 85, 272, 300
Fitoestimulador, 148, 884
Fitopatógenos
Fitopatógenos, hongos, 62, 74, 95, 114, 160, 163, 165, 169, 647, 862, 927, 933, 959, 970, 972, 976, 995-997
Fitopatógenas, bacterias, 61, 62, 69, 74, 152, 169, 880, 891-894, 905
Fitopatógenos, control de, 72, 96, 98, 104, 112, 117, 158, 169, 180, 197, 199, 245, 602, 603, 642, 648, 674, 858, 884, 885, 905, 929, 970, 971, 974, 976, 997
Fitopatógenos, control biológico de, 47, 61, 74, 78, 85, 86, 118, 146, 148, 149, 151, 152, 161, 162, 164, 175, 176, 200, 258, 611, 803, 856, 882, 889, 896, 902, 971, 974, 975
Fitopatógenos foliales, 60, 61, 78, 86, 94, 104, 112, 117, 118
Fitopatógenos de suelo, 161, 168, 197

Fitopatógenos del suelo, 146, 148, 149, 152, 161-164, 175-177, 180, 182, 200, 997
Fitovirus, 92, 93
Flacheria, 301
Flagelina, 310, 311, 903
Flagelo, 69, 70, 85, 156, 176, 310
Floroglucinoles, 99
Fomes fomentarius, 92
Fosfolípidos, 115, 167, 359
Fostasas alcalinas, 308
Frankliniella occidentalis, 460, 867
F. occidentalis, 460
Fulvia fulva, 79, 85
Fungifree AB®, 110
Fusariosis, 151, 1021-1023
Fusarium culmorum, 857, 995, 996
F. culmorum, 857
Fusarium graminearum, 62, 117, 149, 908
F. graminearum, 63, 64
Fusarium head blight, 1021
Fusarium oxysporum, 106, 150, 177, 182, 183, 192, 196, 201, 272, 281, 282, 285, 603, 610, 648, 679, 702, 806, 808, 809, 857, 883, 889, 904, 955
F. oxysporum, 150, 151, 158, 160, 161, 166, 167, 169, 171, 180, 182, 192, 195, 197, 199, 200, 612, 615, 640, 861, 898, 997
F. oxysporum f. sp. *radicis-lycopersici*, 196, 282, 857
Fusarium sp., spp., 78, 163, 180-183, 224, 226, 228, 243, 617, 648, 862, 887, 1028
Fusarium verticillioides, 888

G

Gaeumannomyces graminis, 99, 149, 151, 175, 887
Galanthus nivalis, 935
Galendromus annectens, 470
Galleria mellonella, 382
G. mellonella, 319, 321
Galleria mellonella NPV, 395
Gamma flexiviridae, 87
Genea jaynesi, 514, 515
G. jaynesi, 515
Genes *pif*, 939
Gibberella zeae, 63
Gliocladium catenulatum, 82, 114, 115, 179, 180, 183
Gliocladium roseum, 82, 85
Gliocladium sp., spp., 71, 183
Glomerella, 64, 75, 233
Glomérulos, 419, 420
Glossina fuscipes fuscipes, 426
Glycerol facilitator, 311
Gossypium hirsutum, 430, 434
Gracilicutes, 300
Grados
Grados día broca, 1044
Grados día cafeto, 1044
Gram
Gram negativa(o), 69, 70, 298, 299, 300, 311, 316, 319, 321, 519
Gram positiva(o), 85, 86, 298-300, 302, 311
Granulovirus
Granulovirus de *Cydia pomonella*, 387, 397, 783
Granulovirus de la polilla de la manzana *Cydia pomonella*, 769
CpGV, 381, 387, 389, 397, 398, 769, 783
Granulovirus de *Epinotia aporema*, 392
Granulovirus de *Erinnyis ello*, 386
Granulovirus de *Harrisia brillians*, 379
Granulovirus de *P. unipuncta*, 941
Granulovirus de *Phthorimaea operculella*, 383, 786
Granulovirus *Tuta absoluta*, 651
Granulovirus de *Xestia c-nigrum*, 391
Grapholita molesta, 389, 425, 426, 428, 440
Grupos de compatibilidad vegetativa, 86, 87
Gymnandrosoma aurantianum, 444
Gyranusoidea indica, 464

H

Hadrotrichodes sp., 511
Haeckeliana sp., 511
Haematobia irritans, 490, 1000
Haemophilus influenzae, 955
Harmonia axyridis, 462, 520
Helper component protein, 90
HC-Pro, 90

Heilipus lauri, 436
H. lauri, 437
Helicoverpa armigera, 306, 389, 391, 440, 603, 701, 771, 861, 930, 935
H. armigera, 317, 392, 400, 861, 868, 941
Helicoverpa zea, 308, 316, 389
H. zea, 389
Helicoverpa zea nucleopolyhedrovirus, 381
Helicoverpa zea NPV, 395
Heliothis spp., 354, 490, 493, 494, 701, 772
Heliothis virescens, 306, 323, 389, 931
H. virescens, 321, 389
Heliothis zea, 428
H. zea, 389
Helminthosporium sativum, 149
H. sativum, 150
Helminthosporium victoriae, 150, 151
Hemibiótrofo, 62, 64, 195
Hemileia vastatrix, 68, 98, 522
Hemocele, 298, 317, 319-321, 341, 342, 382, 866, 931, 939
Hemolinfa, 302, 308, 314, 315, 342, 372, 376, 380, 382, 460, 521, 935, 936
Heterorhabditis bacteriophora, 774, 776
Heterorhabditis sp., 511
Hexafluoruro de azufre, 1038
Hidrofluorocarbonos, 1038
Hidrolizados de proteínas, 896, 897
Hifa infecciosa, 62
Hiperparasitismo, 94, 100, 114, 161, 508, 603
Hipovirus Cryphonectria, 86
Hippodamia convergens, 459, 462, 521
Hirsutella spp., 859
Holobionte, 260, 274, 275, 802
Holobus, 469
Hongos
Hongos clavicipitáceos, 854
Hongos entomopatógenos, 48, 89, 98, 336, 338, 340-346, 348, 356-362, 388, 458, 511, 606, 635, 637-639, 647, 652, 654, 704, 710, 786, 858, 859, 862, 867, 870, 927, 933, 936, 937, 1000, 1039, 1043
House keeping genes, 311
Huanglongbing, 462, 463, 518
Hyaloperonospora arabidopsidis, 805
Hylobius abietis, 617
Hyperaspis sp., 461
Hypoaspis miles, 460
Hypothenemus hampei, 307, 346, 440, 520, 522, 702, 772, 841, 858, 1044, 1045, 1048, 1049
H. hampei, 346-348, 359, 520-522, 524, 525, 527, 1045-1047

I

Icerya brasiliensis, 464
Icerya purchasi, 458, 459, 463, 468, 489
I. purchasi, 458
Identificación por secuenciación multilocus, 311
MLST, 311
Idnoreovirus, 375, 382
Illumina, 273, 955, 956, 957, 961, 962
Incubación, 109, 167, 236, 396, 600, 604, 605, 607, 637, 647, 864, 868, 888, 972
Inducción de resistencia, 93, 94, 100-102, 114, 159, 163, 176, 197, 237, 241, 279, 804, 806, 852, 856, 858, 871, 883, 885
Infectividad, 382, 390, 391, 392, 394, 395, 697, 939
Inga edulis, 503
Ingeniería genética, 61, 94, 392, 756, 954, 968, 980
Ingrediente activo, 112, 114-116, 178-182, 300, 301, 320, 322-325, 356, 391, 427, 635, 637, 640, 641, 643-647, 655, 656, 661, 669, 671, 674, 676, 698, 699, 700, 732, 733, 778, 826, 827, 866, 867, 869, 926, 928
Inoculación
Inoculación, control biológico de, 49, 50
Insecticidas
Bioinsecticida, 301, 302, 325, 343, 347, 361, 370, 376, 381, 383, 388, 395, 397, 400, 638, 645, 665, 704, 767, 783, 785, 866-868, 924
Insectos, control biológico de, 89, 338, 357, 376, 456, 701, 858, 926, 977
Intensidad de daño, 829, 830
Inversión
Inversión de capital de riesgo, 634, 784
Inversión social, 634, 784
Ion Torrent, 955-957, 961, 962
Iphiseius degenerans, 460
Ips typographus, 426, 440
Iridoviridae, 374, 376, 964

Isaria fumosorosea, 343, 345, 355, 358, 613, 639, 647, 649, 652, 777
I. fumosorosea, 346, 349, 354
Isaria sp., spp., 343, 360, 465, 613, 859
Isla de calor, 1042
Isotermalidad, 1047
Iturina, 99, 114, 165-169, 171, 238, 240, 640
Ixodes scapularis, 928

K

Klebsiella pneumoniae, 997
Klebsiella sp., spp., 74, 75

L

Labranza mínima, 148
Lacanobia oleracea, 935
L. oleracea, 935
Lasiodiplodia theobromae, 70
Lecabiol, 349, 352, 613, 648, 678, 679, 703-705, 786
Lecanicillium lecanii, 82, 89, 98, 345, 348, 355, 610, 612, 637, 647, 648, 654, 679, 700, 704, 786, 858, 933
L. lecanii, 98, 344, 346, 349-352, 354, 360, 610, 613, 616
Lecanicillium muscarium, 345, 652, 776
Lecanicillium spp., 343, 858, 862
Leptinotarsa decemlineata, 306, 320, 938
L. decemlineata, 938
Leptopharsa gibbicarina, 460
Leucopodella sp., 462, 520
Levaduras osmofílicas, 77
Leveillula taurica, 81, 85, 112
Limoneno, 436, 437, 752, 753
Lípidos, 115, 167, 168, 229, 270, 308, 341
Lipopéptidos cíclicos, 164-166
Lisis, 94, 96, 98, 100, 166-168, 240, 242, 302, 381, 891
Lobesia botrana, 426, 428, 440
Lóbulo antenal, 418, 419
Locusta migratoria, 319, 935, 938
Lure and kill, 413, 753, 754, 1002
Lydella minense, 490, 513, 515
L. minense, 514-517
Lymantria dispar, 381, 389, 391, 395, 399, 426, 428, 440, 617, 756, 939
L. dispar, 390, 392, 940, 941
Lysinibacillus sphaericus, 300, 315
L. sphaericus, 315

M

Maconellicoccus hirsutus, 464
M. hirsutus, 464, 465
Macrolophus pygmaeus, 861
Magnaporthe oryzae, 62, 86, 117, 176, 806
M. oryzae, 62
Mahanarva sp., 771
Male annihilation, 1002
Mamestra brassicae, 391, 617, 935
M. brassicae, 392, 941
Mamestra brassicae, NPV de, 391, 392, 940
Mamestra configurata, 934
Manduca sexta, 48, 305, 306, 319, 323, 941
M. sexta, 319, 321
Manejo
Manejo convencional, 110, 273, 350-352, 781, 839
Manejo integrado de enfermedades, 200, 796, 798, 799, 809, 904
Manejo integrado de insectos plaga y de enfermedades, 695
Manejo integrado de plagas, 46, 118, 300, 325, 350, 361, 389, 390, 392, 412, 415, 424, 433, 474, 477, 493, 494, 530, 599, 613, 655, 660, 680, 700, 702, 707, 720, 744, 764, 766, 781, 798, 800, 826, 872, 882, 935, 943, 1029, 1039, 1050
MIP, 46, 114, 325, 350, 361, 424, 434, 436, 444, 474, 475, 477, 493, 599, 613, 617, 633, 645, 660, 680, 695, 707, 710, 764, 766, 769, 779, 782, 798, 799, 802, 806, 812, 813, 824, 826-828, 830, 832, 833, 836-843, 882, 1002, 1047, 1050
Mangifera indica, 464, 502-504
M. indica, 505
Manihot esculenta, 468, 498, 502
M. esculenta, 468
Marco regulatorio, 699, 700, 703, 782
Mejoramiento genético, 47, 61, 709, 801
Melampsora lini, 62
M. lini, 65

Meloidogyne spp., 768
Mesobuthus tamulus, 935
Mesocyclops longisetus, 460
Metagenómica, 261, 276, 952, 954, 955, 959
Metamasius hemipterus, 438
Metano, 1038
CH_4, 1038
Metaphycus sp., 497, 498
Metapoblaciones, 49, 1026
Metarhizium acridum, 935, 973
Metarhizium anisopliae, 339, 345, 352, 355, 358, 511, 603, 638, 647, 649, 652-654, 668, 700, 771, 774, 858, 866, 927, 933, 936, 973, 1043
M. anisopliae, 342-344, 349, 353, 354, 359, 360, 613, 647, 655, 710, 859, 867, 935-938, 973, 1043, 1045
Metarhizium brunneum, 859, 866, 927
M. brunneum, 859, 861, 866, 927, 928
Metarhizium flavoviride, 1043
M. flavoviridae, 353
Metarhizium rileyi, 48, 356, 388, 606, 649, 927, 937
M. rileyi, 349, 927
Metarhizium sp., spp., 343, 353, 355, 635, 772, 773, 859, 862, 937, 973
Methylobacterium sp., 75
Metodología de superficie de respuesta, 667
Métodos de tamizado, 880
Metschnikowia fructicola, 84, 95, 230, 231, 233, 238, 243
M. fructicola, 233, 238
Mezcla binaria, 643, 646
Micoparasitismo, 96-98, 102, 104, 115, 159, 160, 172, 186, 187, 199, 856, 862
Micovirus, 86, 87, 151
Microbiana
Microbiana, diversidad, 75, 266, 273, 274, 279, 298, 796, 882, 900
Microbiana total, biomasa, 801
Microbiano
Microbianos, volátiles, 74, 992, 993, 998, 999, 1001-1003, 1005
Microbioma, 61, 175, 176, 246, 258, 260-285, 680, 802, 803, 883, 899-902, 968, 977
Micrococcus luteus, 998
Microcrasis sp., 500, 503
Microdochium nivale, 82, 182
Microesclerocios, 164, 357, 600, 924, 926-929
Microorganismos
Microorganismos activos, 801, 808
Microorganismos epífitos, 74, 76, 864
Microorganismos promotores del crecimiento vegetal, 884
Microorganismos viables, 801
Microorganismos vivos, 706, 710, 801
Microplitis bicoloratus, 941
Microsphaeropsis ochracea, 82
Mildeo polvoso, 64, 66-68, 81, 82, 85, 86, 96, 98, 100, 102, 104, 112-115, 615, 617, 618, 857, 862
Mirafiori lettuce big-vein virus, 88, 891
MLBVV, 891
Mitogen-activated protein kinases, 173
MAPK, 172-174
Modelo de negocios, 630, 663
Monalocoris sp., 461
Monilia fructicola, 72
M. fructicola, 233, 238
Monilinia sp., spp., 115, 234, 617
Moniliophthora roreri, 81, 648, 863
M. roreri, 863
Monomorium, 464
Mononychellus tanajoa, 456, 457, 459, 468
M. tanajoa, 468-470
Mucigel, 153
Muestreo
Muestreo secuencial, 830-832
Murraya paniculata, 320
Musca domestica, 306, 425, 490, 937
Muscodor albus, 997, 998, 1001
M. albus, 997, 998, 1001
Muscodor crispans, 998
Muscodor vitigenus, 1000
Muscodor yucatanensis, 856
Mycosphaerella fijiensis, 68, 86
Mycosphaerella graminicola, 62, 117
M. graminicola, 64
Mycosphaerella spp., 70
Myrothecium verrucaria, 768, 776
Mythimna loreyi, 382
Myzus persicae, 460, 861, 935, 1001, 1039
M. persicae, 861

N

N-acil-homoserina lactona, 889, 890
Nanoemulsiones, 708
Nanoesferas, 708
Nanofibras, 708, 754, 756
Nanogeles, 708
Nanopore, 955-957
Narnaviridae, 87
Neodiprion sertifer, 381
Neoseiulus anonymus, 470
Neoseiulus barkeri, 460
Neoseiulus californicus, 470, 718, 719, 721-723, 737, 776
N. californicus, 461, 722, 723, 726, 727, 729, 730
Neoseiulus cucumeris, 460, 737
Neoseiulus idaeus, 469, 470
N. idaeus, 469
Neotyphodium spp., 858
Nepovirus, 94
Neuronas sensoriales olfativas, 418, 419
OSN, 418, 419
Next Generation Sequencing, 955
NGS, 955-957, 962, 968, 971, 979, 980
Nicotiana tabacum, 994
Nilaparvata lugens, 88, 937
Nitrógeno amoniacal, 808
NH_4, 808
Nomuraea rileyi, 344, 354, 356, 603, 647, 652, 653, 927, 937
N. rileyi, 613
Nomuraea spp., 859
Nosema bombycis, 301
Nosema locustae, 769
Nucleopoliedrovirus, 377, 378, 385, 388, 390-392, 395, 399, 607, 650, 652, 656, 931, 934, 935, 940, 968
NPV, 377, 378, 379, 382, 386, 388, 390-392, 395, 397, 400, 700, 701, 935, 939, 940, 941
NPV de *B. mori*, 391
BmNPV, 391, 939
NPV de *Mamestra brassicae*, 391, 392
MabrNPV, 391
NPV de *P. unipuncta*, 391
PuNPV, 391

O

Odontosema anastrephae, 501, 503, 506
Oídio, 64, 71, 617
Oidium lycopersici, 610, 612, 648
Oidium neolycopersici, 85
Olfacción, 415, 418
Oligota minuta, 460, 469
O. minuta, 469
Olla v-nigrum, 462, 463, 520
O. v-nigrum, 463
Olpidium virulentus, 88, 610, 612, 648, 891
Ómicas, 175, 246, 258, 264, 270, 277, 279, 899, 905, 924, 929, 930, 952, 954, 957, 961-963, 968, 969, 971, 975, 978-980
Opius bellus, 501, 503
Opius concolor, 505, 506
Opius sp., 501, 503
Olfactory receptor co-receptor, 418
ORCO, 418
Orgya pseudotsugata, 381, 389
Orius insidiosus, 460, 737
O. laevigatus, 460
O. tristicolor, 460
Ortólogos, 318, 321
Ostrinia furnacalis, 937
Óxido nitroso, 1038
N_2O, 1038
Oxyporus latemarginatus, 997

P

PacBio, 955-957, 961, 962
Pachycrepoideus vindemmiae, 490, 505, 506
Paecilomyces lilacinus, 189, 355, 356, 654, 701, 768, 774
P. lilacinus, 768
Paecilomyces sp., spp., 465, 653, 773, 859
Paecilomyces tenuipes, 89, 345
P. tenuipes, 346
Paenibacillus lentimorbus, 85
P. lentimorbus, 314
Paenibacillus polymyxa, 85, 162, 898
Paenibacillus sp., 314
Panel Intergubernamental de Cambio Climático, 1038, 1045

Pangenómica, 952, 954, 957, 959, 968
Pantoea sp., 71
Pantoea stewartii, 152, 893
Patrones moleculares asociados a patógenos, 242, 973
PAMP, 242, 973
Papaya ringspot virus, 91, 93
PRSV, 93
Papayanal, 437
Papayanol, 437
Paracasma sp., 501, 503
Parasitismo, 44, 72, 81, 97, 98, 150, 152, 162, 163, 173, 177, 191, 237, 240, 264, 268, 285, 300, 493, 497-499, 505-509, 511, 512, 514-516, 525, 527, 528, 608, 856, 863, 869, 870, 882, 902, 1047
Parásito, 47, 65, 149, 338, 339, 891
Parasitoide, 47, 300, 346, 353, 375, 376, 381, 382, 435, 458, 459, 462-464, 466, 471, 474-477, 488-531, 613, 861, 935, 941
Paratrechina, 464
Parlagena bennetti, 467
Partitiviridae, 87
Parvoviridae, 374, 382
Passiflora edulis, 503, 504
P. edulis, 505
Passiflora edulis f. flavicarpa, 503, 504
Passiflora ligularis, 503, 504, 505
Passiflora spp., 502
Passiflora tripartita var. *mollissima*, 504
Pasteuria penetrans, 768
Patogenicidad, 86, 87, 94, 101-104, 161, 195, 237, 244, 273, 274, 276, 300, 301, 316, 318, 319, 342, 346, 347, 357, 360, 384, 391, 392, 465, 601, 611, 638, 657, 697, 698, 709, 858, 866, 905, 927, 934, 940, 941, 969, 970, 975
Peanut chlorotic streak virus, 94
PCISV, 94
Pectinophora gossypiella, 306, 415, 417, 425, 426, 428, 434, 441
P. gossypiella, 426
Pectobacterium caratovorum, 889
Penicillium aurantiogriseum, 995
Penicillium charlesii, 995
Penicillium claviforme, 78
Penicillium expansum, 95, 114, 228, 238, 273, 904, 972, 975, 998
P. expansum, 95, 228, 229, 232-234, 238, 240, 243, 245, 972, 975
Penicillium glaucum, 149
Penicillium sp., spp., 71, 82, 114, 163, 224, 228, 234, 240, 243
Pentapria sp., 501, 504
Pentilia castanea, 462
Pepino mosaic virus, 891
PepMV, 891
Perfluorocarbonos, 1038
PFC, 1038
Periodo de aprobación del registro, 699
Persea americana, 436
P. americana, 92, 437
Persistencia viral, 392, 393
Pestalotiopsis theae, 70
Plant growth-promoting microorganism, 884
PGPM, 884
Phaenocarpa sp., 501, 503
Phakopsora pachyrhizi, 62
Phaseolus vulgaris, 495, 724, 858
Phenacoccus gossypii, 529
Phenacoccus herreni, 528, 529
P. herreni, 528, 529
Phenacoccus manihoti, 528
P. manihoti, 528
Phomopsis oblonga, 862
P. oblonga, 862
Photorhabdus, 298, 299, 318, 320, 321
Phthorimaea operculella, 307, 383, 389, 426, 438, 610, 614, 651, 660, 679, 786, 1001
P. operculella, 383, 384, 615
Phthorimaea operculella GV, 395
Phyllachora huberi, 82
Phyllocoptruta oleivora, 461
Phymastichus coffea, 490, 520, 524, 525
P. coffea, 521, 524-528
Physocnemum brevilinenu, 862
P. brevilinenu, 862
Phytolacca americana, 92
P. americana, 92, 437
Phytonemus pallidus, 460
Phytophthora alni, 1023

Phytophthora capsici, 98, 857, 997
Phytophthora infestans, 45, 68, 85, 1023
P. infestans, 163
Phytophthora megasperma, 92, 903
Phytophthora palmivora, 431
Phytophthora sp. spp., 81, 151, 180, 182, 183, 617, 648, 808, 863, 887
Phytoseiulus mexicanus, 470
Phytoseiulus persimilis, 460, 472, 473, 477, 718, 719, 721-724, 726, 737, 773
P. persimilis, 473, 474, 721-724, 726-733
Pichia membranaefaciens, 84
Picnidios, 65, 98, 113, 162
Pieris brassicae, 373, 391
Pieris brassicae GV, 395
Pineus boerneri, 461
Pioluteorina, 99, 970
Piriculariosis, 62, 86, 806, 809
Piriformospora indica, 857, 891, 904
P. indica, 857
Pirrolnitrina, 99, 100, 176, 238, 240
Plagas, control biológico de, 47, 458, 459, 471, 474, 477, 488, 493-495, 680, 718, 720, 734, 737, 933, 943, 1047
Plaguicidas de síntesis química, 203, 436, 493, 494, 694, 695, 706, 710, 840, 1040
Plantas transgénicas, 93, 94, 324, 906, 907, 929, 930
Plásmido, 311, 313, 318, 865, 930, 931, 969
Plasmodiophora brassicae, 610, 612, 648
Plasmopara viticola, 79, 112, 114
P. viticola, 103
Plodia interpunctella, 440, 660
Plodia interpunctella GV, 395
Plutella xylostella, 306, 307, 317, 323, 425-427, 429, 440, 639, 660, 776, 802
P. xylostella, 321, 324
Pochonia chlamydosporia, 189, 768
Podosphaera spp., 112, 114
Podosphaera xanthii, 66, 67, 84, 96
Policétidos sintasas, 173
Polimerasa, 93, 906, 930, 955, 956, 958, 962
Polisacáridos extracelulares, 75, 82, 156
Polistes, 48
Polybia sp., 463, 520
Polydnaviridae, 375, 381, 938
Polyphagotarsonemus latus, 460
Popillia japonica, 302, 306, 307, 314, 928
Porina, 320, 974
Potato leafroll virus, 94
Potato virus X, 93
Potato virus Y, 93
Pouteria caimito, 502, 503
Poxviridae, 375, 381, 938, 964
Praelongorthezia praelonga, 461
P. praelonga, 461
Preformulación, 353, 599, 633, 634, 641, 645, 646
Premnotrypes vorax, 48, 344, 650, 839, 936
P. vorax, 936
Priming, 796-799, 802, 804-806, 992, 993, 998
Proba vittiscutis, 461
Probiótico vegetal, 803
Propágulos, 184, 228, 238, 356, 360, 490, 600, 608, 636, 640, 641, 808, 924, 926, 927, 929
Proprioseiopsis mexicanus, 440
Prorops nasuta, 490, 520, 522, 523
P. nasuta, 521-523, 526, 527, 528
Proteína
Proteína de movimiento, 93, 94
Proteína multifunción HC-Pro, 90
Proteínas alcalinas solubles de cápsulas, 391
GVP, 391
Proteínas G, 172, 173, 418
Proteínas homólogas de avirulencia, 174
Proteínas inactivadoras de ribosomas, 92
Proteínas ligadoras de feromonas, 418
PBP, 418
Proteínas ligadoras de odorantes, 418
OBP, 418
Proteínas quinasas, 173, 174
Proteómica, 72, 872, 952, 954, 957, 959, 962, 963, 965-967, 969, 974-976, 978, 979
Protospora, 304
Prueba de eficacia, 703, 705
Pseudaletia separata, 941
P. separata, 391
Pseudaletia unipuncta, 391, 941
P. unipuncta, 391, 941
Pseudaulacaspis pentagona, 467

Silenciamiento génico inducido por el hospedero, 906
HIGS, 906, 907, 908
Simbiosis, 44, 260, 262, 854, 869
Similitud geométrica, 670, 672, 674
Single Molecule Real Time Sequencing, 955
Single nucleotide polymorphism, 957
SNP, 957
Sinomonas, 414
Sintetasas peptídicas no ribosomales, 173
Sipha flava, 461
Sistema
Sistema inmune, 268, 321, 381, 382, 802, 805, 902, 938, 941
Sistemas adaptables, 833, 835, 836
Sistemas agrícolas, 148, 263, 274, 341, 474, 805, 812, 824, 826, 833-838, 843, 887, 954, 971, 976, 977, 1001, 1016, 1018, 1019, 1021, 1025, 1026
Sistemas complejos, 824, 826, 832-835, 1016, 1018
Sistemas SSF, 637
Sitotroga cerealella, 493
Sitotroga sp., 490
Solanum lycopersicum, 195, 197, 432, 435, 495, 860, 861, 868
S. lycopersicum, 435
Solanum tuberosum, 184, 186, 437
S. tuberosum, 186
Sorghum bicolor, 516
Sostenibilidad
Sostenibilidad agronómica, 660
Sostenibilidad ambiental, 698, 798, 813
Sostenibilidad de los sistemas agrícolas, 824, 826, 833, 838
Sostenibilidad de los sistemas de producción, 659, 660, 802, 1051
Spalangia cameroni, 490
Sphaerotheca fuliginea, 66, 79, 84, 114
S. fuliginea, 71
Sphaerotheca fusca, 66, 70, 71, 79, 98
Sphaerotheca macularis, 66, 68, 81, 112
Sphaerotheca pannosa, 82, 114
S. pannosa, 81
Sphaerotheca sp., 81
Spodoptera exigua, 306, 321, 389, 425, 429, 859, 934, 939
S. exigua, 392, 934, 940
Spodoptera frugiperda, 308, 323, 344, 380, 385, 434, 440, 606, 646, 649, 650, 660, 903, 939, 940, 968
S. frugiperda, 384-386, 392, 395, 434, 607, 613, 652, 939, 940
Spodoptera frugiperda NPV, 395
Spodoptera littoralis, 317, 389, 418, 423, 425, 753, 754, 859, 934, 977
S. littoralis, 321, 426, 934
Spodoptera litura, 390-392, 395, 429, 701, 934, 937, 940
S. litura, 386, 392, 941
Spodoptera spp., 776
Spondias mombin, 502, 503, 505
Spongospora subterranea, 610, 612, 648
Sporobolomyces roseus, 74, 95, 238
Sporobolomyces sp., 71, 972
Sporothrix spp., 850
Steinernema carpocapsae, 774, 776
Steinernema feltiae, 774, 775
Steinernema kraussei, 774
Steinernema sp., 511
Stenoma catenifer, 438
Stenotrophomonas spp., 996
Stephanoascus flocculosus, 71
Stethorus sp., 460
Stomoxys calcitrans, 490, 1000
Streptomyces coelicolor, 85, 883
Streptomyces griseoviridis, 85, 183
Streptomyces lavendulae, 85
Streptomyces lydicus, 85, 115, 116, 179, 181, 183, 774
Streptomyces platensis, 998
Streptomyces praecox, 149
Streptomyces scabies, 86, 149, 894
S. scabies, 149
Streptomyces sp., spp., 115, 116, 179, 181, 768
Surfactinas, 99, 114, 165-169, 171, 903
Swinglea glutinosa, 520
Syneura cocciphila, 465
S. cocciphila, 466

Rhagoletis cingulata, 999

Rhagoletis indifferens, 1001

Rhagoletis pomonella, 999, 1002

Rhagoletis, 1002

Rhammatocerus schistocercoides, 344, 352, 649, 1042, 1043

R. schistocercoides, 352, 353, 1043-1045

Rhizoctonia solani, 48, 71, 106, 151, 158, 163, 180-184, 192, 201, 268, 610, 611, 648, 679, 805, 809, 858, 882, 884, 887, 902, 903, 904, 928, 970, 996

R. solani, 150, 151, 160, 163, 176, 182-187, 192, 197, 200, 612, 615, 977, 997

Rhizoctonia sp., spp., 180, 181, 183, 617, 857, 862

Rhodosporidium, 84

Rhodosporidium paludigenum, 635, 668

Rhodotorula glutinis, 84, 95, 101, 108, 231, 234, 236, 238, 239, 611, 610, 649

R. glutinis, 84, 110, 111, 610

Rhodotorula minuta, 84, 110

Rhodotorula spp., 71, 75, 84

Rhynchophorol, 431, 436, 441

Rhynchophorus ferrugineus, 345, 427

Rhynchophorus palmarum, 423, 427, 431, 436, 440, 441, 785

R. palmarum, 431, 432, 786

Ricinus communis, 606

RNA-induced silencing complex, 907

RISC, 906, 907, 929

Rizobacterias, 150, 153, 156, 157, 175, 176, 804, 890

Rizobacterias promotoras del crecimiento, 161, 168, 884, 896, 994

PGPR, 150, 157, 161, 164, 168, 169, 640, 804, 884, 885, 890, 891, 903, 994

Rizodepósito, 153

Rizorremediadores, 148

Rizosfera, 70, 146, 148-150, 152-159, 161, 163, 168, 169, 172, 174-176, 186, 199, 202, 231, 260-263, 265, 266, 268, 269, 274, 277-280, 283, 658, 710, 802, 808, 859, 870, 883-885, 893, 899, 900, 902, 903, 968, 970, 992, 994, 996, 998, 1001, 1004

Rodolia cardinalis, 458, 459, 489, 1043

R. cardinalis, 459, 466, 1043

Rotación de cultivos, 188, 277, 282, 796, 799, 807-809, 882

Roya del lino, 65

S

Saturnia pyri, 415, 416

Sclerotinia homoeocarpa, 887

Sclerotinia minor, 106, 162, 193, 648, 679, 809

S. minor, 191, 192, 194

Sclerotinia sclerotiorum, 71, 74, 79, 98, 101, 105, 106, 158, 162, 180, 182, 183, 187-189, 191, 192, 201, 610, 612, 640, 648, 809, 883, 971, 996

S. sclerotiorum, 78, 81, 162, 163, 182, 190, 191, 193, 194, 200, 679, 971, 972, 974, 977, 997, 998

Sclerotinia sp., spp., 162, 180, 191, 193, 243

Sclerotinia trifoliorum, 162

Sclerotium cepivorum, 604, 610, 648

S. cepivorum, 162

Sclerotium rolfsii, 180, 809, 884

S. rolfsii, 904

Scymnus rubicundus, 462, 521

Scymnus sp., 462

Seguridad alimentaria, 45, 46, 60, 464, 530, 840, 954, 1036, 1039, 1040, 1051

Sellos de calidad, 720

Sensilias, 418, 419

Sensilias auricílicas, 418

Sensilias basicónicas, 418

Sensilias celocónicas, 418

Sensilias tricoideas, 419

Septoria tritici, 64

Serotipificación, 308, 310, 311

Serovar, 309, 310

Serovariedad, 310, 311, 313

Serratia entomophila, 298-300, 316, 317

S. entomophila, 317-319, 322

Serratia marcescens, 278, 316, 890, 934

S. marcescens, 278, 316, 324

Serratia plymuthica, 100

Serratia spp., 316, 996

Sesamia nonagrioides, 938

Sexuales, feromonas, 412, 414, 421, 423, 424, 435, 492, 769

Sideróforos, 95, 98, 113, 153, 154, 161, 175, 176, 231, 238, 885, 889, 970, 972

Signiphora aleyrodis, 499

Silba adipata, 999

Silenciamiento génico inducido por atomización, 908

SIGS, 908

Trichogramma atopovirilia, 490, 494
T. atopovinilia, 737
Trichogramma chilonis, 516
Trichogramma evanescens, 491
T. evanescens, 494
Trichogramma exiguum, 490, 508, 514, 515, 737, 773, 1047
T. exiguum, 494, 515, 516, 737
Trichogramma fasciatum, 494
Trichogramma lopezandinensis, 494
T. minutum, 494
T. perkinsi, 494
Trichogramma pretiosum, 490, 515, 737, 1047
T. pretiosum, 493, 494, 516, 737
T. semifumatum, 494
Trichogramma sp., spp., 48, 493-495, 509, 736, 737, 771, 772, 1047
Trichogrammatoidea., 491
Trichoplusia ni, 306, 323, 354, 377, 660, 701, 772, 939, 977
T. ni, 939, 940
Trichopria sp., 501, 503, 505
Trichothecium roseum, 92
Tricoideas, sensilias, 419
Tricotec®, 98, 106-108, 182, 192, 197, 200, 201, 612, 648, 678, 679, 786
Trigonospila sp., 511
Trilla, feromonas de, 414
Tripsina, 317
Trybliographa daci, 505, 506
Tsukamurella paurometabola, 768
Tuta absoluta, 384, 429, 432, 433, 435, 440, 610, 615, 651, 975
T. absoluta, 384, 432, 433, 617
Typhlodromalus aripo, 469
T. aripo, 469, 470
Typhula idahoensis, 82

U

Ueckermannseius tenuiscutus, 470
Umbral de daño económico, 433, 826, 828
Unaspis citri, 462, 468
U. citri, 462
Ustilago maydis, 62
U. maydis, 65
Utetes anastrephae, 500, 503, 506

V

Vegetative insecticidal proteins, 308
VIP, 308
Verticillium albo-atrum, 927
Verticillium lecanii, 71, 343, 345, 346, 652, 653, 668
Verticillium sp., spp., 164, 180, 181, 635, 887
Vigilancia
Vigilancia científica y tecnológica, 632
Vigilancia comercial, 632
Vigilancia competitiva, 633
Vigilancia estratégica, 633
Vigilancia normativa y regulatoria, 632
Vigilancia tecnológica, 599, 619, 630, 632, 633
Virus
Virus africano del mosaico de la yuca, 87
Virus atenuados, 88-91
Virus de la mancha anular de la papaya, 91, 93
PRSV, 93
Virus de la mancha anular del tabaco, 88, 94
TRSV, 88, 94
Virus del bronceado del tomate, 87
Virus del cascabeleo del tabaco, 94
TRV, 94
Virus del mosaico amarillo del calabacín, 90, 92
ZYMV, 90, 94
Virus del mosaico de la alfalfa, 93, 94
AMV, 93, 94
Virus del mosaico de la sandía, 94
WMV, 94
Virus del mosaico del pepino, 87, 90, 91
CMV, 87, 90, 93, 94, 890
Virus del mosaico del tabaco, 88, 89, 91
TMV, 88, 89, 90, 93, 94
Virus del rizado amarillo del tomate, 93
TYLCV, 93
Virus incrustados (*embedded viruses*), 939

Phytophthora capsici, 98, 857, 997
Phytophthora infestans, 45, 68, 85, 1023
P. infestans, 163
Phytophthora megasperma, 92, 903
Phytophthora palmivora, 431
Phytophthora sp. spp., 81, 151, 180, 182, 183, 617, 648, 808, 863, 887
Phytoseiulus mexicanus, 470
Phytoseiulus persimilis, 460, 472, 473, 477, 718, 719, 721-724, 726, 737, 773
P. persimilis, 473, 474, 721-724, 726-733
Pichia membranaefaciens, 84
Picnidios, 65, 98, 113, 162
Pieris brassicae, 373, 391
Pieris brassicae GV, 395
Pineus boerneri, 461
Pioluteorina, 99, 970
Piriculariosis, 62, 86, 806, 809
Piriformospora indica, 857, 891, 904
P. indica, 857
Pirrolnitrina, 99, 100, 176, 238, 240
Plagas, control biológico de, 47, 458, 459, 471, 474, 477, 488, 493-495, 680, 718, 720, 734, 737, 933, 943, 1047
Plaguicidas de síntesis química, 203, 436, 493, 494, 694, 695, 706, 710, 840, 1040
Plantas transgénicas, 93, 94, 324, 906, 907, 929, 930
Plásmido, 311, 313, 318, 865, 930, 931, 969
Plasmodiophora brassicae, 610, 612, 648
Plasmopara viticola, 79, 112, 114
P. viticola, 103
Plodia interpunctella, 440, 660
Plodia interpunctella GV, 395
Plutella xylostella, 306, 307, 317, 323, 425-427, 429, 440, 639, 660, 776, 802
P. xylostella, 321, 324
Pochonia chlamydosporia, 189, 768
Podosphaera spp., 112, 114
Podosphaera xanthii, 66, 67, 84, 96
Policétidos sintasas, 173
Polimerasa, 93, 906, 930, 955, 956, 958, 962
Polisacáridos extracelulares, 75, 82, 156
Polistes, 48
Polybia sp., 463, 520
Polydnaviridae, 375, 381, 938
Polyphagotarsonemus latus, 460
Popillia japonica, 302, 306, 307, 314, 928
Porina, 320, 974
Potato leafroll virus, 94
Potato virus X, 93
Potato virus Y, 93
Pouteria caimito, 502, 503
Poxviridae, 375, 381, 938, 964
Praelongorthezia praelonga, 461
P. praelonga, 461
Preformulación, 353, 599, 633, 634, 641, 645, 646
Premnotrypes vorax, 48, 344, 650, 839, 936
P. vorax, 936
Priming, 796-799, 802, 804-806, 992, 993, 998
Proba vittiscutis, 461
Probiótico vegetal, 803
Propágulos, 184, 228, 238, 356, 360, 490, 600, 608, 636, 640, 641, 808, 924, 926, 927, 929
Proprioseiopsis mexicanus, 440
Prorops nasuta, 490, 520, 522, 523
P. nasuta, 521-523, 526, 527, 528
Proteína
Proteína de movimiento, 93, 94
Proteína multifunción HC-Pro, 90
Proteínas alcalinas solubles de cápsulas, 391
GVP, 391
Proteínas G, 172, 173, 418
Proteínas homólogas de avirulencia, 174
Proteínas inactivadoras de ribosomas, 92
Proteínas ligadoras de feromonas, 418
PBP, 418
Proteínas ligadoras de odorantes, 418
OBP, 418
Proteínas quinasas, 173, 174
Proteómica, 72, 872, 952, 954, 957, 959, 962, 963, 965-967, 969, 974-976, 978, 979
Protospora, 304
Prueba de eficacia, 703, 705
Pseudaletia separata, 941
P. separata, 391
Pseudaletia unipuncta, 391, 941
P. unipuncta, 391, 941
Pseudaulacaspis pentagona, 467

Trichogramma atopovirilia, 490, 494
T. atopovinilia, 737
Trichogramma chilonis, 516
Trichogramma evanescens, 491
T. evanescens, 494
Trichogramma exiguum, 490, 508, 514, 515, 737, 773, 1047
T. exiguum, 494, 515, 516, 737
Trichogramma fasciatum, 494
Trichogramma lopezandinensis, 494
T. minutum, 494
T. perkinsi, 494
Trichogramma pretiosum, 490, 515, 737, 1047
T. pretiosum, 493, 494, 516, 737
T. semifumatum, 494
Trichogramma sp., spp., 48, 493-495, 509, 736, 737, 771, 772, 1047
Trichogrammatoidea., 491
Trichoplusia ni, 306, 323, 354, 377, 660, 701, 772, 939, 977
T. ni, 939, 940
Trichopria sp., 501, 503, 505
Trichothecium roseum, 92
Tricoideas, sensilias, 419
Tricotec®, 98, 106-108, 182, 192, 197, 200, 201, 612, 648, 678, 679, 786
Trigonospila sp., 511
Trilla, feromonas de, 414
Tripsina, 317
Trybliographa daci, 505, 506
Tsukamurella paurometabola, 768
Tuta absoluta, 384, 429, 432, 433, 435, 440, 610, 615, 651, 975
T. absoluta, 384, 432, 433, 617
Typhlodromalus aripo, 469
T. aripo, 469, 470
Typhula idahoensis, 82

U

Ueckermannseius tenuiscutus, 470
Umbral de daño económico, 433, 826, 828
Unaspis citri, 462, 468
U. citri, 462
Ustilago maydis, 62
U. maydis, 65
Utetes anastrephae, 500, 503, 506

V

Vegetative insecticidal proteins, 308
VIP, 308
Verticillium albo-atrum, 927
Verticillium lecanii, 71, 343, 345, 346, 652, 653, 668
Verticillium sp., spp., 164, 180, 181, 635, 887
Vigilancia
Vigilancia científica y tecnológica, 632
Vigilancia comercial, 632
Vigilancia competitiva, 633
Vigilancia estratégica, 633
Vigilancia normativa y regulatoria, 632
Vigilancia tecnológica, 599, 619, 630, 632, 633
Virus
Virus africano del mosaico de la yuca, 87
Virus atenuados, 88-91
Virus de la mancha anular de la papaya, 91, 93
PRSV, 93
Virus de la mancha anular del tabaco, 88, 94
TRSV, 88, 94
Virus del bronceado del tomate, 87
Virus del cascabeleo del tabaco, 94
TRV, 94
Virus del mosaico amarillo del calabacín, 90, 92
ZYMV, 90, 94
Virus del mosaico de la alfalfa, 93, 94
AMV, 93, 94
Virus del mosaico de la sandía, 94
WMV, 94
Virus del mosaico del pepino, 87, 90, 91
CMV, 87, 90, 93, 94, 890
Virus del mosaico del tabaco, 88, 89, 91
TMV, 88, 89, 90, 93, 94
Virus del rizado amarillo del tomate, 93
TYLCV, 93
Virus incrustados (*embedded viruses*), 939

Volátiles
Volátiles microbianos, 74, 992, 993, 998-1003, 1005
Volátiles, feromonas, 418, 748
Voltinismo, 1038, 1041

W

Watermelon mosaic virus, 94
WMV, 94
Wolbachiam, 492, 498

X

Xantana, 69
Xanthomonadin, 69
Xanthomonas axonopodis, 69, 117, 894, 998
X. axonopodis, 69, 70
Xanthomonas campestris, 69, 117, 151, 892, 895
X. campestris, 69, 70
Xanthomonas oryzae, 69, 117
X. oryzae, 69
Xanthomonas spp., 75, 115
Xenobióticos, 269, 810, 885
Xestia c-nigrum, 391, 392, 934, 940
X. c-nigrum, 940

Y

Yersinia entomophaga, 298, 299, 300, 317, 319
Y. entomophaga, 319, 320, 321
Yersinia spp., 319, 324

Z

Zagloba beaumonti, 466
Zea mays, 65, 516
Zelus cf. *nugax*, 463, 520
Zero-mode waveguide, 956
Zonosemata electa, 999
Zucchini yellow mosaic virus, 90, 92
ZYMV, 90, 94

Impresión y encuadernación:
Fundación Cultural Javeriana de Artes Gráficas (JAVEGRAF)

Terminó de imprimirse en octubre de 2018,
Bogotá, D.C., Colombia

Alba Marina ha publicado 96 artículos científicos, 22 libros y 22 capítulos de libro. Desde su llegada a la Corporación, gestionó recursos económicos y técnicos que permitieron construir, equipar, formar investigadores y poner en marcha un laboratorio de investigación y desarrollo de bioplaguicidas, una planta piloto para el escalamiento semicomercial de bioplaguicidas y una planta para la producción comercial del bioplaguicida Baculovirus-Corpoica. Ha liderado proyectos que han conducido al desarrollo de varios bioplaguicidas registrados ante el ICA (Baculovirus-Corpoica®, Lecabiol® y Tricotec®), los cuales se han logrado gracias a un equipo multidisciplinario de investigación. Debido a los logros de su grupo de investigación, lideró el proceso que condujo al licenciamiento internacional de dos tecnologías de formulación aplicables a bioplaguicidas. Dichos licenciamientos se han hecho a una empresa alemana y a una brasilera, convirtiéndose uno de ellos en un caso de éxito a nivel mundial. Ha recibido múltiples premios otorgados por las sociedades científicas de Colombia (Asociación Colombiana de Fitopatología, Sociedad Colombiana de Entomología, Sociedad Colombiana de Ciencias del Suelo y Asociación Colombiana de Médicos Veterinarios y Zootecnistas) y otros reconocimientos, tanto a nivel nacional como internacional, dentro de los que se destaca un doctorado honoris causa conferido por la Universidad de Ciencias Agrícolas de Suecia.

AGROSAVIA

Corporación colombiana de investigación agropecuaria

El control biológico implica el uso tanto de bacterias, hongos y virus, como de insectos benéficos para el control de fitopatógenos o de insectos plaga, según el caso. Este sistema de control ofrece un enfoque amigable con el medio ambiente que se puede incluir al manejo integrado, en el cual se incorporan los controles cultural, físico y genético y al uso racional de agroquímicos, entre otros. Esta publicación representa una compilación única de 25 capítulos sobre los agentes de control biológico, productos disponibles, casos de éxito y perspectivas, que han sido escritos por reconocidos expertos en su campo de investigación.

Este libro comprende capítulos específicos sobre los diferentes tipos de agentes de biocontrol utilizados para el control de enfermedades y de insectos plaga mediante el uso de bacterias, hongos y virus benéficos, en estos se revisa la historia del control biológico, se destacan los principales agentes de control utilizados, sus modos de acción, los productos comerciales disponibles, los casos de estudio y las perspectivas de cada tema. También se incluyen capítulos sobre el uso de depredadores y parasitoides, en los que se muestra el contexto histórico, casos de éxito y las perspectivas de su uso. Así mismo, contiene capítulos sobre los aspectos de investigación y desarrollo que conducen a la obtención de agentes de control biológico disponibles para productores agrícolas, profundizando en las etapas de prueba de concepto, desarrollo de productos, escalamiento, registro, comercialización y mercado, además de los aspectos sobre el valor de la tecnología. Igualmente se incluyen varios capítulos sobre las perspectivas y el futuro de los diferentes componentes de control biológico explotados y otros que podrían tener gran potencial hacia el futuro.

ISBN: 978-958-740-255-1
ISBN: 978-958-740-256-8

BAC
BIBLIOTECA AGROPECUARIA DE COLOMBIA

Correo: bac@agrosavia.co
Teléfono: (+57 1) 4227300 Ext. 1257 o 1274
Skype: biblioteca.agropecuaria

DISTRIBUCIÓN GRATUITA
PROHIBIDA SU VENTA

El campo es de todos
Minagricultura